



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas, Regulación
e Institutos
A. N. M. A. T.

DISPOSICIÓN N°

4612

BUENOS AIRES 26 ABR 2016

VISTO, el expediente n° 1-47-3110-4038/15-9 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones la firma TECNOLAB S.A solicita modificaciones para el producto para diagnóstico de uso "in Vitro" denominado QuantiFERON®-TB Gold, autorizado por Certificado N° 8068.

Que a fs. 156 consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnostico que establece que el producto reúne las condiciones de aptitud requeridas para su autorización.

Que se ha dado cumplimiento a los términos que establece la Ley N° 16463, Resolución Ministerial N° 145/98 y Disposición A.N.M.A.T. N° 2674/99.

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por el Decreto N° 1490/92 y por el Decreto N° 101/15 de fecha 16 de diciembre de 2015.

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACION NACIONAL DE
MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MÉDICA

DISPONE:

A. E.
7



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas, Regulación
e Institutos
A. N. M. A. T.

DISPOSICIÓN N° 4612

ARTICULO 1º.- Autorízase a la firma TECNOLAB S.A, la modificación que se detalla en el ANEXO I para el Producto para diagnóstico de uso "in Vitro" denominado QuantIFERON®-TB Gold Plus.

ARTICULO 2º.- Practíquese la atestación correspondiente en el Certificado n° 8068 cuando el mismo se presente acompañado de la fotocopia autenticada de la presente Disposición.

ARTICULO 3º.- Acéptese los nuevos proyectos de rótulos y manuales de instrucciones a fojas 87 a 152, desglosándose las fojas 87 a 108.

ARTICULO 4º.- Regístrese; gírese a Dirección de Gestión de Información Técnica a sus efectos, por el Departamento de Mesa de Entradas notifíquese al interesado y hágasele entrega de la copia autenticada de la presente Disposición junto con la copia de los proyectos de rótulos, manual de instrucciones. Cumplido, archívese PERMANENTE.-

Expediente n°: 1-47-3110-4038/15-9.

DISPOSICIÓN N°:

av

4612


Dr. ROBERTO LEDESMA
Subadministrador Nacional
A.N.M.A.T.



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas, Regulación
e Institutos
A. N. M. A. T.

ANEXO I

Expediente N° 1-47-3110-4038/15-9

PRODUCTO: QuantiFERON®-TB Gold Plus / Ensayo ELISA para la determinación cuantitativa de interferón gamma (IFN- γ) secretado por células T presentes en sangre entera humana heparinizada estimuladas "in vitro" con antígenos peptídicos ESAT-6 y CFP-10.

NUEVA PRESENTACIÓN: 1) Blood Collection Tubes, envases conteniendo:

QuantiFERON® TB - Blood Collection Tubes	Single patient pack (10 paquetes) Código: 622222	QFT-Plus Tubes (200 tubos) Código: 622526
QuantiFERON® NIL (tapa gris)	1	50
QuantiFERON® TB1(tapa verde)	1	50
QuantiFERON® TB2 (tapa amarilla)	1	50
QuantiFERON® Mitogen (tapa violeta)	1	50

y 2) QuantiFeron®-TB Gold Plus ELISA kit, envases conteniendo: 2 microplacas x 96 pocillos, 1 vial de IFN- γ humano normal liofilizado (x 8 UI/mol), 1 vial de Diluyente x 30 ml, 1 vial de 0.3ml Concentrado conjugado 100X liofilizado, 1 vial de 100ml Concentrado de tampón de lavado 20X, 1 vial de 30ml Solución de sustrato y 1 vial de 15ml Solución de parada.

NUEVO PERIODO DE VIDA ÚTIL: 1) 15 (quince) meses, conservado entre 4 y 25°C; y 2) 36 (treinta y seis) meses, conservado entre 2 y 8°C.

NUEVO ORIGEN DE ELABORACIÓN: Elaborado por 1) Greiner Bio-One GmbH, Bad Haller Straße 32, 4550 Kremsmünster (AUSTRIA) y 2) QIAGEN 19300

NUEVO ORIGEN DE ELABORACIÓN: Elaborado por 1) Greiner Bio-One GmbH, Bad Haller Straße 32, 4550 Kremsmünster (AUSTRIA) y 2) QIAGEN 19300 Germantown Rd, Germantown MD20874 (USA); para QIAGEN GmbH Qiagen Strasse 1, 40724 Hilden (ALEMANIA).

Expediente nº: 1-47-3110-4038/15-9

DISPOSICIÓN Nº:

4 6 1121

av



Dr. ROBERTO LEBE
Subadministrador Nacional
A.N.M.A.T.

PROYECTO DE RÓTULO EXTERNO

2612

26 ABR 2016

QuantIFERON-TB Gold Plus

Código: 622120



QuantIFERON[®]-TB Gold Plus (QFT[®]-Plus)

2 Plate Kit ELISA

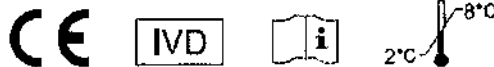
(Blood Collection Tubes packed separately)

An in vitro diagnostic test using a peptide cocktail simulating ESAT-6 and CFP-10 proteins to stimulate cells in heparinized whole blood.
Detection of interferon- γ (IFN- γ) by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) is used to identify in vitro responses to these peptide antigens that are associated with *Mycobacterium tuberculosis* infection.


QuantIFERON[®]-TB Gold Plus (QFT[®]-Plus)

2 Plate Kit ELISA

QuantIFERON Microplate Strips (12 x 8 wells)	2
QuantIFERON IFN- γ Standard	1
QuantIFERON Green Diluent	1
QuantIFERON Conjugate 100x Concentrate	1
QuantIFERON Wash Buffer 20x Concentrate	1
QuantIFERON Enzyme Substrate Solution	1
QuantIFERON Enzyme Stopping Solution	1



QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1
40724 Hilden
GERMANY

 www.QuantiFERON.com
Tel: +49-2103-29-0

Product of United States

IMPORTADOR: TECNOLAB S.A. Estomba N° 964. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina.

DIRECTOR TECNICO: Bioq. Marisol Masino.

ORIGEN DE ELABORACION: QIAGEN GmbH, QIAGEN Str. 1, 40724 Hilden, Alemania.

AUTORIZADO POR EL MINISTERIO DE SALUD - ANMAT CON N° DE CERTIFICADO:

Bioq. Masino Marisol
D.T. - TecnoLab S.A.

4612



QFT-Plus Single Patient Pack (pack of 10)

Código: 622222



QuantIFERON®-TB Gold Plus (QFT®-Plus)

Blood Collection Tubes
Single Patient Pack

For use with the QuantIFERON®-TB Gold Plus assay only
An aid to detect *M. tuberculosis* infection.

QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1
40724 Hilden
GERMANY

www. QuantIFERON.com
Tel: +49-2103-29-0

Product of Austria

REF 622222

Single Patient Pack

Contents:

- 1x QuantIFERON TB1 Tube
- 1x QuantIFERON TB2 Tube
- 1x QuantIFERON Nil Tube
- 1x QuantIFERON Mitogen Tube
- 1x 21G 1 1/2" needle
- 1x QUICKSHIELD Safety Tube Holder

4°C - 25°C

LOT 1234567898 2018-12-31



+EQIA62222205



IMPORTADOR: TECNOLAB S.A. Estomba N° 964. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina.

DIRECTOR TECNICO: Bioq. Marisol Masino.

ORIGEN DE ELABORACION: QIAGEN GmbH, QIAGEN Str. 1, 40724 Hilden, Alemania.

AUTORIZADO POR EL MINISTERIO DE SALUD - ANMAT CON N° DE CERTIFICADO:

Bioq. Masino Marisol
D.T. - TecnoLab S.A.

612



3

QFT-Plus Tubes (50 x TB1, TB2, Nil, Mitogen)

Código: 622526

QuantiferON®-TB Gold Plus (QFT®-Plus)

Blood Collection Tubes

50 x QuantiferON TB1 Tubes
50 x QuantiferON TB2 Tubes
50 x QuantiferON Nil Tubes
50 x QuantiferON Mitogen Tubes

CE IVD 4°C → 25°C

QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1
40724 Hilden
GERMANY
www.QuantiFERON.com
Tel: +49-2103-29-0

Product of Austria

QuantiferON®-TB Gold Plus (QFT®-Plus)

Blood Collection Tubes

For use with the
QuantiferON-TB Gold Plus
assay only
An aid to detect *M. tuberculosis* infection

IMPORTADOR: TECNOLAB S.A. Estomba N° 964. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina.

DIRECTOR TECNICO: Bioq. Marisol Masino.

ORIGEN DE ELABORACION: QIAGEN GmbH, QIAGEN Str. 1, 40724 Hilden, Alemania.

AUTORIZADO POR EL MINISTERIO DE SALUD - ANMAT CON N° DE CERTIFICADO:

E

U

Bioq. Marisol Masino
D.T. - TecnoLab S.A.

PROYECTO DE ROTULOS INTERNOS 4612



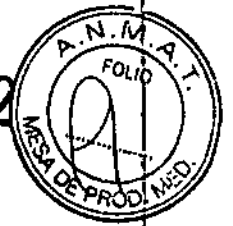
ELISA

<p>QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1 40724 Hilden, GERMANY Tel: +49-2103-29-0</p>	<p>QuantIFERON® Microplate Strips 12 x 8 wells</p> <p>2°C 8°C</p> <p>LOT XXXXXXXX XXXX-XX</p> <p>REF 1090817 1090803 Rev. 01</p> <p>Product of United States</p>	<p>contains sulfuric acid</p> <p>QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1 40724 Hilden, GERMANY Tel: +49-2103-29-0</p>	<p>QuantIFERON® Enzyme Stopping Solution 15 ml</p> <p>2°C 8°C</p> <p>LOT XXXXXXXX XXXX-XX</p> <p>REF 1090820 1090806 Rev. 01</p> <p>Product of United States</p>
<p>contains boric acid</p> <p>QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1 40724 Hilden, GERMANY Tel: +49-2103-29-0</p>	<p>QuantIFERON® Conjugate 100x Concentrate 0.3 ml</p> <p>2°C 8°C</p> <p>REF 1090818 XXXXXXXX XXXX-XX</p> <p>1090804 Rev. 01</p> <p>Product of United States</p>	<p>contains trisodium 5-hydroxy-1-[4-sulphophenyl]-4-[4-sulphophenylazo]pyrazole-3-carboxylate</p> <p>QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1 40724 Hilden, GERMANY Tel: +49-2103-29-0</p>	<p>QuantIFERON® Green Diluent 30 ml</p> <p>2°C 8°C</p> <p>LOT XXXXXXXX XXXX-XX</p> <p>REF 1090816 1090802 Rev. 01</p> <p>Product of United States</p>
<p>contains Mixture of 5-Chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one and 2-Methyl-2H-isothiazol-3-one (3:1)</p> <p>QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1 40724 Hilden, GERMANY Tel: +49-2103-29-0</p>	<p>QuantIFERON® Wash Buffer 20x Concentrate 100 ml</p> <p>2°C 8°C</p> <p>LOT XXXXXXXX XXXX-XX</p> <p>REF 1090821 1090807 Rev. 01</p> <p>Product of United States</p>	<p>QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1 40724 Hilden, GERMANY Tel: +49-2103-29-0</p>	<p>QuantIFERON® Enzyme Substrate Solution 30 ml</p> <p>2°C 8°C</p> <p>LOT XXXXXXXX XXXX-XX</p> <p>REF 1090822 1090808 Rev. 01</p> <p>Product of United States</p>
<p>contains boric acid</p> <p>QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1 40724 Hilden, GERMANY Tel: +49-2103-29-0</p>	<p>QuantIFERON® Interferon-γ Standard Reconstitute with XXXX ml</p> <p>2°C 8°C</p> <p>REF 1090819 XXXXXXXX XXXX-XX</p> <p>1090805 Rev. 01</p> <p>Product of United States</p>		

4

Bioq. Masino Marisol
D.T. - TecnoLab S.A.

4612



TUBOS DE RECOLECCIÓN DE SANGRE

QuantIFERON® MITOGEN

Surname _____

First Name _____

Pat.No. _____

DOB _____ Ward _____

Date _____ Time _____ Sig. _____

REF 1083245 LOT A000000 XXXX-XX

Add 1 ml of blood and shake 10x. 1084070 Rev. 01

QuantIFERON® NIL

Surname _____

First Name _____

Pat.No. _____

DOB _____ Ward _____

Date _____ Time _____ Sig. _____

REF 1083242 LOT A000000 XXXX-XX

Add 1 ml of blood and shake 10x. 1084067 Rev. 01

QuantIFERON® TB1

Surname _____

First Name _____

Pat.No. _____

DOB _____ Ward _____

Date _____ Time _____ Sig. _____

REF 1083243 LOT A000000 XXXX-XX

Add 1 ml of blood and shake 10x. 1084065 Rev. 01

QuantIFERON® TB2

Surname _____

First Name _____

Pat.No. _____

DOB _____ Ward _____

Date _____ Time _____ Sig. _____

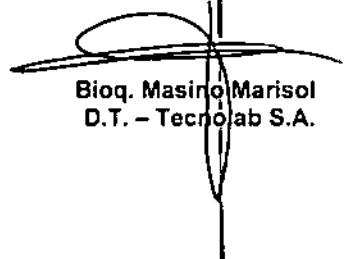
REF 1083244 LOT A000000 XXXX-XX

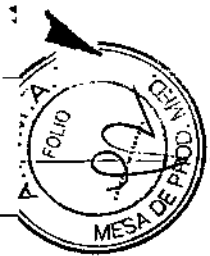
Add 1 ml of blood and shake 10x. 1084063 Rev. 01

4

E

Bioq. Masino Marisol
D.T. - TecnoLab S.A.





4612

Prospecto de QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT®-Plus) ELISA

▽ 2 x 96

Ensayo de IFN-γ en sangre total que mide la reacción a los antígenos peptídicos ESAT-6 y CFP-10

IVD Para uso de diagnóstico in vitro



REF 622120

QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1
40724 Hilden,
ALEMANIA
Número de teléfono: +49-2103-29-0
1083163ES Rev. 02

www.QuantiFERON.com

MARISOL MASINO
BIOQUIMICA - M.N. 9483
DT - TECNOLAB S.A.



www.QuantiFERON.com



tecnolab s.a.
estomba 964 . c1427cov
capital federal . argentina
tel. 54 11 4555 0010
54 11 4859 5300
fax 54 11 4553 3331
info@tecnolab.com.ar
www.tecnolab.com.ar
ISO 9001:2008 certificada

Handwritten signature

Contenido

Uso previsto	4
Resumen y explicación de la prueba	4
Principios del ensayo	5
Tiempo necesario para la realización del ensayo	6
Componentes y almacenamiento	7
Materiales necesarios pero no suministrados	8
Almacenamiento y manipulación	8
Advertencias y precauciones	9
Advertencias	9
Precauciones	10
Obtención y manipulación de muestras	13
Instrucciones de uso	15
Cálculos e interpretación del ensayo	20
Generación de curva estándar	20
Control de calidad del ensayo	21
Interpretación de los resultados	21
Limitaciones	23
Características de rendimiento	24
Estudios clínicos	24
Características del rendimiento del ensayo	29
Información técnica	34
Resultados indeterminados	34
Muestras de plasma coaguladas	34
Guía de resolución de problemas	35
Referencias	37
Símbolos	42
Información de contacto	42
Resumen del procedimiento	43

Uso previsto

QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) es un ensayo de diagnóstico in vitro que utiliza un cóctel de péptidos que simula la actividad de las proteínas ESAT-6 y CFP-10 para estimular células en sangre total heparinizada. La detección de interferón- γ (IFN- γ) mediante el ensayo de inmunoadsorción enzimática (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) concebida como complemento a estudios de determinación de riesgos, radiografías y otros ensayos médicos y diagnósticos.

Resumen y explicación de la prueba

La tuberculosis es una enfermedad transmisible causada por la infección de organismos del complejo *M. tuberculosis* (MTB) (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*), que normalmente se contagia a través de los núcleos en forma de gotitas que viajan por el aire procedentes de pacientes que padecen tuberculosis respiratoria. Un individuo puede enfermar de tuberculosis semanas o meses después del momento de la infección, aunque la mayoría permanecen sanos. La infección latente por tuberculosis (LTBI, en sus siglas inglesas), 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. Hasta hace poco el único método para diagnosticar la LTBI era la prueba cutánea de la tuberculina (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 dolencias que entorpecen el mecanismo inmune, aunque también otros pacientes que no las sufren, no reaccionan ante la tuberculina. A la inversa, existen individuos con pocas probabilidades de infectarse por *M. tuberculosis* que muestran sensibilidad ante la tuberculina y dan un resultado positivo en la prueba cutánea tras haber sido vacunados con el bacilo de Calmette-Guérin (BCG), haber sido infectados con micobacterias distintas del complejo *M. tuberculosis* o debido a otros factores indeterminados.

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

El ensayo QFT-Plus mide la reacción inmunitaria celular (RIC) ante antígenos peptídicos que simulan ser proteínas micobacterianas. Estas proteínas, ESAT-6 y CFP-10, no aparecen en ninguna cepa de 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 MTB suelen tener en la sangre linfocitos capaces de reconocer a este y otros antígenos micobacterianos. Este proceso de reconocimiento implica la generación y secreción de la citoquina, IFN- γ . La detección y posterior cuantificación de IFN- γ constituye la base de este ensayo.



617

Los antígenos que utiliza el ensayo QFT-Plus son una mezcla de peptídicos 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 las células T de personas infectadas por *M. tuberculosis*, pero no en personas no infectadas o vacunadas con BCG sin la enfermedad o con riesgo de LTBI (1-32). Sin embargo, los tratamientos médicos o las condiciones que inhiben la función del sistema inmunológico pueden llegar a reducir la reacción al IFN- γ . Los pacientes con otro tipo de infecciones micobacterianas también pueden 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). El ensayo QFT-Plus se utiliza como prueba para la detección de LTBI y como ayuda para el diagnóstico de la infección por el complejo *M. tuberculosis* en pacientes enfermos. Un resultado positivo secunda el diagnóstico de tuberculosis, pero hay que tener en cuenta que las infecciones debidas a otras micobacterias (p. ej. *M. kansasii*) pueden producir también resultados positivos. Son necesarios otros ensayos médicos y pruebas diagnósticas para confirmar o excluir una tuberculosis.

El ensayo QFT-Plus utiliza dos tubos diferentes de medición de antígeno TB: el tubo de medición de antígeno TB 1 (TB1) y el tubo de medición de antígeno TB 2 (TB2). Ambos tubos contienen antígenos peptídicos de los antígenos asociados al complejo MTB, ESAT-6 y CFP-10. El tubo TB1 contiene péptidos de ESAT-6 y CFP-10 diseñados para generar respuestas RIC a partir de linfocitos T cooperadores CD4⁺ y el tubo TB2, un conjunto adicional de péptidos cuya función es inducir respuestas RIC a partir de linfocitos T citotóxicos CD8⁺. En el transcurso natural de las infecciones por el complejo MTB, el papel de las células T CD4⁺ es fundamental para el control inmunológico gracias a la secreción de citoquinas IFN- γ . Las pruebas corroboran la importancia de las células T CD8⁺ que intervienen en la defensa del sujeto frente al complejo MTB mediante la secreción de IFN- γ y otros factores solubles, que activan los macrófagos que suprimen el crecimiento de MTB, matan las células infectadas o directamente lisan el MTB intracelular (33-35). Se han detectado células CD8⁺ específicas para MTB en sujetos con LTBI y tuberculosis activa en los que es frecuente detectar células CD8⁺ productoras de IFN- γ (36-38). Además, se ha descrito un aumento en la frecuencia de detección de linfocitos T CD8⁺ específicos para ESAT-6 y CFP-10 en sujetos con tuberculosis activa en comparación con sujetos afectados por LTBI, lo que puede estar relacionado con una exposición reciente al MTB (39-41). También se han detectado células T CD8⁺ específicas para MTB productoras de IFN- γ en sujetos con tuberculosis activa y coinfección por VIH (42, 43), así como en niños jóvenes con tuberculosis (44).

Principios del ensayo

El ensayo QFT-Plus utiliza tubos de recogida de sangre específicos para sangre total. La sangre se extrae en los tubos y se incuba entre 16 y 24 horas. Posteriormente se retira el plasma para determinar si se ha producido IFN- γ como reacción a los antígenos peptídicos.

El ensayo QFT-Plus se lleva a cabo en dos fases. En primer lugar se recoge sangre total en cada uno de los tubos de recogida de sangre para QFT-Plus, que incluye un tubo de medición de nulos, antígeno TB1, antígeno TB2 y mitógeno. También existe la posibilidad de extraer la

sangre en un tubo de recogida de sangre genérico con heparina de litio como anticoagulante y transferirla luego a los tubos para QFT-Plus.

El tubo de mitógeno se puede utilizar como control positivo en el ensayo QFT-Plus. Esto es importante en los casos en que existen dudas respecto al estado inmunológico del individuo. El tubo de mitógeno también sirve como control para asegurar una correcta manipulación e incubación de la sangre.

Los tubos para QFT-Plus deben incubarse a 37 °C lo antes posible durante las 16 horas posteriores a la extracción de la 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 producida de interferón IFN- γ (UI/ml) mediante el método ELISA.

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 TB es claramente superior al valor en UI/ml de nulos para IFN- γ . La muestra de plasma del tubo de mitógeno sirve como control positivo de IFN- γ para cada muestra analizada. Una reacción baja al mitógeno (< 0,5 UI/ml) indica un resultado indeterminado cuando la muestra de sangre también presenta una reacción negativa ante los antígenos TB. Este resultado puede responder a un número insuficiente de linfocitos, a una menor actividad de los mismos provocada por una manipulación incorrecta de las muestras, a un llenado/mezclado incorrecto del tubo de mitógeno o a que los linfocitos del paciente sean incapaces de producir IFN- γ . El tubo de medición de nulos ajusta el ruido de fondo (p. ej., niveles excesivos de IFN- γ en circulación o la presencia de anticuerpos heterófilos). El nivel de IFN- γ en el tubo de medición de nulos se sustrae del nivel de IFN- γ en los tubos de antígeno TB y en el tubo de mitógeno.

Tiempo necesario para la realización del ensayo

A continuación se indica el tiempo necesario para llevar a cabo el ensayo QFT-Plus ELISA, así como el tiempo necesario para analizar varias muestras si vienen en lotes:

Tubos de sangre para la incubación a 37 °C: de 16 a 24 horas

ELISA:

aprox. 3 horas para una placa de ELISA
(22 individuos)
< 1 hora de trabajo
Añadir entre 10 y 15 minutos por cada
placa adicional

Componentes y almacenamiento

Tubos de recogida de sangre*	200 tubos	Envase de paciente individual
N.º de referencia	622526	622222
Número de pruebas/paquete	50	10
QuantIFERON N# Tube (tubo de medición de nulos para QuantIFERON con tapón gris y anillo blanco)	Nil	50 tubos
QuantIFERON TB1 Tube (tubo TB1 para QuantIFERON con tapón verde y anillo blanco)	TB1	50 tubos
QuantIFERON TB2 Tube (tubo TB2 para QuantIFERON con tapón amarillo y anillo blanco)	TB2	50 tubos
QuantIFERON Mitogen Tube (tubo de mitógeno para QuantIFERON con tapón morado y anillo blanco)	Mitogen	50 tubos
Prospecto de los tubos de recogida de sangre para QFT-Plus	1	1
Componentes para ELISA¹		Kit ELISA para 2 placas
N.º de referencia		622120
Tiras de microplacas (12 x 8 pocillos) revestidas con anticuerpos monoclonales murinos anti-humano IFN- γ	2 conjuntos de tiras de microplacas para 12 x 8 pocillos	
IFN- γ Standard, lyophilized (estándar de IFN- γ , liofilizada) (contiene IFN- γ humano recombinante, caseína bovina, 0,01% p/v de timerosal)	1 x vial (8 UI/ml después de su reconstitución)	
Green Diluent (GD, diluyente verde) (contiene caseína bovina, suero de ratón normal, 0,01% p/v de timerosal)	1 x 30 ml	
Conjugate 100x Concentrate, lyophilized (conjugado 100x concentrado, liofilizado) (IFN- γ HRP murino anti-humano, contiene 0,01% p/v de timerosal)	1 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	
Enzyme Substrate Solution (solución enzimática de sustrato) (contiene H ₂ O ₂ , 3,3', 5,5' tetrametilbenzidina)	1 x 30 ml	
Enzyme Stopping Solution (solución enzimática de parada) (contiene 0,5M H ₂ SO ₄)	1 x 15 ml	
Prospecto de QFT-Plus ELISA	1	

* Algunas configuraciones del producto pueden no estar disponibles en algunos países. Póngase en contacto con el centro de atención al cliente de QIAGEN (encontrará la información en la página www.qiagen.com) para obtener más información sobre las configuraciones disponibles.

¹ Consulte la página 9 para conocer las indicaciones de riesgo y advertencia.

Materiales necesarios pero no suministrados

- Incubador a 37 °C ± 1 °C. No se necesita CO₂.
- Pipetas calibradas de volumen variable* para manejar entre 10 μ l y 1.000 μ l con tiras desechables
- Pipeta multicanal calibrada* capaz de dispensar 50 μ l y 100 μ l con puntas desechables
- Agitador de microplacas*
- Agua desionizada o destilada, 2 litros
- Lavador de microplacas (lavador automático recomendado)
- Lector de microplacas* equipado con un filtro de 450 nm y un filtro de referencia entre 620 nm y 650 nm

Almacenamiento y manipulación

Tubos de recogida de sangre

- Almacene los tubos de recogida de sangre a una temperatura comprendida entre 4 y 25 °C.

Reactivos del kit

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

Reactivos reconstituidos sin utilizar

Consulte la página 16 para obtener las instrucciones sobre cómo reconstituir los reactivos.

- El estándar reconstituido del kit puede conservarse durante 3 meses como máximo si se almacena a una temperatura de entre 2 y 8 °C.
Anote la fecha de reconstitución del estándar del kit.
- Una vez reconstituido, el conjugado 100x concentrado que no se haya utilizado debe volver a almacenarse a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C y debe utilizarse durante los 3 meses siguientes.
Anote la fecha de reconstitución del conjugado.
- El conjugado listo para el uso debe utilizarse en las 6 horas siguientes a su preparación.
- El tampón de lavado listo para el uso puede almacenarse a temperatura ambiente un máximo de 2 semanas.

* Compruebe que los equipos se han revisado y calibrado según las recomendaciones del fabricante.



4612

Advertencias y precauciones

Para uso de diagnóstico in vitro

Advertencias

- Un resultado negativo del QFT-Plus no descarta la posibilidad de una infección por *M. tuberculosis* o de que se padezca tuberculosis: los falsos negativos pueden deberse a la etapa de la infección en que se encuentre el paciente (p. ej. si la muestra se ha obtenido antes de que se desarrolle la respuesta celular inmune), enfermedades asociadas que afecten al mecanismo inmunológico, 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.
- Un resultado positivo del QFT-Plus tampoco debe considerarse como prueba única y definitiva de la existencia de una infección por *M. tuberculosis*. Una realización incorrecta del ensayo puede generar falsos positivos.
- Después de obtener un resultado positivo para el QFT-Plus, deben realizarse otros ensayos médicos y de diagnóstico para comprobar la existencia de una tuberculosis activa (p. ej., frotis y cultivo BAR, radiografía del pecho).
- 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 ensayos alternativos.

Precauciones

Para uso de diagnóstico in vitro.

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



PRECAUCIÓN: manipule la sangre y el plasma humanos como material potencialmente infeccioso. Cumpla las directrices pertinentes para la manipulación de sangre y productos sanguíneos. 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.

Las siguientes indicaciones de riesgo y advertencia hacen referencia a los componentes del kit QuantiFERON-TB Gold Plus ELISA.

Indicaciones de peligro



QuantiFERON Conjugate (Conjugado QuantiFERON)

Contiene: ácido bórico. ¡Peligro! Puede perjudicar la fertilidad o dañar al feto. Eliminar el contenido/el recipiente en un centro de eliminación de residuos aprobado. En caso de exposición manifiesta o presunta: consultar a un médico. Pedir instrucciones especiales antes del uso. Guardar bajo llave. Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.



QuantiFERON Enzyme Stopping Solution (Solución enzimática de parada QuantiFERON)

Contiene: ácido sulfúrico. ¡Peligro! Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. Puede ser corrosivo para los metales. Eliminar el contenido/el recipiente en un centro de eliminación de residuos aprobado. EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua o ducharse. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico. Guardar bajo llave. Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

QuantiFERON Enzyme Substrate Solution (Solución enzimática de sustrato QuantiFERON)

¡Atención! Provoca irritación cutánea leve. En caso de irritación cutánea: consultar a un médico.



**QuantIFERON Green Diluent
(Diluyente verde QuantIFERON)**

Contiene: 5-hidroxi-1-(4-sulfonil)-4-(4-sulfonilazo)pirazol-3-carboxilato de trisodio. ¡Atención! Puede provocar una reacción alérgica en la piel. Eliminar el contenido/el recipiente en un centro de eliminación de residuos aprobado. Qúitese la vestimenta contaminada y lávela antes de volver a utilizarla. En caso de irritación o erupción cutánea: consultar a un médico. Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.



**QuantIFERON IFN-γ Standard
(Estándar IFN-γ QuantIFERON)**

Contiene: ácido bórico. ¡Peligro! Puede perjudicar la fertilidad o dañar al feto. Eliminar el contenido/el recipiente en un centro de eliminación de residuos aprobado. En caso de exposición manifiesta o presunta: consultar a un médico. Pedir instrucciones especiales antes del uso. Guardar bajo llave. Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.



**QuantIFERON Wash Buffer 20x Concentrate
(Tampón de lavado 20x concentrado QuantIFERON)**

Contiene: mezcla de 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona y 2-metil-2H-isotiazol-3-ona (3:1). ¡Atención! Puede provocar una reacción alérgica en la piel. Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

- No mezcle ni utilice tiras de microplacas, estándar IFN-γ, diluyente verde o 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 y las muestras biológicas de acuerdo con la normativa local, regional y nacional correspondiente.
- No utilice los tubos de recogida de sangre para QFT-Plus o el kit ELISA después de la fecha de caducidad indicada.
- Asegúrese de que el equipo de laboratorio se ha calibrado/validado para el uso

Indicaciones de precaución

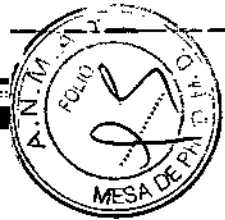
Pedir instrucciones especiales antes del uso. Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua o ducharse. EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. En caso de exposición manifiesta o presunta: consultar a un médico. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico. En caso de irritación o erupción cutánea: consultar a un médico. Qúitese la vestimenta contaminada y lávela antes de volver a utilizarla. Guardar bajo llave. Eliminar el contenido/el recipiente en un centro de eliminación de residuos aprobado.

Más información

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

- Cualquier desviación respecto al procedimiento indicado en el *Prospecto de QuantIFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA* puede generar resultados erróneos. Lea las instrucciones atentamente antes de realizar el ensayo.
- No utilice el kit si algún frasco de reactivo muestra signos de estar dañado o perder líquido.

MARISOL MASIN
BIOQUIMICA - MIN. 94
DT - TECNOLAB S.A.



612

Obtención y manipulación de muestras

El ensayo QFT-Plus utiliza los siguientes tubos de recogida:

1. Tubos de medición de nulos para QuantiFERON (tapón gris y anillo blanco)
2. Tubos TB1 para QuantiFERON (tapón verde y anillo blanco)
3. Tubos TB2 para QuantiFERON (tapón amarillo y anillo blanco)
4. Tubos de mitógeno para QuantiFERON (tapón morado y anillo blanco)

Siga las instrucciones que se indican a continuación para los tupos con heparina de litio.

Los antígenos se secan y adhieren a la pared interior del tubo de recogida de sangre, por lo que es imprescindible mezclar cuidadosamente el contenido de los tubos con la sangre. Los tubos para QFT-Plus deben colocarse en el incubador a 37 °C lo antes posible y siempre durante las 16 horas siguientes a la recogida de la sangre.

Siga los procedimientos que se describen a continuación para obtener resultados óptimos:

1. **Coloque las etiquetas correspondientes en los tubos.**
Asegúrese de que cada tubo (nulos, TB1, TB2 y mitógeno) se pueda identificar por su etiqueta o por otros medios cuando se retire el tapón.
2. **Extraiga 1 ml de sangre de cada paciente mediante venopunción directamente en uno de los tubos de recogida de sangre para QFT-Plus. Esta operación debería ser tarea exclusiva de un flebotomista cualificado.**

Nota importante: los tubos se deben encontrar a una temperatura comprendida entre 17 y 25 °C en el momento de llenarlos de sangre.

Los tubos de recogida de sangre para QFT-Plus pueden utilizarse hasta 810 metros por encima del nivel del mar.

Como los tubos de 1 ml absorben la sangre relativamente despacio, mantenga el tubo adherido a la aguja durante 2-3 segundos cuando parezca que está lleno del todo. De este modo conseguirá extraer el volumen correcto.

La marca negra del lateral de los tubos indica el intervalo validado comprendido entre 0,8 y 1,2 ml. Si el nivel de sangre de un tubo está fuera del intervalo de la marca indicativa, debería extraerse una muestra de sangre nueva.

Si utiliza una aguja con aletas para extraer la sangre, utilice un tubo de purga para asegurarse de que el conducto está lleno de sangre antes de transferirla a los tubos para QFT-Plus.

Si utiliza tubos de recogida de sangre para QFT-Plus a una altitud de más de 810 metros, o si el volumen de sangre extraído es insuficiente, se puede extraer la sangre con una jeringa y transferir inmediatamente después 1 ml a cada uno de los 4 tubos. Por motivos de seguridad, la mejor forma de realizar este proceso es quitar la aguja de la jeringa tomando para las precauciones oportunas, quitar los tapones de los 4 tubos para QFT-Plus y añadir 1 ml de sangre a cada uno (hasta el centro de la marca negra del lateral de la

etiqueta del tubo). Vuelva a colocar bien los tapones y mezcle como se describe a continuación.

También existe la posibilidad de extraer la sangre en un tubo de recogida de sangre genérico con heparina de litio como anticoagulante y transferirla luego a los tubos para QFT-Plus. **Utilice solo heparina de litio** como anticoagulante sanguíneo porque los demás anticoagulantes interfieren en el ensayo. Llene un tubo de recogida de sangre (volumen mínimo 5 ml) y mezcle cuidadosamente invirtiendo el tubo varias veces para disolver la heparina. La sangre se debe mantener a temperatura ambiente (entre 22 °C ± 5 °C) antes de transferirla a los tubos para QFT-Plus para su incubación, que **debe** iniciarse durante las 16 horas siguientes a la extracción de la sangre. Si la sangre se extrae en un tubo con heparina de litio, mezcle las muestras uniformemente invirtiendo con cuidado los tubos antes de transferirlas a los tubos para QFT-Plus. La transferencia debe realizarse de forma aséptica y tomando las precauciones oportunas para quitar los tapones de los 4 tubos para QFT-Plus y añadir 1 ml de sangre a cada uno (hasta el centro de la marca negra del lateral de la etiqueta del tubo). Vuelva a colocar los tapones y mezcle tal como se describe más abajo.

3. **Inmediatamente después de llenar los tubos, agítelos diez (10) veces aplicando únicamente la fuerza necesaria para cubrir de sangre toda la superficie interna del tubo. Con ello se consigue solubilizar el antígeno en las paredes del tubo.**

Nota importante: los tubos se deben encontrar a una temperatura comprendida entre 17 y 25 °C en el momento de agitarlos. Si agita el tubo con demasiada fuerza, puede "romper" el gel, lo que alteraría los resultados.

4. **Tras el etiquetado, el llenado y la agitación, coloque los tubos en el incubador a 37 °C ± 1 °C lo antes posible, y siempre durante las 16 horas siguientes a la obtención de la sangre. Antes de la incubación, mantenga los tubos a temperatura ambiente (22 °C ± 5 °C).**

Instrucciones de uso

Fase 1: incubación de la sangre y obtención de plasma

Materiales suministrados

- Tubos de recogida de sangre para QFT-Plus (consulte el apartado 3).

Materiales necesarios (no suministrados)

- Consulte el apartado 3.

Procedimiento

1. Si la sangre no se coloca en el incubador inmediatamente después de su obtención, vuelva a mezclar los tubos invirtiéndolos 10 veces inmediatamente antes de la incubación.
2. Incube los tubos EN POSICIÓN VERTICAL a $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ por un periodo comprendido entre 16 y 24 horas. El incubador no requiere CO_2 ni humidificación.
3. Una vez finalizada la incubación a 37 °C , los tubos de recogida de sangre pueden conservarse entre $4\text{ y }27\text{ °C}$ durante 3 días antes de centrifugarlos.
4. Después de la incubación de los tubos a 37 °C , centrifúgelos durante 15 minutos a una velocidad comprendida entre $2.000\text{ y }3.000\text{ x g RCF (g)}$ para obtener el plasma. El tapón de gelatina separa las células del plasma. Si esto no ocurre, vuelva a centrifugar los tubos. Es posible obtener el plasma sin centrifugar, pero es necesario extremar la precaución al máximo para retirar el plasma sin alterar las células.
5. Las muestras de plasma solo se deben extraer con ayuda de una pipeta.

Nota importante: después del centrifugado, no pipetee arriba y abajo ni mezcle el plasma de ninguna forma antes de extraer la muestra. 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 ELISA para QFT-Plus, incluso si se utilizan equipos ELISA automatizados.

Las muestras de plasma pueden almacenarse durante 28 días a una temperatura entre $2\text{ y }8\text{ °C}$ o, después de la extracción del plasma, por debajo de -20 °C durante periodos más largos.

Se necesita un volumen mínimo de $150\text{ }\mu\text{l}$ de plasma para garantizar la idoneidad de las muestras.

Fase 2: ELISA para IFN- γ

Materiales suministrados

- Kit QFT-Plus ELISA (consulte el apartado 3).

Materiales necesarios pero no suministrados

- Consulte el apartado 3.

Procedimiento

1. Todas las muestras de plasma y los reactivos, excepto el conjugado 100x concentrado, deben estar a temperatura ambiente ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$) antes de ser utilizados. Espere por lo menos 60 minutos para permitir el equilibrado.
2. Retire las tiras innecesarias del bastidor, vuelva a cerrar la bolsita de aluminio y colóquela de nuevo en la nevera donde quedará almacenada hasta que se necesite. 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 la ilustración 2). Después, guarde el bastidor y la tapa para usarlos con el resto de las tiras.
3. Reconstituya el estándar IFN- γ añadiendo el volumen de agua desionizada o destilada que se indica en la etiqueta del frasco del vial. Mezcle con suavidad para evitar la formación de espuma y lograr así una solubilización completa. Después de reconstituir el estándar con el volumen indicado se obtiene una solución con una concentración de $8,0\text{ UI/ml}$.

Nota importante: el volumen para reconstitución del estándar del kit varía de un lote a otro.

Utilice el estándar del kit reconstituido para obtener una serie de 2 diluciones y luego una serie de 4 diluciones de IFN- γ en diluyente verde (GD) (consulte la ilustración 1). El S1 (estándar 1) contiene $4,0\text{ UI/ml}$, el S2 (estándar 2) contiene $1,0\text{ UI/ml}$, el S3 (estándar 3) contiene $0,25\text{ UI/ml}$ y el S4 (estándar 4) contiene 0 UI/ml (solamente GD). Los estándares deben analizarse al menos por duplicado. Prepare diluciones nuevas del estándar del kit para cada ensayo ELISA.



6612

Procedimiento recomendado para estándares duplicados

- Marcar 4 tubos: "P1", "P2", "P3", "P4".
- Añada 150 µl de GD a S1, S2, S3 y S4.
- Añada 150 µl del estándar del kit a S1 y mezcla bien.
- Transfiera 50 µl de S1 a S2 y mezcla bien.
- Transfiera 50 µl de S2 a S3 y mezcla bien.
- GD por sí solo sirve como estándar cero (S4).

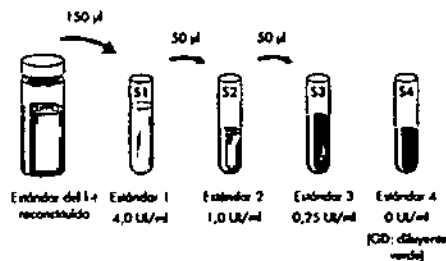


Ilustración 1. Preparación de la curva del estándar

- Reconstituya el conjugado 100x concentrado y liofilizado con 0,3 ml de agua desionizada o destilada. Mezcle suavemente para evitar la formación de espuma y lograr así una solubilización completa del conjugado. El conjugado listo para utilizar se prepara diluyendo la cantidad necesaria de conjugado 100x concentrado en diluyente verde (Tabla 1. Preparación del conjugado). Vuelva a guardar inmediatamente los conjugados 100x concentrados no utilizados a un temperatura de entre 2 y 8 °C. Utilice exclusivamente diluyente verde.

Tabla 1. Preparación del conjugado

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

- Mezcle bien las muestras de plasma procedentes de los tubos de recogida de sangre que hayan sido congeladas o almacenadas antes de verterlas en el pocillo ELISA. Nota importante: si las muestras de plasma se añaden directamente desde los tubos para QFT-Plus centrifugados, evite mezclar el plasma. Tenga cuidado en todo momento de no interferir con el material de la superficie del gel.
- Añada 50 µl de conjugado recién preparado listo para usar a los pocillos de ELISA mediante una pipeta multicanal.
- Añada 50 µl de muestras de plasma para analizar a los pocillos correspondientes usando una pipeta multicanal (consulte la distribución recomendada de muestras en la ilustración 2). Para terminar, añada 50 µl a cada uno de los estándares 1 a 4.

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

Ilustración 2. Distribución recomendada de muestras (22 ensayos por placa).

- S1 (estándar 1), S2 (estándar 2), S3 (estándar 3), S4 (estándar 4).
- 1 N (muestra 1, plasma de nulos), 1 TB1 (muestra 1, plasma de TB1), 1 TB2 (muestra 1, plasma de TB2), 1 M (muestra 1, plasma de mitógeno)

8. Tape cada una de las placas y mezcle bien el conjugado y las muestras de plasma/ estándares durante 1 minuto en un agitador de microplacas. Evite las salpicaduras.
9. Tape cada una de las placas e incúbelas a temperatura ambiente ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante 120 ± 5 minutos.
No exponga las placas a la luz directa del sol mientras estén en el incubador.
10. Durante la incubación, diluya una parte del 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. Lave los pocillos con 400 μl de tampón de lavado listo para usar durante al menos 6 ciclos. Se recomienda utilizar un lavador de placas automático.

Es muy importante lavar bien las placas para que el análisis 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 dejar escurrir durante 5 segundos como mínimo entre ciclo y ciclo.

Añada desinfectante normal de laboratorio al depósito de evacuación y siga los procedimientos establecidos para descontaminar materiales potencialmente infecciosos.
11. Coloque las placas boca abajo sobre un paño absorbente sin pelusa y dé unos taquitos para escurrir los restos de tampón de lavado que puedan quedar. Añada 100 μl de solución enzimática de sustrato a cada pocillo, tape cada placa y mezcle bien con un agitador de microplacas.
12. Tape cada una de las placas e incúbelas a temperatura ambiente ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante 30 minutos.
No exponga las placas a la luz directa del sol mientras estén en el incubador.

13. Transcurridos los 30 minutos de incubación, añada 50 μl de solución enzimática de parada a cada pocillo y mezcle.

La solución enzimática de parada debería añadirse a los pocillos en el mismo orden y aproximadamente a la misma velocidad que el sustrato en el paso 11

14. Mida la densidad óptica (DO) de cada pocillo a los 5 minutos de detener la reacción mediante un lector de microplacas equipado con un filtro de 450 nm y con un filtro de referencia de 620 nm a 650 nm. Los valores de DO se utilizan para calcular los resultados.

Cálculos e interpretación del ensayo

El programa de análisis del QFT-Plus se utiliza para analizar los datos obtenidos y calcular los resultados. Puede obtenerlo desde www.QuantiFERON.com. Asegúrese de utilizar la versión más actualizada del programa de análisis QFT-Plus.

El programa evalúa la calidad del análisis, genera una curva estándar y proporciona un resultado para cada sujeto, calculado tal y como se describe en el apartado Interpretación de los resultados.

En lugar de utilizar el programa de análisis del QFT-Plus, pueden determinarse los resultados con el siguiente método.

Generación de curva estándar

(Cuando no se utiliza el programa del QFT-Plus)

Determine los valores DO medios de las réplicas del estándar del kit para cada placa.

Genere una curva estándar en escala \log_{10}/\log_{10} mediante el trazado del \log_{10} de la DO media (eje y) con relación al \log_{10} de la concentración de IFN- γ en los estándares en UI/ml (eje x), sin incluir el estándar cero en el cálculo. Calcule la línea que mejor se adapte a la curva estándar mediante análisis regresivo.

Utilice la curva estándar para determinar la concentración de IFN- γ (UI/ml) en cada una de las muestras de plasma, utilizando para ello el valor DO 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 habituales (como por ejemplo Microsoft® Excel®). Se recomienda utilizar estos paquetes para realizar el análisis de regresión, calcular el coeficiente de variación (%CV) de los estándares y el coeficiente de correlación (r) de la curva estándar.



612

Control de calidad del ensayo

La exactitud de los resultados del análisis 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 DO medio para el estándar 1 debe ser $\geq 0,600$.
- El %CV de los valores DO de las réplicas del estándar 1 y el estándar 2 debe ser $\leq 15\%$.
- Los valores DO de las réplicas del estándar 3 y el estándar 4 no deben presentar una desviación mayor que 0,040 unidades DO respecto a su media.
- El coeficiente de correlación (r) calculado a partir de los valores medios de absorbancia de los estándares debe ser $\geq 0,98$.

El programa de análisis del QFT-Plus calcula y muestra los valores de estos parámetros de calidad.

Si no se cumplen los requisitos indicados, se considera que el análisis no es válido y es preciso repetirlo.

El valor DO medio para el estándar cero (diluyente verde) debería ser $\leq 0,150$. Si el valor DO medio es $> 0,150$, debería revisarse el procedimiento de lavado de placas.

Interpretación de los resultados

Los resultados del ensayo QFT-Plus se interpretarán según los siguientes criterios:

Nota importante: para diagnosticar o descartar una tuberculosis, o para evaluar la probabilidad de una infección latente por tuberculosis (LTBI), es necesario recabar una serie de datos epidemiológicos, históricos, médicos y diagnósticos que habrá que tener en cuenta a la hora de interpretar los resultados del QFT-Plus (Tabla 2).

Tabla 2. Interpretación de los resultados del QFT-Plus

Nulo (U/ml)	TB1 menos Nulo (U/ml)	TB2 menos Nulo (U/ml)	Mitógeno menos Nulo (U/ml) ¹	Resultado del QFT-Plus	Resultados/Interpretación
$\leq 8,0$	$\geq 0,35$ y $\geq 25\%$ de Nulo	Cualquiera	Cualquiera	Positiva ¹	Infección por <i>M. tuberculosis</i> probable
	Cualquiera	$\geq 0,35$ y $\geq 25\%$ de Nulo			
$> 8,0$ ¹	$< 0,35$ O $\geq 0,35$ y $< 25\%$ de Nulo		$\geq 0,5$	Negativa	Infección por <i>M. tuberculosis</i> improbable
			$< 0,5$	Indeterminado ²	La probabilidad de infección por <i>M. tuberculosis</i> no se puede determinar

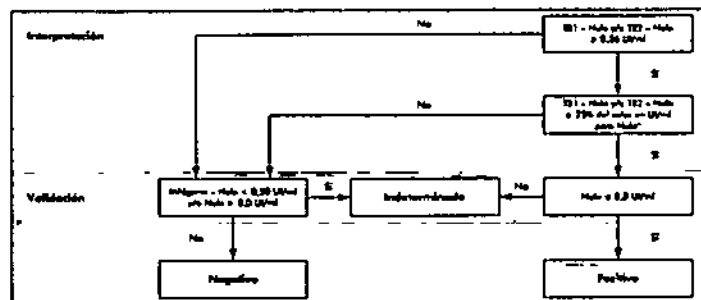
¹ Las reacciones al control positivo del mitógeno (y en ocasiones a los antígenos TB) suelen estar fuera del rango del lector de micropoclas. Esto no afecta a los resultados.

² Si no se sospecha una infección por *M. tuberculosis*, un resultado inicialmente positivo puede confirmarse volviendo a analizar por duplicado las muestras de plasma originales con el ensayo QFT-Plus ELISA. Si el análisis duplicado de una o de ambas réplicas da positivo, se considerará que el individuo ha dado positivo en el ensayo.

³ Consulte el apartado "Resolución de problemas" para conocer las posibles causas.

⁴ En estudios clínicos, menos del 0,25% de los sujetos presentaron niveles de IFN- γ de $> 8,0$ U/ml para el valor de Nulo.

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



* Para que TB1 menos Nulo o TB2 menos Nulo sea válido, un $\geq 25\%$ del valor en UI/ml de Nulo debe proceder del mismo tubo que el resultado original de $\geq 0,35$ UI/ml.

Ilustración 3. Diagrama para la interpretación del QFT-Plus

Limitaciones

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

Los sujetos que presentan valores nulos superiores a 8,0 UI/ml se clasifican como "indeterminados" porque las reacciones a los antígenos TB superiores a la media en un 25% se consideran fuera de los límites de medición del ensayo.

Pueden darse resultados poco fiables o indeterminados si:

- No se siguen los pasos descritos en este prospecto.
- Existen volúmenes excesivos de IFN- γ en circulación o hay anticuerpos heterófilos.
- Han pasado más de 16 horas desde la obtención de la muestra de sangre y su incubación a 37 °C.

Características de rendimiento

Estudios clínicos

En la práctica no es posible evaluar la sensibilidad ni especificidad del ensayo QFT-Plus al no existir un estándar definitivo para el diagnóstico de LTBI. La especificidad del ensayo QFT-Plus se ha determinado mediante aproximación a partir de las tasas de falsos positivos en personas de bajo riesgo (sin factores de riesgo conocidos) de infección de tuberculosis. La sensibilidad también se ha determinado mediante aproximación a partir de la evaluación de grupos de pacientes con tuberculosis activa confirmada mediante cultivo.

Especificidad

Se realizó un estudio para evaluar la especificidad del ensayo QFT-Plus con 409 sujetos. 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.

Del resumen de datos obtenidos de los 2 grupos de pacientes con bajo riesgo (sin factores de riesgo conocidos) para la infección por tuberculosis, la especificidad global del QFT-Plus fue del 97,6% (399/409) (Tablas 3 y 4).

Tabla 3. Resultados del estudio de especificidad del QFT-Plus por centro de estudio

Estudio	Positiva	Negativa	Indeterminado	Especificidad (IC 95%)
Japón	4	203	0	98% (95-100)
Australia	6	196	0	97% (94-99)

Tabla 4. Resultados del estudio de especificidad del QFT-Plus por tubo de antígeno TB

	TB1	TB2	QFT-Plus
Positiva	5	10	10
Negativa	404	399	399
Indeterminado	0	0	0
Especificidad (IC 95%)	98,8% (97,2-99,6)	97,6% (95,6-98,8)	97,6% (95,6-98,8)

4612



Sensibilidad para la tuberculosis activa

Mientras no exista una prueba estándar definitiva para el diagnóstico de TBI, se acepta el método del cultivo microbiológico de *M. tuberculosis* ya que los pacientes con la enfermedad están infectados por definición. Para evaluar la sensibilidad del QFT-Plus se analizaron los sujetos procedentes de 4 centros de estudio en Australia y Japón sospechosos de padecer tuberculosis y cuya infección por *M. tuberculosis* se confirmó posteriormente mediante cultivo (Tablas 5 y 6). La condición indispensable es que los pacientes reciban un tratamiento de menos de 14 días antes de la recogida de sangre para el ensayo QFT-Plus.

Del resumen de datos obtenidos de los 4 grupos de pacientes positivos para *M. tuberculosis* mediante cultivo, la sensibilidad global del QFT-Plus para la tuberculosis activa fue del 95,3% (164/172). De los 4 grupos, 159 pacientes resultaron positivos mediante TB1 y TB2, 1 paciente resultó positivo mediante TB1 solamente y 4 pacientes resultaron positivos mediante TB2 solamente. Un total de 1,1% (2/174) de los resultados fueron indeterminados. El resultado para antígeno TB2 identificó correctamente 1 paciente confirmado mediante cultivo que hubiera resultado indeterminado (mitógeno bajo) solamente con el resultado para TB1 (consulte las tablas 5 y 6).

Tabla 5. Resultados del estudio de sensibilidad del QFT-Plus por centro de estudio

Centros de estudio	Positivo	Negativo	Indeterminado	Sensibilidad del QFT-Plus* (IC 95%)
Centro de Japón 1	36	7	0	84% (69-93)
Centro de Japón 2	53	1	2	98% (90-100)
Centro de Japón 3	54	0	0	100% (93-100)
Centro de Australia	21	0	0	100% (84-100)

* La sensibilidad se basa en el número total de pruebas válidas, excluyendo los resultados indeterminados.

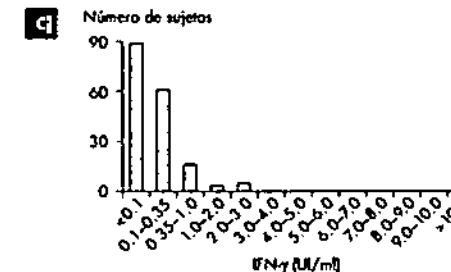
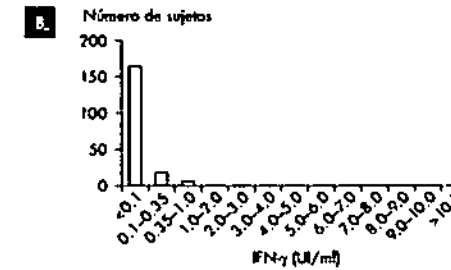
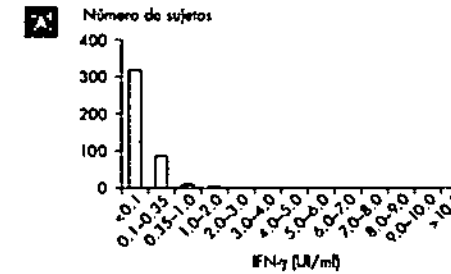
Tabla 6. Resultados del estudio de sensibilidad del QFT-Plus por tubo de antígeno TB

	TB1	TB2	QFT-Plus
Positivo	160	163	164
Negativo	11	9	8
Indeterminado	3	2	2
Sensibilidad [†] (IC 95%)	93,6% (88,8-96,7)	94,8% (90,3-97,6)	95,3% (90,9-97,9)

[†] La sensibilidad se basa en el número total de pruebas válidas, excluyendo los resultados indeterminados.

Distribuciones de respuesta observadas: estratificación del riesgo

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



(Ilustración 4. Distribución de nulos. **A**) Distribución de valores nulos en la población de bajo riesgo (n = 409). **B**) Distribución de valores nulos en la población de riesgo mixto (n = 194). **C**) Distribución de valores nulos en la población con infección por *M. tuberculosis* confirmada mediante cultivo (n = 174).

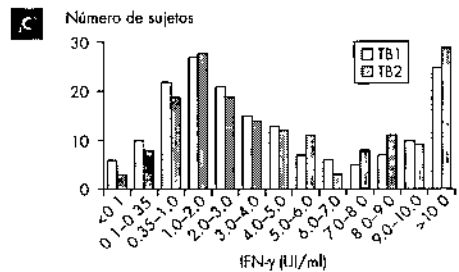
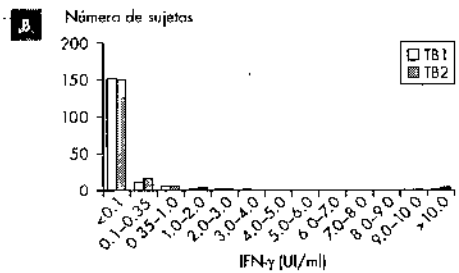
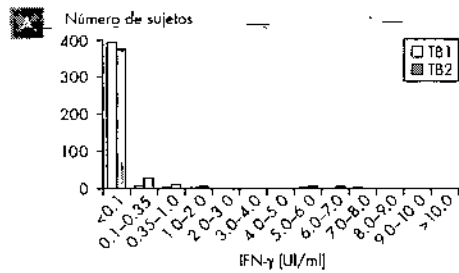


Ilustración 5. Distribución de TB1 y TB2 (sustracción de nulo). **A.** Distribución de valores de TB1 y TB2 (sustracción de nulo) en la población de bajo riesgo (n = 409). **B.** Distribución de valores de TB1 y TB2 (sustracción de nulo) en la población de riesgo mixto (n = 194). **C.** Distribución de valores de TB1 y TB2 (sustracción de nulo) en la población con infección por *M. tuberculosis* confirmada mediante cultivo (n = 174).

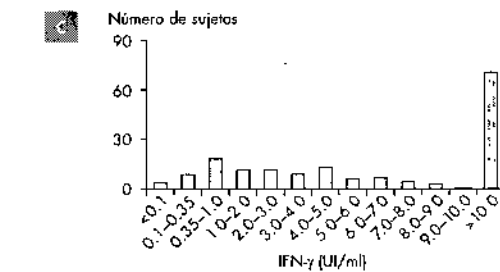
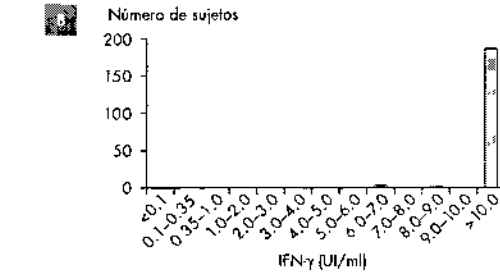
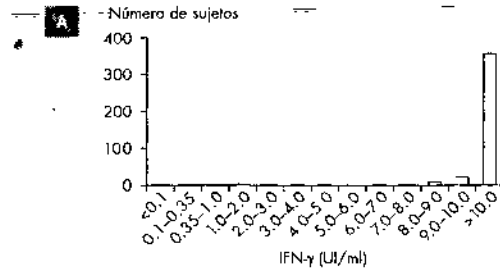
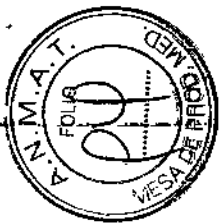


Ilustración 6. Distribución de mitógeno (sustracción de nulo). **A.** Distribución de valores de mitógeno (sustracción de nulo) en la población de bajo riesgo (n = 409). **B.** Distribución de valores de mitógeno (sustracción de nulo) en la población de riesgo mixto (n = 194). **C.** Distribución de valores de mitógeno (sustracción de nulo) en la población con infección por *M. tuberculosis* confirmada mediante cultivo (n = 169).



4612

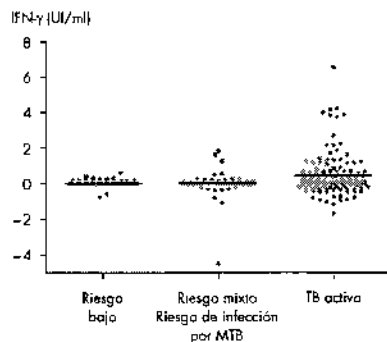


Ilustración 7. Diferencia observada entre valores de TB1 y TB2 (sustracción de nulo), estratificada por riesgo. Población de riesgo bajo (n = 409), población de riesgo mixto (n = 189) y población con infección por *M. tuberculosis* confirmada mediante cultivo (n = 141). Se restaron los valores de TB1 de los valores de TB2. Se excluyeron los sujetos con valores de TB1 o TB2 > 10,0 UI/ml por estar fuera del intervalo lineal del ensayo.

Características del rendimiento del ensayo

Se ha demostrado la linealidad del ensayo QFT-Plus ELISA mediante la colocación aleatoria de 5 réplicas de 11 pools de plasma de concentraciones conocidas de IFN- γ en la placa de ELISA. La línea de regresión lineal presenta una pendiente de $1,002 \pm 0,011$ y un coeficiente de correlación de 0,99 (Ilustración 8).

El límite de detección del QFT-Plus ELISA es de 0,05 UI/ml, y no se ha demostrado el efecto gancho a dosis altas (prozona) con concentraciones de IFN- γ de hasta 10.000 UI/ml.

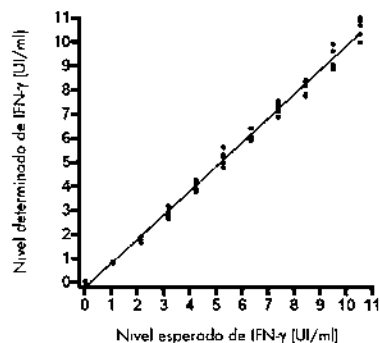


Ilustración 8. Perfil de linealidad del QFT-Plus ELISA.

La imprecisión intra e interensayo (%CV) del QFT-Plus ELISA se estimó mediante el análisis de 20 muestras de plasma con diferentes concentraciones de IFN- γ en réplicas de 3, en 3 laboratorios distintos, en 3 días no consecutivos y con 3 usuarios distintos. Todo ello supone un total de 27 análisis por muestra, en 9 series analíticas distintas. Una de las muestras era un control de nulos con una concentración de IFN- γ calculada de 0,08 UI/ml (IC del 95%: 0,07-0,09). Para las 19 muestras de plasma restantes, las concentraciones estaban comprendidas entre 0,33 (IC del 95%: 0,31-0,34) y 7,7 UI/ml (IC del 95%: 7,48-7,92).

La estimación de la imprecisión dentro de la misma serie analítica o intraensayo se realizó con el promedio de los valores % CV de cada muestra de plasma con IFN- γ de cada placa para análisis (n = 9); el resultado para la imprecisión osciló entre un 4,1 y un 9,1% CV. El promedio de la covarianza dentro de una misma serie (\pm IC del 95%) fue de $6,6\% \pm 0,6\%$. El promedio del plasma con cero IFN- γ fue de 14,1% CV.

La imprecisión total o interensayo se determinó mediante la comparación de las 27 concentraciones calculadas de IFN- γ para cada muestra de plasma. La imprecisión interensayo osciló entre un 6,6 y un 12,3% CV. El promedio global de % CV (\pm IC del 95%) fue de $8,7\% \pm 0,7\%$. El plasma con cero IFN- γ presentó un 26,1 de % CV. Cabe esperar este nivel de variación debido a la baja concentración calculada de IFN- γ , y la variación relativa a una estimación baja de concentración siempre será mayor que la de concentraciones superiores.

La reproducibilidad del QFT-Plus se determinó con muestras de sangre de 102 sujetos con factores de riesgo mixto para la infección por *M. tuberculosis*. Se valoraron tres usuarios y condiciones de laboratorio distintos.

En total se llevaron a cabo 3 determinaciones diagnósticas por cada sujeto, con un total de 306 para todos los sujetos. En general, la reproducibilidad de diagnóstico obtenida fue del 99% (IC del 95%: 97,2-99,7), con un diagnóstico concordante para 303 de las 306 determinaciones. La variación se debe a los resultados de 3 sujetos con valores cercanos al valor de corte.

Diagnóstico de LTBI

Se han publicado varios estudios que secundan la validez del QFT, precursor del QFT-Plus, en distintas poblaciones con riesgo de infección por MTB. En la tabla 7 se resumen los principales resultados de algunos de estos estudios.

29 30
MARISOL MASINO
BIOQUIMICA - M.N. 9483
DT. TECNOLAB S.A.

Tabla 7. Selección de estudios publicados sobre QFT

Población/ Condición	Resultados y conclusiones	Número total de estudios publicados
Infantil	Validez demostrado en niños, incluidos niños menores de 5 años (45-46), con una exactitud mayor a la de los ensayos IGRA basados en ELISpot (8). El mayor estudio hasta la fecha sobre la comparación entre el ensayo QFT y la prueba TST realizado con niños de Vietnam, Filipinas y México corroboró el uso preferencial del QFT en lugar de la TST para la detección de ITBI en niños extranjeros (46). Un estudio de contactos limitados determina un mejor valor predictivo que la prueba TST en niños (47) y un riesgo de progresión hasta desarrollar la tuberculosis 8 veces mayor al cabo de dos años entre los convertidores QFT con relación a los no convertidores (48). La discordancia QFT-negativo/TST-positivo es alta en niños vacunados con BCG (46, 49), pero no se ha detectado ningún impacto en la respuesta del mitógeno en niños menores de 5 años (49), y la tasa de indeterminación para el cribado rutinario de niños inmigrantes es baja (46).	152
Mujeres embarazadas	En zonas de carga baja, el QFT ofrece un buen rendimiento en todos los trimestres del embarazo con resultados comparables a los de las mujeres no embarazadas, resulta mucho más específico, con una sensibilidad comparable y puede ser un mejor predictor de la progresión de la enfermedad que la prueba TST (50). En áreas de carga alta, el QFT resultó ser más estable a lo largo de todo el embarazo y mucho más cercano a la prevalencia de ITBI de fondo en comparación con la prueba TST, a pesar de que los autores llegaron a la conclusión de que el embarazo incide tanto en el ensayo QFT como en la prueba TST (51).	6
VIIH/SIDA	Tanto los ensayos IGRA como la prueba TST se ven afectados por la infección por VIH y el conjunto de pruebas sugiere que deberían tomarse precauciones en el momento de interpretar los resultados con niveles de CD4 ⁺ < 200 (52). Se ha demostrado que la incidencia en el ensayo QFT es menor que en los ensayos IGRA basados en ELISpot y la prueba TST (53-55). La comodidad de los ensayos IGRA, realizados en una sala visita, prevalece sobre la prueba TST, que presenta unas tasas de seguimiento muy bajas en este tipo de población (53).	101

Población/ Condición	Resultados y conclusiones	Número total de estudios publicados
Terapias inmunosupresoras	La incidencia de las terapias inmunosupresoras es menor en el ensayo QFT que en la prueba TST y ofrece una mejor correlación con los factores de riesgo de la tuberculosis (23, 27). QFT ha demostrado una alta sensibilidad en pacientes con enfermedades reumáticas (23, 56, 57) y una mayor especificidad que la prueba TST, lo que minimiza los falsos positivos y reduce el tratamiento no necesario que se adoptaría con la prueba TST (23, 57, 58).	112
Profesionales sanitarios	Más específico, con un menor número de falsos positivos que la prueba TST y más rentable que la prueba TST (59-62). La variabilidad en valores cercanos al umbral es esperable en análisis en serie debido al punto de corte dicotómico y a la variabilidad inherente de una prueba biológica (63). Los estudios ponen de manifiesto unas tasas de conversión/reversión superiores a las de la prueba TST en los análisis en serie de profesionales sanitarios de bajo riesgo (64, 65). Los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) de Estados Unidos reconocen que la flexibilidad del criterio para definir la conversión IGRA puede generar mayor conversión que la observada con los criterios cuantitativos más restrictivos de la prueba TST; además, las estrategias enfocadas a la repetición de los análisis han demostrado su eficacia para la gestión del fenómeno de conversión/reversión (65-68).	111
Sospechosos de padecer tuberculosis	Valores VPP y VPN superiores a los de la prueba TST (47); comodidad de una sola visita para los pacientes con pocas posibilidades de volver (63), mejor correlación de la exposición (69), especialmente en sujetos vacunados con BCG y poblaciones de países donde se administra la vacuna BCG (70, 71).	89
Sujetos trasplantados	Eficacia equiparable a la de la prueba TST, pero con un menor impacto de la insuficiencia en fase terminal de órganos que la prueba TST (22).	23



Población/ Condición	Resultados y conclusiones	Número total de estudios publicados
Diabetes	Pruebas contradictorias a partir de un número reducido de publicaciones realizadas con un número limitado de sujetos. Un estudio realizado en una área de carga bajo estableció que la sensibilidad del QFT no se ve afectada por la diabetes en pacientes con tuberculosis (72). Un estudio realizado en Tanzania, un lugar con una alta carga de la enfermedad, y que sugería un impacto negativo de la diabetes con relación a la producción de IFN- γ , no valoró factores de confusión como el VIH y las infecciones helmínticas (73). En estudios vietnamitas, 838 sujetos que manifestaron ellos mismos ser diabéticos y sospechosos de tener tuberculosis a partir de placas de tórax anómalas o por la confirmación mediante cultivo de tuberculosis activa (n = 128), la positividad del QFT fue equivalente o superior a los puntos de corte de 10 y 15 mm de la prueba TST (74).	9
Enfermedad renal terminal	Los resultados positivos del QFT se correlacionan con los factores de riesgo de la tuberculosis mejor que la prueba TST y están menos relacionados con BCG (75).	45
Emigrantes	Los estudios demuestran que el ensayo QFT no se ve afectado ni por BCG ni por la edad, a diferencia de la prueba TST (74). Por lo tanto, el ensayo QFT resulta ser el método más económico (76). En zonas de carga baja, la mayoría de los casos de tuberculosis provienen de nacidos en el extranjero y de la reactivación de tuberculosis latente tras la llegada (77). El mayor estudio hasta la fecha sobre la comparación entre el ensayo QFT y la prueba TST realizada con niños inmigrantes propone el uso preferencial del QFT en lugar de la prueba TST para la detección de la tuberculosis latente en niños nacidos en el extranjero (46).	29

Información técnica

Resultados indeterminados

Los resultados indeterminados son poco habituales y pueden estar relacionados con el estado inmunológico del individuo o con varios factores técnicos en caso de no seguir las instrucciones de uso indicadas.

Si existen sospechas de que se hayan producido fallos o errores técnicos durante el almacenamiento de reactivos o la recogida o manipulación de las muestras de sangre, repita todo el ensayo QFT-Plus con otras muestras 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 el ensayo ELISA con plasmas estimulados. A no ser que se haya producido un error en el ensayo ELISA, no deberían obtenerse resultados indeterminados por un bajo volumen de mitógeno o un elevado volumen de valores nulos. Los resultados indeterminados deben referirse como tales. 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 aparecen coágulos de fibrina, centrifúguelas para sedimentar los coágulos y facilitar así el pipeteado del plasma.

Guía de resolución de problemas

Esta guía de resolución de problemas puede resultarle de utilidad para resolver cualquier problema que pueda surgir. Si desea obtener más información, también puede consultar la información técnica que encontrará en: www.QuantiFERON.com. Consulte la contracubierta para obtener la dirección de contacto.

Resolución de problemas para ELISA

Coloración indeterminada

Posible causa	Solución
a) Placa mal lavada	Lave la placa al menos 6 veces con 400 µl/pocillo con tampón de lavado. Según el lavador utilizado, puede que sean necesarios más de 6 ciclos de lavado. Deje escurrir durante 5 segundos como mínimo entre ciclo y ciclo.
b) Contaminación cruzada entre los pocillos de ELISA	Extreme la precaución durante el pipeteado y la mezcla de la muestra para minimizar el riesgo.
c) Kit o componentes caducados	Asegúrese de que el kit no esté caducado. Compruebe que el estándar reconstituido y el conjugado 100x concentrado se utilizan durante los tres meses siguientes a la fecha de reconstitución.
d) Solución enzimática de sustrato contaminada	Deseche el sustrato si presenta una coloración azul. Utilice depósitos de reactivos limpios.
e) Plasma mezclado en tubos para QFT-Plus antes de su recogida	Después del centrifugado, no pipetee arriba y abajo ni mezcle el plasma de ninguna forma antes de extraer la muestra. Tenga cuidado en todo momento de no interferir con el material de la superficie del gel.

Valores bajos de densidad óptica para los estándares

Posible causa	Solución
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 pipeteado	Compruebe que las pipetas estén calibradas y utilícelas según las instrucciones del fabricante.
c) Temperatura de incubación demasiado baja	La incubación para ELISA debe realizarse a temperatura ambiente (22 °C ± 5 °C).
d) Tiempo de incubación demasiado corto	La incubación de la placa con el conjugado, los estándares y las muestras debe durar 120 ± 5 minutos. La solución enzimática de sustrato debe incubarse en la placa durante 30 minutos.
e) Filtro incorrecto para la lectura de placas	La placa debe leerse a 450 nm con un filtro de referencia de entre 620 y 650 nm.

Resolución de problemas para ELISA

f) Reactivos demasiado fríos	Todos los reactivos, a excepción del conjugado 100x concentrado, deben estar a temperatura ambiente antes de empezar el ensayo. Este paso puede tardar una 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

Posible causa	Solución
a) Placa mal lavada	Lave la placa al menos 6 veces con 400 µl/pocillo con tampón de lavado. Según el lavador utilizado, puede que sean necesarios más de 6 ciclos de lavado. Deje escurrir 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 °C ± 5 °C).
c) 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.
d) Solución enzimática de sustrato contaminada	Deseche el sustrato si presenta una coloración azul. Utilice depósitos de reactivos limpios.

Curva estándar no lineal y variabilidad entre duplicados

Posible causa	Solución
a) Placa mal lavada	Lave la placa al menos 6 veces con 400 µl/pocillo con tampón de lavado. Según el lavador utilizado, puede que sean necesarios más de 6 ciclos de lavado. Deje escurrir durante 5 segundos como mínimo entre ciclo y ciclo.
b) Error de dilución del estándar	Asegúrese de preparar correctamente las diluciones del estándar, siguiendo las instrucciones de este prospecto.
c) Mezclado mal hecho	Mezcle bien los reactivos mediante inversión o agitándolos con cuidado 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.

GIAGEN y sus distribuidores ponen a su disposición de forma gratuita toda la información del producto y las guías técnicas. También puede visitar www.QuantiFERON.com.



612

E

Referencias

En Gnowee, la biblioteca de referencias QuantiFERON disponible en www.gnowee.net, encontrará una lista completa de referencias sobre el ensayo QFT-Plus y QFT.

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. Bacchina, M. et al. (2008) Performance of two commercial blood IFN-gamma release assays for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection in patient candidates for anti-TNF-alpha treatment. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **27**, 907.
5. Brock, I. et al. (2006) Latent tuberculosis in HIV positive, diagnosed by the *M. tuberculosis* specific interferon-gamma test. *Respir. Res.* **7**, 56.
6. Chun, J.K. et al. (2008) The role of a whole blood interferon gamma assay for the detection of latent tuberculosis infection in bacille Calmette-Guerin vaccinated children. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **62**, 389.
7. Connell, T.G. et al. (2008) A three-way comparison of tuberculin skin testing, QuantiFERON-TB gold and T-SPOT.TB in children. *PLoS ONE* **3**, e2624 doi:10.1371/journal.pone.0002624.
8. Deljen, A.K. et al. (2007) Interferon-gamma release assays improve the diagnosis of tuberculosis and nontuberculous mycobacterial disease in children in a country with a low incidence of tuberculosis. *Clin. Infect. Dis.* **45**, 322.
9. Diel, R. et al. (2009) Comparative performance of tuberculin skin test, QuantiFERON-TB-Gold In-Tube assay, and T-Spot.TB test in contact investigations for tuberculosis. *Chest* **135**, 1010.
10. Diel, R. et al. (2008) Predictive value of a whole-blood IFN-gamma assay for the development of active TB disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **177**, 1164.
11. Diel, R. et al. (2006) Tuberculosis contact investigation with a new, specific blood test in a low-incidence population containing a high proportion of BCG-vaccinated persons. *Respir. Res.* **7**, 77.
12. Dogra, S. et al. (2007) Comparison of a whole blood interferon-gamma assay with tuberculin skin testing for the detection of tuberculosis infection in hospitalized children in rural India. *J. Infect.* **54**, 267.
13. 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. Mirskhulava, V. et al. (2008) Prevalence and risk factors for latent tuberculosis infection among health care workers in Georgia. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* **12**, 513.
25. Nakaoka, H. et al. (2006) Risk for tuberculosis among children. *Emerging Infect. Dis.* **12**, 1383.
26. Pai, M. et al. (2005) *Mycobacterium tuberculosis* infection in health care workers in rural India: comparison of a whole-blood, interferon-gamma assay with tuberculin skin testing. *JAMA* **293**, 2746.
27. Ponce de Leon, D. et al. (2008) Comparison of an interferon-gamma assay with tuberculin skin testing for detection of tuberculosis (TB) infection in patients with rheumatoid arthritis in a TB-endemic population. *J. Rheumatol.* **35**, 776.
28. Richeldi, L. et al. (2008) Prior tuberculin skin testing does not boost QuantiFERON-TB results in paediatric contacts. *Eur. Respir. J.* **32**, 524.
29. Rothel, J.S. and Andersen, P. (2005) Diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection is the demise of the Mantoux test imminent? *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* **3**, 981.
30. Schoepfer, A.M. et al. (2008) Comparison of interferon-gamma release assay versus tuberculin skin test for tuberculosis screening in inflammatory bowel disease. *Am. J. Gastroenterol.* **103**, 2799.
31. Silverman, M.S. et al. (2007) Use of an interferon-gamma based assay to assess bladder cancer patients treated with intravesical BCG and exposed to tuberculosis. *Clin. Biochem.* **40**, 913.
32. Stebler, A. et al. (2008) Whole-blood interferon-gamma release assay for baseline tuberculosis screening of healthcare workers at a Swiss university hospital. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* **29**, 681.
33. Turner, J. et al. (1996) Stimulation of human peripheral blood mononuclear cells with live *Mycobacterium bovis* BCG activates cytolytic CD8+ T cells in vitro. *Immunology* **87**, 339.
34. Brookes, R.H. et al. (2003) CD8+ T cell-mediated suppression of intracellular *Mycobacterium tuberculosis* growth in activated human macrophages. *Eur. J. Immunol.* **33**, 3293.
35. Stenger, S. et al. (1998) An antimicrobial activity of cytolytic T cells mediated by granulysin. *Science* **282**, 121.

37-38
MARISOL MASINO
BIOQUIMICA M.N. 9483
DT-TECNOLAB S.A.

J

36. Lalvani, A. et al. (1998) Human cytolytic and interferon gamma-secreting CD8+ T lymphocytes specific for *Mycobacterium tuberculosis*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **95**, 270.
37. Lewinsohn, D.M. et al. (2001) Classically restricted human CD8+ T lymphocytes derived from *Mycobacterium tuberculosis*-infected cells: definition of antigenic specificity. J. Immunol. **166**, 439.
38. Lewinsohn, D.A. et al. (2007) Immunodominant tuberculosis CD8 antigens preferentially restricted by HLA-B. PLoS Pathol. **3**, 1240.
39. Day, C.L. et al. (2011) Functional capacity of *Mycobacterium tuberculosis*-specific T cell responses in humans is associated with mycobacterial load. J. Immunol. **187**, 2222.
40. Rozot, V. et al. (2013) *Mycobacterium tuberculosis*-specific CD8+ T cells are functionally and phenotypically different between latent infection and active disease. Eur. J. Immunol. **43**, 1568.
41. Nikolova, M. et al. (2013) Antigen-specific CD4- and CD8-positive signatures in different phases of *Mycobacterium tuberculosis* infection. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. **75**, 277.
42. Chicchio, T. et al. (2014) Polyfunctional T-cells and effector memory phenotype are associated with active TB in HIV-infected patients. J. Infect. doi: 10.1016/j.jinf.2014.06.009. Epub.
43. Ongaya, A. et al. (2013) *Mycobacterium tuberculosis*-specific CD8+ T cell recall in convalescing TB subjects with HIV co-infection. Tuberculosis **93**, S60.
44. Ianiconi, C. et al. (2012) CD8+ T cells provide an immunologic signature of tuberculosis in young children. Am. J. Respir. Crit. Care Med. **185**, 206.
45. Long, G., Ji-Chun, M., Min, Jin-Long, L., Jin-Hui, T. (2014) Interferon- γ release assay for the diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection in children younger than 5 years: a meta-analysis. Clin. Pediatr.
46. Howley, M.M. et al. (2014) Evaluation of QuantiFERON-TB Gold In-Tube and tuberculin skin tests among immigrant children being screened for latent tuberculosis infection. Ped. Infect. Dis.
47. Diel, R., Lodenkemper, R., Niemann, S., Meywald-Walter, K., and Nienhaus, A. (2011) Negative and positive predictive value of a whole-blood interferon- γ release assay for developing active tuberculosis. Am. J. Respir. Crit. Care Med. **183**, 88.
48. Machingodaize, S. et al. (2012) Predictive value of recent QuantiFERON conversion for tuberculosis disease in adolescents. Am. J. Respir. Crit. Care Med. **186**, 1051.
49. Razi, S. et al. (2012) Rapid diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in children using interferon-gamma release assays (IGRAs). Allergy Asthma Proc. **33**, 217.
50. Lighter-Fisher, J. and Surette, A-M. (2012) Performance of an interferon-gamma release assay to diagnose latent tuberculosis infection during pregnancy. Obstet. Gynecol. **119**, 1088.
51. Mathud, J.S. et al. (2014) Pregnancy differentially impacts performance of latent tuberculosis diagnostics in a high-burden setting. PLoS ONE **9**, e92308.
52. Hoffman, M. and Ravn, P. (2010) The use of interferon-gamma release assays in HIV-positive individuals. Eur. Infect. Dis. **4**, 23.
53. Cheallaigh, C.N. et al. (2013) Interferon gamma release assays for the diagnosis of latent TB infection in HIV-infected individuals in a low TB burden country. PLoS ONE **8**, e53330.
54. Ramos, J. M. et al. (2012) Contribution of interferon gamma release assays testing to the diagnosis of latent tuberculosis infection in HIV-infected patients: A comparison of QuantiFERON-TB gold in tube, T-SPOT.TB and tuberculin skin test. BMC Infect. Dis. **12**, 169.
55. Wolf, T. et al. (2013) Tuberculosis skin test, but not interferon- γ releasing assays is affected by BCG vaccination in HIV patients. J. Infect. **66**, 376.
56. Hsia, E.C. et al. (2012) Interferon- γ release assay versus tuberculin skin test prior to treatment with golimumab, a human anti-tumor necrosis factor antibody, in patients with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, or ankylosing spondylitis. Arthritis Rheum. **64**, 2068.
57. Garcovich, S. et al. (2011) Clinical applicability of QuantiFERON-TB-Gold testing in psoriasis patients during long-term anti-TNF-alpha treatment: a prospective, observational study. J. Eur. Acad. Dermatol. Ven.
58. Kwakernaak, A.J. et al. (2011) A comparison of an interferon-gamma release assay and tuberculin skin test in refractory inflammatory disease patients screened for latent tuberculosis prior to the initiation of a first tumor necrosis factor α inhibitor. Clin. Rheumatol. **30**, 505.
59. Vinton, P. et al. (2009) Comparison of QuantiFERON-TB Gold In-Tube test and tuberculin skin test for identification of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection in healthcare staff and association between positive test results and known risk factors for infection. Infect. Control Hosp. Epidemiol. **30**, 215.
60. de Perio, M.A., Tsevat, J., Roselle, G.A., Kralovic, S.M., and Eckman, M.H. (2009) Cost-effectiveness of interferon gamma release assays vs tuberculin skin tests in health care workers. Arch. Intern. Med. **169**, 179.
61. Nienhaus, A. et al. (2008) Evaluation of the interferon- γ release assay in healthcare workers. Int. Arch. Occup. Environ. Health **81**, 295.
62. Nienhaus, A. et al. (2011) Systematic review of cost and cost-effectiveness of different TB-screening strategies. BMC Health Serv. Res. **11**, 247.
63. Centers for Disease Control and Prevention (2010) Updated guidelines for using interferon-gamma release assays to detect *Mycobacterium tuberculosis* infection — United States, 2010. MMWR Recomm. Rep. **59** (RR-5), 1.
64. Dorman, S.E. et al. (2014) Interferon- γ release assays and tuberculin skin testing for diagnosis of latent tuberculosis infection in healthcare workers in the United States. Am. J. Respir. Crit. Care Med. **189**, 77.
65. Fong, K.S. et al. (2012) Challenges of interferon-gamma release assay conversions in serial testing of health care workers in a tuberculosis control program. Chest **142**, 55.
66. Thanassi, W., Noda, A., Hernandez, B., Newell, J., Terpeluk, P., Marder, D. and Yesavage, J.A. (2012) Delineating a retesting zone using receiver operating characteristic analysis on serial QuantiFERON tuberculosis test results in US healthcare workers. Pulm. Med. doi: 10.1155/2012/291294. Epub
67. Behrman, A. et al. (2013) Protecting Health Care Workers from Tuberculosis, 2013: ACOEM Medical Center Occupational Health Section Task Force on Tuberculosis and Health Care Workers. J. Occup. Environ. Med. **55**, 985.
68. Nienhaus, A., Ringshausen, F.C., Costa, J.T., Schablon, A., and Tripodi, D. (2013) IFN- γ release assay versus tuberculin skin test for monitoring TB infection in healthcare workers. Expert Rev. Anti Infect. Ther. **11**, 37.
69. Arend S.M. et al. (2007) Comparison of two interferon-gamma assays and tuberculin skin test for tracing TB contact. Amer. J. Respir. Crit. Care Med. **175**, 618.

4612



70. Mandalakas, A.M., Detjen, A.K., Hesselning, A.C., Benedetti, A., and Menzies, D. (2011) Interferon-gamma release assays and childhood tuberculosis: systematic review and meta-analysis. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* **15**, 1018.
71. Grinsdale, J.A., Ho, C.S., Banoung, H., Kwamura, L.M. (2011) Programmatic impact of using QuantiFERON-TB Gold in routine contact investigation activities. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* **15**, 1614.
72. Walsh, M.C. et al. (2011) Sensitivity of interferon-gamma release assays is not compromised in tuberculosis patients with diabetes. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* **15**, 179.
73. Faurholt-Jespersen, D. et al. (2014) Diabetes is associated with lower tuberculosis antigen-specific interferon gamma release in Tanzanian tuberculosis patients and non-tuberculosis controls. *Scand. J. Infect. Dis.* **46**, 384.
74. Painter, J.A. et al. (2013) Tuberculosis screening by tuberculosis skin test or QuantiFERON-TB Gold In-Tube Assay among an immigrant population with a high prevalence of tuberculosis and BCG vaccination. *PLoS ONE* **8**, e82727.
75. Rogerson, T.E. et al. (2012) Tests for latent tuberculosis in people with ESRD: a systematic review. *Amer. J. Kidney Dis.* **61**, 33.
76. Pareek, M. et al. (2013) Community-based evaluation of immigrant tuberculosis screening using interferon-gamma release assays and tuberculin skin testing: observational study and economic analysis. *Thorax.* **68**, 230.
77. WHO Global Tuberculosis Report, 2013. <http://www.who.int/iris/handle/10665/91355> [consultado el 14 de julio de 2013].

Símbolos

- 2 x 96 Suficiente para la preparación de 2 x 96 muestras
- Fabricante legal
- CE** Símbolo de marcado CE-IVD
- IVD** Para uso de diagnóstico in vitro
- LOT** Código de lote
- REF** Número de referencia
- GTIN** Número mundial de artículo comercial
- Fecha de caducidad
- Limitación de temperatura
- Consultar las instrucciones de uso
- No reutilizar
- Mantener alejado de la luz solar

Información de contacto

Para recibir asistencia técnica y solicitar más información, llame al número gratuito 00800-22-44-6000, visite el Centro de servicio técnico en www.qiagen.com/contact o póngase en contacto con uno de los departamentos del servicio técnico de QIAGEN (consulte la contraportada o visite el sitio www.qiagen.com).

Resumen del procedimiento

Fase 1: incubación de la sangre

1. Recoja la sangre del paciente en los tubos de recogida de sangre y mezcle el contenido agitando los tubos diez (10) veces con la fuerza suficiente para que toda la superficie interna del tubo se cubra de sangre. Con ello se consigue solubilizar el antígeno en las paredes del tubo.
2. Incube los tubos EN POSICIÓN VERTICAL a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por un periodo comprendido entre 16 y 24 horas.
3. Después de la incubación, centrifugue los tubos durante 15 minutos a $2.000\text{-}3.000 \times g$ RCF (g) para separar el plasma de los glóbulos rojos.
4. Después del centrifugado, no pipetee arriba y abajo ni mezcle el plasma de ninguna forma antes de extraer la muestra. Tenga cuidado en todo momento de no interferir con el material de la superficie del gel.

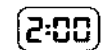


7. Lave los pocillos al menos 6 veces con $400\text{ }\mu\text{l}$ /pocillo con tampón de lavado.
8. Añada a los pocillos $100\text{ }\mu\text{l}$ de solución enzimática de sustrato. Mezcle con un agitador.
9. Deje incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente.
10. Añada a los pocillos $50\text{ }\mu\text{l}$ de solución enzimática de parada. Mezcle con un agitador.
11. Lea los resultados a 450 nm con un filtro de referencia de entre $620\text{ y }650\text{ nm}$.
12. Analice los resultados.



Fase 2: ELISA para IFN- γ

1. Equilibre los componentes de ELISA, excepto el conjugado $100\times$ concentrado, a temperatura ambiente ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante un mínimo de 60 minutos.
2. Reconstituya el estándar del kit hasta $8,0\text{ UI/ml}$ con agua destilada o desionizada. Prepare cuatro (4) diluciones de estándar.
3. Reconstituya el conjugado $100\times$ concentrado liofilizado con agua desionizada o destilada.
4. Prepare conjugado listo para usar con diluyente verde y añada $50\text{ }\mu\text{l}$ a cada uno de los pocillos.
5. Añada $50\text{ }\mu\text{l}$ de las muestras de plasma del ensayo y $50\text{ }\mu\text{l}$ de los estándares a los pocillos correspondientes. Mezcle con un agitador.
6. Deje incubar durante 120 ± 5 minutos a temperatura ambiente.





612

Esta página se ha dejado en blanco intencionadamente.

Esta página se ha dejado en blanco intencionadamente.

MARISOL MASINO
BIOQUIMICA-M.N. 9483

Marcos comerciales: QIAGEN®, QFT®, QuantiFERON® (Grupo QIAGEN), Microsoft®, Excel® (Microsoft), ProCin® (Rohm and Haas Co.)

Acuerdo de licencia limitado para QuantiFERON TB Gold Plus (QFT Plus) USA

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

1. El producto debe utilizarse exclusivamente de acuerdo con los protocolos proporcionados con el producto y este prospecto, así como utilizarse únicamente con los componentes suministrados con él. QIAGEN no otorga licencia alguna bajo ninguna de sus propiedades intelectuales para utilizar o incorporar los componentes suministrados en estos kits con componentes no incluidos en los mismos, excepto lo descrito en los protocolos proporcionados con el producto y este prospecto.
2. Aparte de las licencias expresamente especificadas, QIAGEN no garantiza que estos kits ni sus[usos] no infrinjan los derechos de terceros.
3. Este kit y sus componentes tienen licencia para un solo uso y en ningún caso se pueden reutilizar, reacondicionar ni revender, salvo que QIAGEN indique lo contrario.
4. QIAGEN renuncia específicamente a cualquier otra licencia, explícita o implícita, distinta de las licencias expresamente especificadas.
5. El comprador y el usuario de los kits aceptan no realizar ni permitir a otros realizar ningún paso que pueda conducir a acciones prohibidas en las especificaciones anteriores o que pueda forzarlas. QIAGEN se reserva el derecho de emprender acciones legales ante cualquier tribunal para el cumplimiento de las prohibiciones especificadas en este Acuerdo de licencia limitado, y recuperará todos los gastos derivados de la investigación y de los costos del juicio, incluidos los honorarios de abogado, en cualquier acción emprendida para hacer cumplir este Acuerdo de licencia limitado o cualquier otro derecho de propiedad intelectual con relación a este kit y con sus componentes.

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

© 2014-2015, QIAGEN. Reservados todos los derechos.

www.QuantiFERON.com

Asia-Pacific | techservice-ap@qiagen.com

Europe | techserviceQFT-eu@qiagen.com

Middle East/Africa | techserviceQFT-eu@qiagen.com

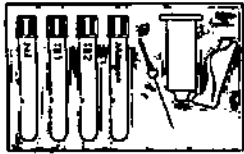
Latin America (not including Brazil or Mexico) | techservice-latam@qiagen.com

MARISOL MASINO
BIOQUIMICA M.N 9483
DT - TECNO LAB S.A.



www.QuantiFERON.com

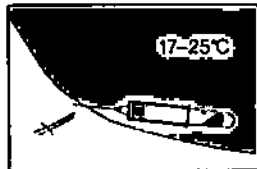
4612
A.N.M.A.T.
FOLIO 104
MESA DE PRDO. MED.



1085211ES Rev. 02 03/2015

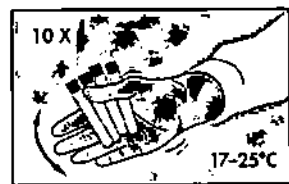
CONTENIDO

- 4 tubos de recogida de sangre para QFT-Plus (Nil, TB1, TB2, Mitogen)
- 1 aguja 21G de 0,8 x 38 mm
- 1 soporte para tubos de seguridad QUICKSHIELD
- 1 prospecto



ADVERTENCIA:

- Deben aplicarse las precauciones estándar para la manipulación de tubos.
- Los tubos deben almacenarse y utilizarse a temperatura ambiente (17 °C-25 °C).



QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT®-Plus)

Tubos de recogida de sangre
Envase de paciente individual

(N.º de referencia 622222) Para uso entre el nivel del mar y los 810 m

⚠ Si se utilizan fuera de estos rangos de altitud, se podrían producir variaciones en el volumen de la sangre recogida. Para uso con el kit QFT-Plus ELISA (N.º de referencia 622120).

RECOGIDA DE SANGRE

Recoja la sangre mediante punción venosa.
El vacío llega hasta 1 ml (la marca negra indica el rango aceptable de 0,8 a 1,2 ml).
El flujo sanguíneo puede ser lento.
Mantenga el tubo en la aguja durante 2 ó 3 segundos después del cese de flujo.
Si el tubo no se ha llenado hasta la marca, repita el proceso.

Consejo técnico

Agujas con aletas: purgue los tubos con un tubo normal (no suministrado) antes de llenar los tubos para QFT-Plus.

RECOGIDA DE SANGRE

Inmediatamente después de llenar los tubos, agítelos diez (10) veces aplicando únicamente la fuerza necesaria para que toda la superficie interna del tubo se cubra de sangre a fin de solubilizar el antígeno en las paredes del mismo.

⚠ Los tubos se deben encontrar a una temperatura comprendida entre 17 y 25 °C en el momento de llenarlos de sangre.

Si agita el tubo con demasiada fuerza, puede "romper" el gel, lo que alteraría los resultados.

Coloque las etiquetas correspondientes en los tubos.

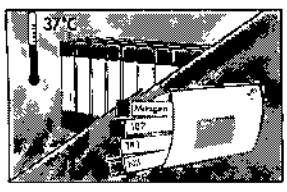


www.QuantiFERON.com



tecnolab s.a.
estomba 964 . c1427cov
capital federal . argentina
tel. 54 11 4555 0010
54 11 4859 5300
fax 54 11 4553 3331
Info@tecnolab.com.ar
www.tecnolab.com.ar
ISO 9001:2008 certificada

MARISOL MASINO
BIOQUIMICA - M.N. 9483
DT - TECNOLAB S.A.



OPCIÓN 1
Incubar en el laboratorio

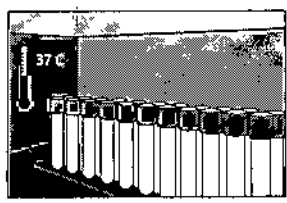
ENVÍO/INCUBACIÓN ④

Envíe los tubos al laboratorio a una temperatura comprendida entre 17 y 27 °C. La sangre debe incubarse 37 °C lo antes posible (y durante las 16 horas posteriores a la extracción de la sangre).

El personal del laboratorio debe volver a mezclar los tubos invirtiéndolos 10 veces inmediatamente antes de incubarlos a 37 °C.

Consejo técnico

Coloque etiquetas de "No incubado" en los tubos.



OPCIÓN 2
Incubar en el centro de recogida

ENVÍO/INCUBACIÓN ⑤

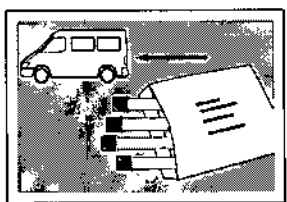
La sangre debe incubarse en posición vertical lo antes posible (y durante las 16 horas posteriores a la extracción de la sangre). Coloque los tubos **en posición vertical** durante 16-24 horas para incubarlos a 37 °C.

QIAGEN dispone de incubadores.

Consejo técnico

No se necesita humedad/CO₂.

Si los tubos no se incuban a 37 °C justo después de la obtención, **vuelva a mezclar los tubos invirtiéndolos 10 veces inmediatamente antes de la incubación.**



OPCIÓN 2 (continuación)

ENVÍO/INCUBACIÓN ⑥

Envíe los tubos **incubados** al laboratorio de pruebas (en el plazo de 3 días).

Mantenga los tubos a una temperatura comprendida entre 4 y 27 °C.

Consejo técnico

Coloque etiquetas de "Incubado" en los tubos.



CENTRIFUGADO ⑦

Centrifugue los tubos antes de realizar el muestreo.

Centrifúgelos a 2.000-3.000 g durante 15 minutos.

El plasma de los tubos centrifugados se mantiene estable durante 28 días si se almacena a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C.



www.QuantiFERON.com



Para obtener información actualizada sobre licencias y exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el prospecto de QuantiFERON-TB Gold Plus ELISA.

www.QuantiFERON.com

MARISOL MASINO
BIOQUIMICA - M.N. 9483
DT - TECNOLAB S.A.

4612



INFORMACIÓN DE CONTACTO

QIAGEN

Asia-Pacific: techservice-ap@qiagen.com

Europe: techserviceQFT-eu@qiagen.com

Middle East/Africa: techserviceQFT-eu@qiagen.com

Latin America (not including Brazil or Mexico):

techservice-latam@qiagen.com

Mexico: techservice-MX@qiagen.com

Brazil: techsebr@qiagen.com

Marcas comerciales: QIAGEN®, QFT®, QuantiFERON® (Grupo QIAGEN).


© 2015 QIAGEN, reservados todos los derechos.



QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1
40724 Hilden
Alemania
+49-2103-29-0



www.QuantiFERON.com

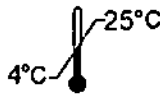

MARISOL MASINO
BIOQUIMICA - M.N. 9483
DT - TECNOLAB S.A.

M

H

4612

QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT®-Plus)



IVD

CE



Tubos de recogida de sangre

Tubos de recogida de sangre		200 tubos
N.º de referencia		622526
QuantiFERON Nil Tube (tapón gris y anillo blanco)	Nil	50 tubos
QuantiFERON TB1 Tube (tapón verde y anillo blanco)	TB1	50 tubos
QuantiFERON TB2 Tube (tapón amarillo y anillo blanco)	TB2	50 tubos
QuantiFERON Mitogen Tube (tapón morado y anillo blanco)	Mitogen	50 tubos
Prospecto de los tubos de recogida de sangre para QFT-Plus		1

Nota importante: el volumen de recogida de sangre de un tubo se ve afectado por la altitud. Los tubos de recogida de sangre para QFT-Plus deben utilizarse entre el nivel del mar y los 810 m. Si se utilizan tubos de recogida de sangre para QFT-Plus fuera de estos márgenes de altitud, o si se obtiene un volumen bajo, la sangre se puede recoger utilizando los métodos alternativos que se describen a continuación. Los tubos de recogida de sangre suministrados son para uso exclusivo con el ensayo QFT-Plus, y las siguientes instrucciones están relacionadas únicamente con el uso de los tubos de recogida de sangre para QFT-Plus.

Los antígenos se secan y adhieren a la pared interior del tubo de recogida de sangre, por lo que es imprescindible mezclar cuidadosamente el contenido de los tubos con la sangre. Los tubos deben colocarse en el incubador a 37 °C lo antes posible y siempre durante las 16 horas siguientes a la recogida de la sangre. Siga los procedimientos que se describen a continuación para obtener resultados óptimos.

Recogida de sangre:

1. Coloque las etiquetas correspondientes en los tubos.

Asegúrese de que cada tubo (Nil, TB1, TB2 y Mitogen) se pueda identificar por su etiqueta o por otros medios cuando se retire el tapón.

2. Extraiga 1 ml de sangre de cada paciente mediante venopunción directamente en uno de los tubos de recogida de sangre para QFT-Plus. Esta operación debería ser tarea exclusiva de un flebotomista cualificado.

Nota importante: los tubos se deben encontrar a una temperatura comprendida entre 17 y 25 °C en el momento de llenarlos de sangre.

Como los tubos de 1 ml absorben la sangre relativamente despacio, mantenga el tubo adherido a la aguja durante 2 ó 3 segundos cuando parezca que está lleno del todo. Esto le permitirá asegurarse de haber extraído el volumen correcto. La marca negra del lateral de los tubos indica el rango validado de 0,8 a 1,2 ml. Si la sangre de uno de los tubos se encuentra fuera del rango de la marca indicadora, deberá obtenerse una muestra de sangre nueva. Si utiliza una aguja con aletas para extraer la sangre, utilice un tubo de purga para asegurarse de que el conducto está lleno de sangre antes de transferirlo a los tubos para QFT-Plus. Si los tubos de recogida de sangre para QFT-Plus se utilizan a una altura superior a los 810 metros o si se obtiene un volumen bajo, los usuarios puede recoger la sangre con una jeringa y transferir inmediatamente 1 ml a cada uno de los 4 tubos para QFT-Plus. Por motivos de seguridad, la mejor forma de realizar este proceso es quitar la aguja de la jeringa tomando para las precauciones oportunas, quitar los tapones de los 4 tubos para QFT-Plus y añadir 1 ml de sangre a cada uno de los tubos (hasta llegar al centro de la marca negra situada en el lateral de la etiqueta del tubo). ▶

M



tecnolab s.a.
 estomba 964 c1427cov
 capital federal - argentina
 tel. 54 11 4555 0010
 54 11 4859 5300
 fax 54 11 4553 3331
 info@tecnolab.com.ar
 www.tecnolab.com.ar
 ISO 9001 2008 certificada

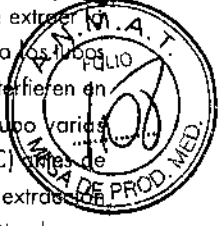


www.QuantiFERON.com

MARISOL MASINO
 BIOQUIMICA M.N. 9483
 DT - TECNOLAB S.A.

U

4612



Vuelva a colocar bien los tapones y mezcle como se describe a continuación. También existe la posibilidad de extraer la sangre en un tubo de recogida de sangre genérico con heparina de litio como anticoagulante y transferirla luego a los tubos para QFT-Plus. **Utilice solo heparina de litio** como anticoagulante sanguíneo, ya que los demás anticoagulantes interfieren en el ensayo. Llene un tubo de recogida de sangre (volumen mínimo 5 ml) y mezcle cuidadosamente invirtiendo el tubo varias veces para disolver la heparina de litio. La sangre se debe mantener a temperatura ambiente (entre 22 °C ± 5 °C) antes de transferirla a los tubos para QFT-Plus para su incubación, que debe iniciarse durante las 16 horas siguientes a la extracción de la sangre. Si la sangre se extrae en un tubo con heparina de litio, mezcle las muestras uniformemente invirtiendo con cuidado los tubos antes de transferirlas a los tubos para QFT-Plus. Lleve a cabo la dispensación de forma aséptica (garantice la aplicación de los procedimientos de seguridad oportunos) quitando los tapones de los 4 tubos para QFT-Plus y añadiendo 1 ml de sangre a cada uno (hasta llegar al centro de la marca negra situada en el lateral de la etiqueta del tubo). Vuelva a colocar los tapones y mezcle tal como se describe a continuación.

3. **Inmediatamente después de llenar los tubos, agítelos diez (10) veces aplicando únicamente la fuerza necesaria para que toda la superficie interna del tubo se cubra de sangre a fin de solubilizar el antígeno en las paredes del mismo.**

Nota importante: los tubos se deben encontrar a una temperatura comprendida entre 17 y 25 °C en el momento de agitarlos. Si agita el tubo con demasiada fuerza, puede "romper" el gel, lo que alteraría los resultados.

4. **Tras el etiquetado, el llenado y la agitación, coloque los tubos en el incubador a 37 °C ± 1 °C lo antes posible, y siempre durante las 16 horas siguientes a la obtención de la sangre. Antes de la incubación, mantenga los tubos a temperatura ambiente (22 °C ± 5 °C).**

Incubación de los tubos y obtención de plasma:

1. Si la sangre no se coloca en el incubador inmediatamente después de su obtención, vuelva a mezclar los tubos invirtiéndolos 10 veces inmediatamente antes de la incubación.

2. Incube los tubos EN POSICIÓN VERTICAL a 37 °C ± 1 °C por un periodo comprendido entre 16 y 24 horas. El incubador no requiere CO₂ ni humidificación.

3. Una vez finalizada la incubación, los tubos de recogida de sangre pueden conservarse entre 4 y 27 °C durante 3 días antes de centrifugarlos.

4. Tras la incubación, centrifugue los tubos durante 15 minutos a una velocidad comprendida entre 2.000 y 3.000 RCF (g). El tapón de gelatina separa las células del plasma. Si esto no ocurre, vuelva a centrifugar los tubos.

Es posible recoger el plasma sin centrifugar, aunque en tal caso, habrá que poner especial cuidado para retirar el plasma sin alterar las células.

5. **Las muestras de plasma solo se deben extraer con ayuda de una pipeta.**

Nota importante: después del centrifugado, no pipetee arriba y abajo ni mezcle el plasma de ninguna forma antes de extraer la muestra. 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 ELISA para QFT-Plus, incluso si se utilizan equipos ELISA automatizados. Las muestras de plasma pueden almacenarse durante 28 días a una temperatura entre 2 y 8 °C o, después de la extracción del plasma, por debajo de -20 °C durante periodos más largos. Se necesita un volumen mínimo de 150 µl de plasma para garantizar la idoneidad de las muestras.

Marcas comerciales: QIAGEN®, QFT®, QuantiFERON® (Grupo QIAGEN).

Para obtener licencias actualizadas y exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el prospecto de QuantiFERON-TB Gold Plus ELISA 1085208ES Rev 02 03/2015 ©2015, QIAGEN. Reservados todos los derechos.



QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1
40724 Hilden, ALEMANIA
Número de teléfono: +49-2103-29-0



www.QuantiFERON.com

Visite la página www.qiagen.com para obtener la información de contacto del servicio técnico.



Antigena licensed from Statens Serum Institut
ssl.dk | serum@ssl.dk



www.QuantiFERON.com



MARISOL MASINO
BIOQUIMICA - M. N. 9483
DT - TECNOLAB S.A.