

VIDAS[®] TB-IGRA (TBRA)**USO PREVISTO**

El ensayo VIDAS[®] TB-IGRA (TBRA) está destinado como ayuda en el diagnóstico de personas infectadas con *Mycobacterium tuberculosis* (infección latente o enfermedad activa).

Con sangre total heparinizada humana, se realiza una estimulación *in vitro* automatizada con antígenos péptidos asociados a *M. tuberculosis* en el instrumento VIDAS[®] 3. Cuando se estimula de esta manera, los linfocitos T específicos de *M. tuberculosis* pueden producir IFN- γ (interferón gamma). Aunque el ensayo VIDAS[®] TB-IGRA detecta cuantitativamente el IFN- γ , la interpretación del resultado para un solo paciente es estrictamente cualitativa.

El ensayo VIDAS[®] TB-IGRA (TBRA) es una prueba indirecta para la infección por *M. tuberculosis* (incluida la enfermedad) y está destinado a su uso en conjunto con la evaluación del riesgo, la radiografía y otras evaluaciones médicas y de diagnóstico.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Se estima que un cuarto de la población mundial está infectada por *Mycobacterium tuberculosis*.¹

Cuando se produce una infección inicial con *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), normalmente se produce un estado de latencia, conocido como infección por tuberculosis latente (ITBL).² En algunos pacientes, la ITBL puede pasar a una enfermedad activa (TB), y en este último estado la TB puede ser muy infecciosa y conllevar morbilidad y mortalidad.²

El único método disponible para el diagnóstico de la infección por TB fue, durante más de 100 años, la prueba cutánea de tuberculina (PCT). Esto implica la inyección intradérmica de antígenos del Mtb y la observación posterior (a 48-72 horas) de la inducción de la induración cutánea, como resultado de una respuesta de hipersensibilidad de tipo retardado a los antígenos.³ No obstante, la PCT no alcanza la especificidad deseable para la detección de infecciones por Mtb debido a una solución de estimulación que contiene antígenos presentes también en otras micobacterias (por ejemplo, son reacciones cruzadas), lo que produce resultados falsos positivos en individuos con la vacuna del bacilo de Calmette Guérin (BCG) o micobacterias no tuberculosas.⁴

Los ensayos de liberación de interferón-gamma (IGRA) se han desarrollado como un método alternativo de inmunodiagnóstico a la PCT con el fin de detectar una infección por *M. tuberculosis*. La presencia de linfocitos T periféricos específicos del Mtb puede utilizarse ventajosamente para el análisis indirecto de una infección previa de Mtb con una muestra de sangre simple. Después de la incubación con un cóctel de péptidos sintéticos de Mtb, los linfocitos T específicos de Mtb pueden reconocer estos antígenos y reaccionar como si estuvieran en presencia de organismos Mtb reales, sobre todo mediante la producción de IFN- γ , un controlador clave en las defensas inmunitarias celulares específicas de Mtb.^{5,6}

Por lo tanto, la detección de la producción de IFN- γ después del paso de estimulación puede proporcionar información útil sobre la posible presencia de defensas inmunitarias específicas por Mtb a causa del contacto previo con Mtb.

Las pruebas de liberación de interferón-gamma dan un resultado positivo tanto con formas latentes como activas de infección. La forma de infección en la enfermedad activa es identificable con información clínica adicional, como son los datos históricos, físicos, radiológicos y bacteriológicos. Los grupos con riesgo de contraer una infección de TB latente están bien definidos: personas con un riesgo elevado de sufrir una ITBL sin un riesgo mayor de avanzar a una TB activa, personas con un riesgo mayor de avanzar a una TB activa. Los ensayos de IFN- γ se pueden utilizar como herramienta para el cribado de dichas poblaciones.⁷

Debe tenerse en cuenta que los tratamientos médicos o afecciones que impidan las respuestas del sistema inmunitario pueden afectar a los resultados de la prueba.⁸

PRINCIPIO**ATENCIÓN:**

El ensayo VIDAS[®] TB-IGRA es un ensayo totalmente automatizado que utiliza **sangre total**. La preparación de las muestras y las instrucciones de uso varían con respecto a los ensayos VIDAS[®] habituales. Preste especial atención a lo siguiente:

- Secciones de la ficha técnica: **Muestras**, Tipos de tubos validados, Transporte de muestras, Estabilidad de la muestra.

- **Orden específico** para abrir y cerrar los viales de reactivos de estimulación: **NIL (Control negativo), a continuación, AG (Antígeno) y, a continuación, MIT (Mitógeno = Control positivo)**. Abra el primer vial, añada agua, cierre el vial y pase al siguiente vial en el orden indicado previamente.



- **Utilizar agua destilada no contaminada o agua destilada estéril, agua desionizada o agua desionizada estéril** para evitar cualquier riesgo de contaminación, ya que el agua contaminada puede afectar a los resultados de la prueba.
- Para **cada prueba de muestra de paciente** se necesitan **tres cartuchos de reactivos**.

Etapas de estimulación:

Distribución de reactivos de sangre y estimulación: la muestra del paciente y los reactivos de estimulación NIL (Control negativo), AG (Antígeno) y MIT (Mitógeno = Control positivo) se dispensan mediante la unidad de pipeteado automático del instrumento VIDAS® 3 en tres cartuchos diferentes.

Incubación: una vez realizada la dispensación, a continuación se realiza una incubación de 16 horas a +37 °C en el VIDAS® 3. Una vez terminada la incubación, se utiliza la muestra estimulada (sobrenadante) en la parte ELFA (ensayo fluorescente ligado a enzimas) del ensayo TB-IGRA.

Pasos del ensayo:

El principio de la determinación combina un método inmunoenzimático de tipo sándwich en dos etapas con una detección final por fluorescencia (ELFA).

El SPR (Solid Phase Receptacle, o recipiente de fase sólida) sirve a la vez de fase sólida y de dispositivo de pipeteo. Los reactivos del test están listos para ser utilizados y previamente distribuidos en los cartuchos de reactivos de un solo uso sellados. El instrumento realiza automáticamente todos los pasos del test.

Se obtiene la muestra estimulada y, a continuación, se diluye en un diluyente adecuado. La mezcla se somete a varios ciclos de aspiración/expulsión en el cono SPR. Esta operación permite que el IFN- γ se fije a los anticuerpos de captura fijados en la pared interior del cono SPR.

El conjugado se aspira y expulsa del cono SPR varias veces. Esta operación permite que el conjugado se una a los complejos inmunológicos que están fijados en la pared interior del cono SPR y formen un sándwich. Los componentes no fijados se eliminan durante las etapas de lavado.

Durante la etapa final de detección, el sustrato (4-Metil-umbeliferil-fosfato) se aspira y se expulsa a través del cono SPR. La enzima del conjugado cataliza la reacción de hidrólisis de este sustrato en un producto fluorescente (4-metil-umbeliferona) cuya fluorescencia se mide a 450 nm. La intensidad de la fluorescencia es proporcional a la concentración de IFN- γ en la muestra estimulada.

Al finalizar el test, el instrumento calcula automáticamente los resultados de acuerdo con la curva de calibración memorizada.

CONTENIDO DEL KIT (60 PRUEBAS)*- RECONSTITUCIÓN DE LOS REACTIVOS

***Precaución:** Una prueba de paciente requiere tres cartuchos y tres conos SPR.

60 cartuchos ^(a) (TBRA)	STR	Listo al empleo.
60 dispositivos SPR (TBRA) 2 x 30	SPR	Listo al empleo. El interior del cono SPR está recubierto de anticuerpos anti-IFN- γ .

<p>Calibrador S1^(b) (TBRA) 1 x 2 g antes de la reconstitución (liofilizado)</p>	S1	<p>Reconstituir con 2 mL de agua destilada, destilada estéril, desionizada o desionizada estéril. Añadir agua de manera lenta y progresiva, puesto que este reactivo liofilizado es volátil.</p> <p>Dejar durante 5 a 10 minutos a +18 °C/+25 °C. Mezclar invirtiendo la mezcla varias veces y, después, mediante un agitador tipo vórtex hasta que quede totalmente disuelta. Utilizar un mezclador tipo vórtex a baja velocidad para limitar la formación de espuma.</p> <p>Tras la reconstitución, el calibrador permanece estable durante 3 meses a +2 °C/+8 °C, o hasta la fecha de caducidad del kit cuando se conserva a -31 °C/-19 °C.</p> <p>Se pueden realizar tres ciclos de congelación/descongelación. Después de descongelar, homogeneizar el calibrador con un agitador tipo vórtex antes de utilizarlo en el instrumento.</p> <p>Tampón que contiene IFN-γ recombinante + estabilizador de origen animal + conservante.</p> <p>Los datos de MLE (Introducción de lote patrón) indican la concentración del calibrador en UI/mL (“Calibrator (S1) Dose Value”) y el intervalo aceptable en el “Relative Fluorescence Value” (Calibrator (S1) RFV Range).</p>
<p>C1 Control positivo^(b) (TBRA) 1 x 2 g antes de la reconstitución (liofilizado)</p>	C1	<p>Reconstituir con 2 mL de agua destilada, destilada estéril, desionizada o desionizada estéril. Añadir agua de manera lenta y progresiva, puesto que este reactivo liofilizado es volátil.</p> <p>Dejar durante 5 a 10 minutos a +18 °C/+25 °C. Mezclar invirtiendo la mezcla varias veces y, después, mediante un agitador tipo vórtex hasta que quede totalmente disuelta. Utilizar un mezclador tipo vórtex a baja velocidad para limitar la formación de espuma.</p> <p>Tras la reconstitución, el control permanece estable durante 3 meses a +2 °C/+8 °C, o hasta la fecha de caducidad indicada en el kit a -31 °C/-19 °C.</p> <p>Se pueden realizar tres ciclos de congelación/descongelación. Después de descongelar, homogeneizar el control con un agitador tipo vórtex antes de utilizarlo en el instrumento.</p> <p>Tampón que contiene IFN-γ recombinante + estabilizador de origen animal + conservante.</p> <p>Los datos de MLE indican el intervalo aceptable en UI/mL (“Control C1 (+) Dose Value Range”, intervalo de valores de dosis de control C1 (+)).</p>
<p>Reactivo de estimulación NIL (TBRA) Tapa blanca 2 x 3 g antes de la reconstitución (liofilizado) Nota: Sustancia volátil. Manipular con cuidado para asegurarse de que la reconstitución del reactivo es correcta.</p>	NIL	<p>Con una punta nueva o una pipeta de un solo uso, reconstituir con 5 mL de agua destilada, destilada estéril, desionizada o desionizada estéril. Añadir agua de manera lenta y progresiva, puesto que este reactivo liofilizado es volátil.</p> <p>Dejar durante 5 a 10 minutos a +18 °C/+25 °C. Mezclar invirtiendo la mezcla varias veces y, después, mediante un agitador tipo vórtex hasta que quede totalmente disuelta.</p> <p>Tras la reconstitución, el reactivo de estimulación permanece estable durante 3 meses a +2 °C/+8 °C, o hasta la fecha de caducidad del kit cuando se almacena a -31 °C/-19 °C.</p> <p>Es posible efectuar nueve ciclos de congelación/descongelación. Después de descongelar, homogeneizar el reactivo de estimulación con un agitador tipo vórtex antes de utilizarlo en el instrumento.</p> <p>Tampón que contiene proteínas recombinantes.</p> <p>Este reactivo de estimulación actúa como control negativo para la etapa de estimulación, lo que permite medir el nivel basal de IFN-γ en las muestras del paciente antes de la estimulación.</p>

<p>Reactivo de estimulación AG (TBRA)</p> <p>Tapa verde</p> <p>2 x 3 g antes de la reconstitución (liofilizado)</p> <p>Nota: Sustancia volátil. Manipular con cuidado para asegurarse de que la reconstitución del reactivo es correcta.</p>	AG	<p>Con una punta nueva o una pipeta de un solo uso, reconstituir con 5 mL de agua destilada, destilada estéril, desionizada o desionizada estéril. Añadir agua de manera lenta y progresiva, puesto que este reactivo liofilizado es volátil.</p> <p>Dejar durante 5 a 10 minutos a +18 °C/+25 °C. Mezclar invirtiendo la mezcla varias veces y, después, mediante un agitador tipo vórtex hasta que quede totalmente disuelta.</p> <p>Tras la reconstitución, el reactivo de estimulación permanece estable durante 3 meses a +2 °C/+8 °C, o hasta la fecha de caducidad del kit cuando se almacena a -31 °C/-19 °C.</p> <p>Es posible efectuar nueve ciclos de congelación/descongelación. Después de descongelar, homogeneizar el reactivo de estimulación con un agitador tipo vórtex antes de utilizarlo en el instrumento.</p> <p>Tampón que contiene proteínas recombinantes y péptidos.</p> <p>Reactivo de estimulación que contiene péptidos de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>. Los péptidos contenidos en este reactivo activan una estimulación de los linfocitos T, lo que demuestra la existencia de un contacto previo con <i>M. tuberculosis</i>.</p>
<p>Reactivo de estimulación MIT (TBRA)</p> <p>Tapa roja</p> <p>2 x 3 g antes de la reconstitución (liofilizado)</p> <p>Nota: Sustancia volátil. Manipular con cuidado para asegurarse de que la reconstitución del reactivo es correcta.</p>	MIT	<p>Con una punta nueva o una pipeta de un solo uso, reconstituir con 5 mL de agua destilada, destilada estéril, desionizada o desionizada estéril. Añadir agua de manera lenta y progresiva, puesto que este reactivo liofilizado es volátil.</p> <p>Dejar durante 5 a 10 minutos a +18 °C/+25 °C. Mezclar invirtiendo la mezcla varias veces y, después, mediante un agitador tipo vórtex hasta que quede totalmente disuelta.</p> <p>Tras la reconstitución, el reactivo de estimulación permanece estable durante 3 meses a +2 °C/+8 °C, o hasta la fecha de caducidad del kit cuando se almacena a -31 °C/-19 °C.</p> <p>Es posible efectuar nueve ciclos de congelación/descongelación. Después de descongelar, homogeneizar el reactivo de estimulación con un agitador tipo vórtex antes de utilizarlo en el instrumento.</p> <p>Tampón que contiene lectina extraída de plantas.</p> <p>El reactivo de estimulación actúa como control positivo para la etapa de estimulación. La molécula de lectina contenida en este reactivo activa una estimulación no específica de los linfocitos T. La detección del IFN-γ valida la prueba del paciente.</p>
Especificaciones de los datos de calibración de fábrica necesarios para la calibración del test: Código de barras MLE impreso en la etiqueta del envase.		
Ficha técnica disponible para descargar en www.biomerieux.com/techlib		



(a) **PELIGRO**
P351 + P338

ATENCIÓN



EUH208 / H317 / H318 / H319 / P261 / P280 / P302 + P352 / P305 +



(b) **ATENCIÓN**

EUH208 / H317 / P261 / P280 / P302 + P352

Indicaciones de peligro

- EUH208: Contiene 2-metil-2H-isotiazolin-3-ona. Puede provocar una reacción alérgica.
- H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
- H318: Provoca lesiones oculares graves.
- H319: Provoca irritación ocular grave.

Indicaciones de precaución

- P261: Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.
- P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.
- P302 + P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.
- P305 + P351 + P338: 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.

Para obtener más información, consulte la ficha de datos de seguridad.

El cono SPR

El interior del cono SPR está recubierto de anticuerpos anti-IFN- γ . Cada cono SPR está identificado con el código "TBRA". Extraiga únicamente el número necesario de conos SPR de la bolsita y séllela de nuevo con cuidado después de abrirla.

El cartucho de reactivos

El cartucho está compuesto por 10 pocillos recubiertos de una hoja de aluminio sellada y etiquetada. En la etiqueta hay un código de barras que indica principalmente el código de la prueba, el número de lote y la fecha de caducidad de la caja.

El calibrador y el control se pueden introducir manual o automáticamente en el primer pocillo del cartucho. La muestra del paciente se transfiere y se incuba automáticamente con los reactivos de estimulación en el tercer pocillo del cartucho de reactivos.

El último pocillo de cada cartucho es una cubeta en la cual se realiza la lectura fluorométrica. Los pocillos de la sección central del cartucho contienen varios reactivos necesarios para el test.

Descripción del cartucho TBRA

El cartucho contiene dietanolamina y acida sódica. Consulte las indicaciones de peligro "H" y las indicaciones de precaución "P" arriba indicadas.^(a)

Pocillos	Reactivos
1	Pocillo de muestra solo para el protocolo de calibración .
2-3-4	Pocillos vacíos (recubiertos de una hoja de aluminio).
5	Diluyente de la muestra: tampón + estabilizador proteínico de origen animal + conservante + IgG de ratón.
6	Conjugado: tampón que contiene anticuerpos anti-IFN- γ + estabilizador de origen animal + conservante.
7-8-9	Tampones de lavado: tampón + conservante.
10	Cubeta de lectura con sustrato: 4-metilumbeliferil fosfato (0,6 mmol/L) + conservante.

MATERIALES Y PRODUCTOS DESECHABLES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

- Pipetas y/o micropipetas de un solo uso para dispensar los volúmenes adecuados.
- Equipo general de laboratorio.
- Agua destilada no contaminada o agua destilada estéril o agua desionizada o agua desionizada estéril.
- Guantes desechables sin talco.
- Tubos de plástico de 4 mL de recogida de sangre al vacío con heparina de litio (13 mm x 75 mm).
- Instrumento de la familia VIDAS®: VIDAS® 3, con la versión 1.4 mínima o superior del software.
- Para obtener más información sobre otros materiales y productos desechables específicos, consultar el Manual de usuario del instrumento.

PRECAUCIONES DE UTILIZACIÓN

- **Únicamente para diagnóstico *in vitro*.**
- **Exclusivamente para uso profesional por parte de personal de laboratorio cualificado en laboratorios clínicos.**
- Este kit no contiene productos de origen humano.
- Este equipo contiene compuestos de origen animal. El origen y/o el estado sanitario de los animales no pueden garantizar de forma absoluta que estos productos no contienen ningún agente patógeno transmisible; se recomienda manipularlos con las precauciones de uso relativas a los productos potencialmente infecciosos (no ingerir; no inhalar).
- Utilizar agua destilada no contaminada o agua destilada estéril, agua desionizada o agua desionizada estéril para evitar cualquier riesgo de contaminación, ya que el agua contaminada puede afectar a los resultados de la prueba.

- No utilice los conos SPR si la bolsita está perforada o si la pegatina de sellado de un cono SPR se ha despegado.
- No utilice cartuchos visiblemente deteriorados (hoja de aluminio o plástico dañados). En caso de fallo del sistema durante una serie y si el sistema permite la reutilización de cartuchos y conos SPR, los cartuchos solamente perforados en el pocillo 3 todavía se pueden usar con los conos SPR asociados, sin tener que reemplazarlos.

Consulte la tabla siguiente para conocer las condiciones de reutilización:

	Período de utilización para la reutilización de cartuchos y conos SPR perforados después de un error del sistema
Si se utilizan reactivos para la calibración/control de calidad interno	Conservados a +2 °C/+8 °C hasta la caducidad del kit
Si se utilizan reactivos para una prueba de paciente	Almacenados a +2 °C/+8 °C durante un máximo de 24 horas

- No utilizar los reactivos después de su fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- No mezclar reactivos (o productos desechables) de lotes diferentes.
- No mezclar los viales de reactivo de estimulación.
- No utilizar cubetas de alícuota para cargar reactivos de estimulación en el instrumento VIDAS® 3.
- Los reactivos del ensayo VIDAS® TB-IGRA son solamente para utilizarlos con el instrumento VIDAS® 3.
- Usar guantes sin talco, ya que se ha documentado que el talco provoca falsos resultados para determinadas pruebas inmunoenzimáticas.
- Los reactivos del kit contienen un conservante (azida sódica) susceptible de reaccionar con las tuberías de plomo o de cobre, formando nitruros metálicos explosivos. Si se tira por el desagüe algún líquido que contiene nitruro sódico, las tuberías deben lavarse con agua para evitar su acumulación.
- Consulte las indicaciones de peligro "H" y las indicaciones de precaución "P" arriba indicadas.
- Los derrames que se produzcan deben limpiarse cuidadosamente después del tratamiento con detergente líquido o una solución de lejía doméstica que contenga como mínimo un 0,5% de hipoclorito sódico. Consultar el Manual de usuario para limpiar los derrames producidos sobre o en el interior del instrumento. No someter a autoclave soluciones que contengan lejía.
- Deben realizarse tareas de limpieza y descontaminación en el instrumento con regularidad (consulte el Manual de usuario para conocer las operaciones de mantenimiento preventivo y por parte del usuario).

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

- **Guarde el kit a +2 °C/+8 °C. Almacene todos los reactivos no utilizados a +2 °C/+8 °C.**
- Solo pueden congelarse los calibradores, controles y reactivos de estimulación **después de su reconstitución.**
- Tras abrir el kit, comprobar que las bolsas de los conos SPR estén cerradas correctamente e intactas. De lo contrario, no utilice los conos SPR.
- **Después del uso, vuelva a sellar con cuidado la bolsita con el desecante en el interior para mantener la estabilidad de los conos SPR y conserve todo el kit a +2 °C/+8 °C.**
- Todos los componentes son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase si se conservan en las condiciones recomendadas. Consulte la tabla de composición del kit para ver las condiciones especiales de conservación.

MUESTRAS

Tipos de tubos validados

- Tubos de plástico de recogida de sangre de vacío con heparina de litio de 4 mL (13 mm x 75 mm) solamente.

Nota:

- No utilizar una jeringa para la extracción de sangre.
- No utilizar tubos con gel separador o microesferas para el análisis de sangre total.
- No utilizar un tubo de alícuota para el análisis de sangre total.
- Los tubos de muestreo de sangre pueden variar de un fabricante a otro en función de los materiales y aditivos utilizados. Es responsabilidad de cada laboratorio validar el tubo de muestra utilizado y seguir las recomendaciones de uso del fabricante.

Tipo de muestra y recogida

4 mL de sangre total humana en tubo de heparina de litio.

Transporte de muestras

Se recomienda transportar los tubos de muestras de sangre **de pie, en posición vertical** para evitar cualquier riesgo de error del sistema. Los tubos de muestras de sangre deben transportarse a una temperatura conforme con los flujos de trabajo que se detallan a continuación.

Preparación y estabilidad de las muestras

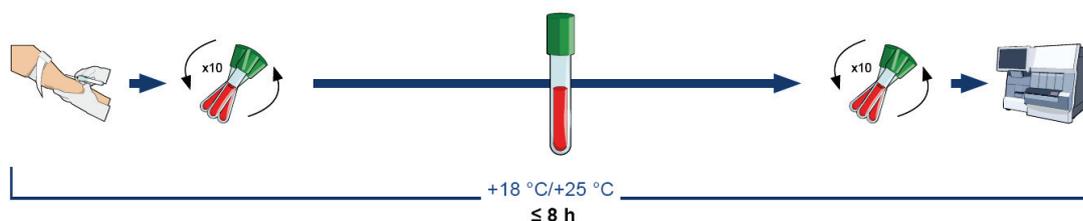
El documento WHO/DIL/LAB/99.1 actual incluye recomendaciones para la preparación de las muestras.⁹

Seguir las recomendaciones de uso del fabricante del tubo antes de usar tubos de muestras.

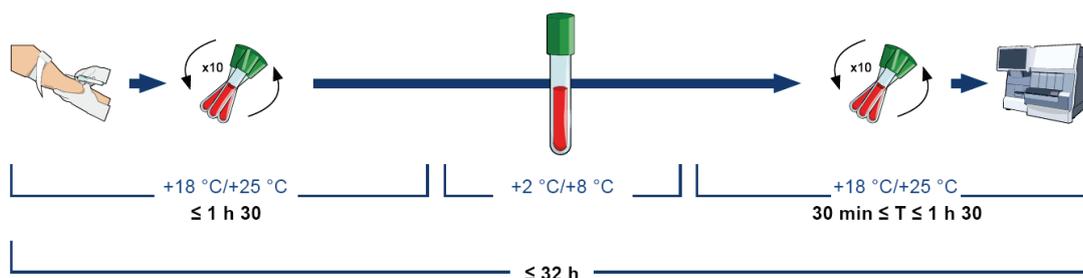
La etapa preanalítica, incluida la preparación de las muestras de sangre, es un paso esencial cuando se realizan análisis clínicos. De acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio, este paso se realiza bajo la responsabilidad del director del laboratorio.

Se recomienda almacenar los tubos de muestras de sangre **de pie, en posición vertical** para evitar cualquier riesgo de error del sistema.

Es posible utilizar dos flujos de trabajo cuando se realiza un ensayo VIDAS® TB-IGRA:



o bien



Nota: En el segundo flujo de trabajo, es posible almacenar la muestra a +2 °C/+8 °C directamente o mantener la muestra a +18 °C/+25 °C durante un máximo de 1 h 30 antes de almacenarla a +2 °C/+8 °C. Retire la muestra a +2 °C/+8 °C durante al menos 30 minutos antes de su uso en el instrumento.

Importante:

- No congelar las muestras.
- No centrifugar las muestras.
- No diluir las muestras.
- No mezclar las muestras con un agitador tipo vórtex.
- No incubar las muestras.

Interferencias relacionadas con la muestra

Es aconsejable no utilizar muestras hemolizadas, lipémicas o ictericas y, si es posible, extraer una nueva muestra.

Consultar los compuestos analizados en la sección **RESULTADOS - Estudio de interferencias farmacológicas y otras sustancias con capacidad interferente**.

INSTRUCCIONES DE USO

Consultar las instrucciones completas en el Manual de usuario del instrumento.

Lectura de los datos MLE

Cuando se abre un nuevo lote de reactivos

Antes de realizar la prueba, escanear los datos MLE de la etiqueta del envase con el lector de códigos de barras externo del instrumento.

Nota: Los datos de lote patrón de calibración solo deben introducirse una vez para cada lote.

Calibración

La calibración, que se realiza mediante el calibrador incluido en el kit, debe efectuarse cada vez que se abra un nuevo lote de reactivos, tras introducir los datos MLE y, después, cada **56 días**. Esta operación ofrece curvas de calibración específicas para cada instrumento y compensa las posibles variaciones menores en la señal de la prueba durante toda la vida útil del kit.

El calibrador, identificado como S1, se debe analizar por duplicado.

El valor del calibrador debe estar comprendido en los límites de RFV (Relative Fluorescence Value) fijados. En caso contrario: repetir una calibración.

Control del kit

Este kit contiene un control. El control del kit debe utilizarse inmediatamente después de abrir un kit nuevo para asegurarse de que el rendimiento del reactivo no se ha visto alterado. El control, identificado como C1, se debe analizar una sola vez.

También es necesario comprobar cada calibración mediante el uso de este control.

Para que el instrumento pueda verificar el valor del control, debe identificarse como C1. No se podrán validar los resultados si el valor del control se desvía de los valores previstos.

Nota: Cualquier otro uso del control del kit queda bajo la responsabilidad del cliente.

Procedimiento

Inicio de una calibración o un control C1:

1. **Extraer del refrigerador el kit conservado a +2 °C/+8 °C y sacar los reactivos necesarios. Después de cada utilización, vuelva a sellar correctamente la bolsa y vuelva a guardar el kit completo a 2-8 °C.** Los reactivos pueden usarse inmediatamente.
2. Colocar en el instrumento los conos SPR "TBRA" y los cartuchos "TBRA". Asegúrese de que las etiquetas de color con el código de la prueba que se incluyen en los dispositivos SPR y los cartuchos coinciden.
3. El calibrador, identificado obligatoriamente como "S1", se debe analizar por duplicado. El control identificado como "C1" se debe analizar en simple.
4. Mezcle el estándar y el control con un agitador tipo vórtex. Abrir los viales suavemente para evitar que se vuelquen.
5. Asegurarse de que el calibrador y el control no presentan burbujas.
6. **Para esta prueba, el volumen necesario de la prueba de calibrador y control es de 150 µL.**
7. Iniciar el test como se indica en el Manual de usuario. La duración de la prueba es de **aproximadamente 43 minutos** para el calibrador y el control.
8. Cierre los viales y colóquelos a la temperatura adecuada tras pipetear.
9. Después de completar la prueba, retire los SPR y los cartuchos del instrumento.
10. Deseche los SPR y los cartuchos usados en un recipiente adecuado.

Inicio de un análisis de muestras:

Para obtener unos resultados óptimos, consulte todos los párrafos de la sección **MUESTRAS**. El instrumento realiza automáticamente todos los pasos del análisis de muestras.

Si el tubo de muestra del paciente se conserva a +18 °C/+25 °C, la prueba puede iniciarse inmediatamente. Si el tubo de muestra del paciente se almacenó a +2 °C/+8 °C, equilibrar a +18 °C/+25 °C entre 30 minutos y 1 h 30 antes de su uso.

1. **Extraer del refrigerador el kit conservado a +2 °C/+8 °C y sacar los reactivos necesarios. Después de cada utilización, vuelva a sellar correctamente la bolsa y vuelva a guardar el kit completo a 2-8 °C.** Los reactivos pueden usarse inmediatamente.
2. Colocar en el instrumento los conos SPR "TBRA" y los cartuchos "TBRA". Asegúrese de que las etiquetas de color con el código de la prueba que se incluyen en los dispositivos SPR y los cartuchos coinciden.
3. Mezclar los reactivos de estimulación (NIL, AG, MIT) con un mezclador tipo vórtex.
4. Abrir los viales de reactivos de estimulación con cuidado para evitar que se vuelquen y **en el siguiente orden: NIL, luego AG, luego MIT. Los viales de reactivos de estimulación se deben abrir lejos de otros viales de reactivos de estimulación abiertos para evitar la contaminación.**
5. Asegurarse de que los reactivos de estimulación no presenten burbujas.
6. Cargar los reactivos de estimulación.
7. Mezclar suavemente las muestras de sangre mediante al menos 10 inversiones del tubo hasta que se homogeneicen. **No mezclar con un agitador tipo vórtex.**
8. Verificar la ausencia de películas, coágulos, burbujas y espuma en los tubos de muestras.

9. Cargar los tubos de muestra abiertos.

10. **El volumen necesario para esta prueba es 3 x 300 µL.**

11. Iniciar el test como se indica en el Manual de usuario. El instrumento lleva a cabo todas las etapas del test de forma automática.

12. **El reactivo de estimulación y la distribución de las muestras se completarán en aproximadamente 14 minutos por muestra de paciente.**

13. Una vez que el software ha autorizado la descarga, descargar y cerrar los viales de reactivos de estimulación (NIL → AG → MIT) y los tubos de muestras, y volver a ponerlos a la temperatura requerida. Nota: Consultar la sección Advertencias y precauciones para la reutilización de cartuchos y conos SPR perforados después del error del sistema.

14. **La duración de la prueba es de aproximadamente 17 horas para la muestra del paciente. No abrir la sección mientras dure la prueba.**

15. Después de completar la prueba, retire los SPR y los cartuchos del instrumento.

16. Deseche los SPR y los cartuchos usados en un recipiente adecuado.

CONTROL DE CALIDAD

Es posible realizar controles de calidad adicionales conforme a las normas locales o los requisitos de acreditación, así como conforme a los requisitos definidos en el procedimiento de control de calidad del laboratorio.

Nota: Es responsabilidad del usuario realizar el control de calidad conforme a las normativas locales pertinentes.

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

Una vez finalizado el test, el ordenador analiza automáticamente los resultados. La fluorescencia se mide dos veces por cada muestra analizada en la cubeta de lectura del cartucho de reactivos. La primera lectura es una lectura de fondo de la cubeta con sustrato antes de la introducción del dispositivo SPR en el sustrato.

La segunda lectura se efectúa tras la incubación del sustrato con la enzima que puede estar unida al interior del dispositivo SPR. El RFV (Relative Fluorescence Value; es decir, valor de fluorescencia relativo) se calcula restando la fluorescencia inicial del resultado final.

Al final de la prueba, los resultados de la señal se guardan en el software.

Trazabilidad metrológica

El ensayo VIDAS® TB-IGRA se ha calibrado respecto al Estándar Internacional de la OMS para el Interferón gamma humano recombinante (rHuIFN-γ) N.º Gxg01-902-535.

El instrumento muestra los resultados del ensayo VIDAS® TB-IGRA en un rango de 0,00 a 8,00 UI/mL.

El sistema VIDAS® 3 interpreta los resultados de los pacientes de la siguiente manera:

- El RFV de una prueba (NIL, AG y MIT) se coloca matemáticamente en una curva de calibración.
- Las concentraciones de NIL, AG-NIL y MIT-NIL en UI/mL y la interpretación clínica final aparecen indicadas en la hoja de resultados.

Valores umbral e interpretación de los resultados

La interpretación de los resultados según el valor de la prueba se hace del modo indicado a continuación:

NIL (UI/mL) ⁽¹⁾	AG-NIL (UI/mL) ⁽¹⁾	MIT-NIL (UI/mL) ⁽¹⁾	Interpretación	Significación clínica
< 6,40	≥ 0,35 y ≥ 25 % NIL	Cualquiera	Positivo	Infección por <i>M. tuberculosis</i> probable
	< 0,35 o bien ≥ 0,35 y < 25 % NIL	≥ 1,1	Negativo	Infección por <i>M. tuberculosis</i> NO probable
		< 1,1	SIN DETERMINAR MIT bajo ⁽²⁾	No se puede determinar la probabilidad de infección por <i>M. tuberculosis</i>
≥ 6,40	Cualquiera		SIN DETERMINAR NIL alto ⁽²⁾	No se puede determinar la probabilidad de infección por <i>M. tuberculosis</i>

⁽¹⁾ El software VIDAS® notifica los valores > 8,00 UI/mL como 8,00 UI/mL, sin que esto afecte a los resultados de las pruebas.

⁽²⁾ Consultar la tabla siguiente para obtener más información:

Interpretación	Explicaciones posibles	Soluciones/acciones
SIN DETERMINAR MIT bajo	Es posible que no se hayan implementado correctamente el almacenamiento y la manipulación de muestras de sangre.	Recoger una muestra nueva y analizar según las instrucciones.
	La respuesta inmunitaria del paciente puede no ser suficiente para generar un resultado con el ensayo VIDAS® TB-IGRA.	Es probable que una prueba nueva dé la misma interpretación.
SIN DETERMINAR NIL alto	La muestra de sangre puede haber sido contaminada.	Recoger una muestra nueva y analizar según las instrucciones.
	Los reactivos de estimulación pueden haberse contaminado durante la reconstitución o manipulación.	Desechar los viales y reconstituir viales nuevos según las instrucciones. Continuar con una prueba nueva utilizando una muestra nueva.
	La respuesta inmunitaria del paciente puede generar una respuesta elevada con interferón gamma.	Es probable que una prueba nueva dé la misma interpretación.

Estos resultados son poco comunes (ver la Tabla 12: Resultados indeterminados) y pueden estar relacionados con el estado inmunitario de la persona analizada o con un problema técnico (por ejemplo, muestra o manipulación o almacenamiento de reactivos inadecuados).

LÍMITES DE LA PRUEBA

- Pueden existir interferencias con determinadas muestras que contengan anticuerpos dirigidos contra los componentes del reactivo. Por este motivo, se deben interpretar los resultados del test teniendo en cuenta la historia clínica del paciente, así como los resultados de otras pruebas que se hayan realizado.
- Los resultados que no concuerden con la historia clínica del paciente pueden deberse a un mantenimiento inadecuado del instrumento (consulte el Manual de usuario del instrumento).
- Los resultados que no se correspondan con el historial clínico del paciente pueden deberse a una preparación o manipulación inadecuadas de las muestras (véase la sección Muestras) o a una manipulación inadecuada de los reactivos de estimulación (véase la sección Reconstitución de reactivos).
- Los resultados obtenidos de pacientes que presentan funciones inmunitarias dañadas o alteradas, como las descritas a continuación, deben interpretarse con precaución:
 - Muestras de sangre de pacientes que presentan infección por VIH o sida,
 - Muestras de sangre de pacientes que hayan recibido tratamiento con inmunosupresores para un trasplante, u otros que hayan recibido fármacos inmunosupresores (por ejemplo, corticoesteroides, metotrexato, azatioprina, quimioterapia oncológica),
 - Muestras de sangre de pacientes con otras afecciones clínicas, tales como diabetes, silicosis, insuficiencia renal crónica y trastornos hematológicos (por ejemplo, leucemia y linfomas),
 - Muestras de sangre de pacientes con otros tumores malignos específicos (por ejemplo, carcinoma de cabeza y cuello o cáncer de pulmón).

Además, no se han evaluado de forma extensa las características de rendimiento de la prueba en estas poblaciones.

- Las características de rendimiento de la prueba no se han evaluado de forma extensa en personas menores de 18 años (consulte el apartado Rendimiento clínico).
- Los resultados obtenidos con muestras de mujeres embarazadas y pacientes jóvenes (< 2 años de edad) deben interpretarse con precaución, ya que no se han evaluado las características de rendimiento de la prueba en estas poblaciones.
- Si el estado clínico es indeterminado “SIN DETERMINAR MIT bajo” o “SIN DETERMINAR NIL alto”, no pueden utilizarse los valores de los resultados de NIL, AG-NIL y MIT-NIL.
- Los antígenos presentes en el reactivo de estimulación AG se derivan de las proteínas de *M. tuberculosis* ESAT-6 (diana de antígeno de secreción precoz de 6-kDa) y de las CFP-10 (proteína de filtrado de cultivo-10) ausentes en las cepas del BCG y en la mayoría de las especies de NTM (micobacterias no tuberculosas). Sin embargo, *M. marinum*, *M. kansasii*, *M. szulgai*, *M. flavescens*, y, por tanto, *M. leprae* contienen homologas de ESAT-6 y CFP-10 y, en consecuencia, podrían dar resultados positivos con el ensayo VIDAS® TB-IGRA.¹⁰⁻¹³ No se han estudiado las infecciones por NTM en cuanto a la reactividad cruzada con el ensayo VIDAS® TB IGRA. No obstante, se analizaron siete pacientes infectados con *M. kansasii* (1), *M. avium* (3), *M. intracellulare* (2) o *M. chelonae* (1)

recopilando tres muestras por paciente. De las 21 muestras analizadas, solo una muestra de un paciente infectado con *M. intracellulare* dio un resultado positivo cerca del umbral. Todos los demás pacientes arrojaron resultados negativos con todas las muestras analizadas (20/21).

PRESTACIONES

Los estudios realizados con el ensayo VIDAS® TB-IGRA han arrojado los resultados siguientes.

Intervalo de medición analítica (IMA)

El intervalo de medición analítica (IMA) es el intervalo de valores correspondiente a los límites de rendimiento aceptables (precisión y linealidad).

El AMI del ensayo VIDAS® TB-IGRA es de 0,10 UI/mL a 8,00 UI/mL.

Linealidad

La linealidad se evaluó conforme a las recomendaciones del documento EP06-A del CLSI.

El ensayo VIDAS® TB-IGRA es lineal entre 0,10 UI/mL y 8,00 UI/mL.

Límites de detección

Límite de blanco (LoB)	0,06 UI/mL
Límite de detección (LoD)	0,08 UI/mL
Límite de cuantificación (LoQ)	0,10 UI/mL

Los valores de LoB, LoD y LoQ se determinaron conforme a las recomendaciones del documento EP17-A2 del CLSI.

El límite del blanco (LoB) es la concentración por debajo de la cual se encuentran el 95% de las muestras sin analitos.

El límite de detección (LoD) es la concentración de analito mínima de una muestra que puede distinguirse de la muestra sin analitos con una probabilidad del 95% (el resultado observado es mayor que el LoB con una probabilidad del 95%).

El límite de cuantificación (LoQ) es la concentración más baja de analito que se puede detectar y medir con un nivel aceptable de precisión. En el caso de la prueba VIDAS® TB-IGRA, el nivel aceptable de precisión se corresponde con una precisión intralote fijada en el 20 % del CV.

Efecto Hook

No se encontró efecto Hook hasta concentraciones de IFN- γ hasta 150 000 UI/mL.

Precisión analítica

Se realizó un estudio de precisión analítica de acuerdo con las recomendaciones del documento EP05-A3 del CLSI. Este estudio de precisión solo evaluó la precisión del ensayo IFN- γ en VIDAS® TB-IGRA.

Se analizó en el instrumento VIDAS® 3 una serie de muestras de plasma enriquecidas que representaban diferentes niveles de concentración de IFN- γ en el IMA para incluir las principales fuentes de variabilidad que se enumeran a continuación: repetibilidad, sesión, día, calibración, lote e instrumento.

Se calculó la repetibilidad (precisión intralote, intraanálisis, intrainstrumento) de cada muestra.

Se calculó la reproducibilidad (precisión interanálisis, interdías, intercalibraciones, interlotes, interinstrumentos) de cada muestra.

Los cálculos de precisión obtenidos con el instrumento VIDAS® 3 se muestran en la siguiente tabla como guía.

Muestra	N	Media (UI/mL)	Repetibilidad Precisión intraanálisis		Precisión interdías		Precisión interlotes		Precisión interinstrumentos	
			Desviación estándar	CV (%)	Desviación estándar	CV (%)	Desviación estándar	CV (%)	Desviación estándar	CV (%)
TBRA0001	144	0,15	0,01	6,0	0,01	6,9	0,02	10,4	0,02	10,4
TBRA0008	144	0,18	0,01	6,7	0,01	6,7	0,02	9,9	0,02	9,9
TBRA0002	144	0,26	0,02	6,0	0,02	6,2	0,02	8,4	0,02	8,4
TBRA0003	144	0,39	0,02	4,0	0,02	4,9	0,02	6,2	0,02	6,2
TBRA0004	144	0,91	0,03	3,5	0,04	3,9	0,05	5,0	0,05	5,0
TBRA0005	144	1,82	0,07	3,8	0,08	4,2	0,10	5,5	0,10	5,6
TBRA0006	142	3,38	0,14	4,0	0,17	5,1	0,20	6,0	0,20	6,0
TBRA0007	144	7,05	0,33	4,6	0,35	5,0	0,50	7,1	0,50	7,1

Especificidad analítica**Reactividad cruzada**

La especificidad analítica del ensayo VIDAS® TB-IGRA se ha establecido mediante el análisis de componentes de reacciones cruzadas conforme a las recomendaciones del documento EP7-Ed3 del CLSI.

La reactividad cruzada se evaluó mediante la sobrecarga de las muestras de plasma con un valor de dosis de 0,30 UI/mL y 5,00 UI/mL de IFN- γ con compuestos de reactividad cruzada.

Los resultados de este estudio se muestran en la siguiente tabla.

Sustancia analizada	Concentración analizada ng/mL	Reactividad cruzada %
IL2	10	No se observaron interferencias hasta la concentración analizada
IL4	5	
IL5, IL6, IL10, IL12	100	
TNF- α	5	
IFN- α , IFN- β	50	
IL1 α , IL1 β , IL3	100	

Estudio de fármacos y otras sustancias con capacidad interferente

No se ha probado la posible interferencia de fármacos de uso común (consulte la sección Limitaciones de la prueba).

Se han estudiado las posibles interferencias de otras sustancias conforme a las recomendaciones del documento EP7-Ed3 del CLSI.

Se evaluaron las interferencias mediante una sobrecarga de las muestras de plasma con un valor de dosis de 0,3 UI/ml y 5 UI/mL de IFN- γ con compuestos de reactividad cruzada.

No se detectó ninguna interferencia significativa hasta las concentraciones que se indican a continuación:

Sustancia analizada	Concentración máxima
Hemoglobina	10 g/L (620 μ mol/L)
Albúmina humana	60 g/L
Triglicéridos	30 g/L
Bilirrubina (conjugado)	0,4 g/L (475 μ mol/L)
Bilirrubina (no conjugado)	0,4 g/L (684 μ mol/L)
Proteínas totales	93 g/L
Anticuerpos humanos antiratón (HAMA)	2 μ g/mL
Factor reumatoide	800 UI/mL

Por diseño y debido a la etapa de estimulación, los resultados pueden verse afectados por factores y/o fármacos que pueden aumentar el número de linfocitos T circulantes o disminuir la reactividad de los linfocitos T.

RENDIMIENTO CLÍNICO

Las prestaciones clínicas del ensayo VIDAS® TB-IGRA se evaluaron en dos poblaciones: a) pacientes con TB activa (ATB) y b) personas con riesgo mixto de infección por Mtb (RMIT) (ver Tabla 1).

Como ensayo comparativo, se utilizó el ensayo QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT®-Plus).

No existe un método de referencia ni prueba estándar de uso recomendado para el diagnóstico de la infección por TB latente (ITBL), mientras que el cultivo se reconoce como estándar para la TB activa. En consecuencia:

- Se calculó la **sensibilidad** en la población de TB activa.
- Se calculó el **porcentaje de concordancia negativa (PCN) y el porcentaje de concordancia positiva (PCP)** en relación con el ensayo QFT®-Plus en la población del riesgo mixto.
- Se calcularon unas prestaciones similares a la **especificidad** (especificidad aquí) usando datos de donantes de sangre incluidos en un área poco endémica. Aunque no es posible descartar una infección de TB latente con absoluta certeza, se puede considerar que estos individuos tienen un nivel de riesgo muy bajo de exposición a la TB.

Tabla 1: Resumen de la evaluación de las prestaciones clínicas del ensayo VIDAS® TB-IGRA

Población	PRESTACIONES	Descripción de la población
TB activa (ATB)	Sensibilidad	Pacientes con TB activa confirmada por cultivo
Riesgo mixto de infección por Mtb (RMIT)	PCN* y PCP*	Varios grupos de sujetos con o sin factores de riesgo de infección por Mtb, clasificados a lo largo de un gradiente de riesgo de la exposición a la TB
Subpoblación: donantes de sangre	Especificidad	Donantes de sangre (riesgo muy bajo de exposición a la TB)

*En relación con QFT®-Plus (con ELISA por QIAGEN®)

1. Sensibilidad en la población con TB activa

Se evaluó la sensibilidad del ensayo VIDAS® TB-IGRA con **200 pacientes de TB activa confirmados** en 10 centros de todo el mundo, en países con baja incidencia de la TB (Francia, Reino Unido, EE. UU.) y países con una alta incidencia de TB (Sudáfrica y México). Los participantes del estudio resultaron VIH negativos y no habían recibido más de 15 días de tratamiento contra la tuberculosis en el momento de la obtención de sangre.

Las muestras de cada paciente se analizaron en simple con los ensayos VIDAS® TB-IGRA y QFT®-Plus.

La sensibilidad fue del **97,5 %** (193/198) con el ensayo VIDAS® TB-IGRA y del 80,7 % (146/181) para el ensayo QFT®-Plus (consulte la Tabla 2).

La prueba VIDAS® TB-IGRA dio más resultados positivos verdaderos, menos resultados falsos negativos y menos resultados indeterminados que la prueba QFT®-Plus.

Tabla 2: Sensibilidad en pacientes con TB activa

	VIDAS® TB-IGRA	QFT®-Plus
Positivo	193	146
Negativo	5	35
Total*	198	181
Indeterminado	2	19
Sensibilidad* [IC del 95%]	97,5 % (193/198) [94,2; 99,2] %	80,7 % (146/181) [74,3; 85,8] %
PPA** [IC del 95%]	99,3 % (143/144) [96,2; 100,0] %	

*Con la exclusión de los resultados indeterminados. Ver más detalles en la Tabla 12.

**Porcentaje de concordancia positiva entre VIDAS® 3 y QFT®-Plus calculado en pacientes con un resultado positivo de QFT®-Plus. Con la exclusión de los resultados indeterminados.

[IC del 95%]: Intervalo de confianza del 95 %.

2. Porcentaje de concordancias en la población del riesgo mixto y especificidad en los donantes de sangre

Se calculó el porcentaje de concordancia positiva (PCP) y el porcentaje de concordancia negativa (PCN) en relación con la prueba QFT®-Plus en la población de riesgo mixto.

La población de riesgo mixto incluía 1460 sujetos de 18 centros de todo el mundo, en países de baja incidencia de TB (Francia, Reino Unido, EE. UU.) y países con una alta incidencia de TB (este de África y África occidental). La mayoría de los participantes del estudio en países con baja incidencia de TB se sometieron a la prueba en busca de ITBL como parte de su atención estándar en el momento de la selección. La población de riesgo mixto estaba compuesta de varios subgrupos con o sin factores de riesgo de infección por Mtb, clasificados en un gradiente de riesgo de TB-exposición. Véanse los detalles demográficos en la Tabla 3.

Tabla 3: Población de riesgo mixto - Factores demográficos

Población de riesgo mixto (N=1459)*		Número (%) / Estadísticas
Sexo	Mujer	946 (64,8 %)
	Hombre	513 (35,2 %)
Edad (años)	Rango	5-88
	Media	38
Vacunado del BCG	Sí	533 (36,5 %)
	No	627 (43,0 %)
	Desconocida	299 (20,5 %)
VIH-positivo**	Sí	22 (1,5 %)
	No	1209 (82,9 %)
	Desconocida	228 (15,6 %)

*Con la exclusión de los resultados indeterminados. Ver más detalles en la Tabla 12.

**Debido a la baja frecuencia, no se calculó ningún rendimiento del subgrupo VIH positivo.

Las muestras de cada paciente se analizaron en simple con los ensayos VIDAS® TB-IGRA y QFT®-Plus.

El ensayo VIDAS® TB-IGRA dio más resultados positivos (véanse la Tabla 4 y la Tabla 5). El índice de resultados positivos fue estadísticamente superior ($\alpha=5\%$) con el ensayo VIDAS® TB-IGRA que con la prueba QFT®-Plus (valor $p < 0,0001$).

Tabla 4: Resultados de los ensayos VIDAS® TB-IGRA y QFT®-Plus en la población de riesgo mixto

Resultados	Población de riesgo mixto (N=1460)	
	VIDAS® TB-IGRA	QFT®-Plus
Positivo	343 (23,5 %)	242 (16,6 %)
Negativo	1117 (76,5 %)	1217 (83,4 %)
Indeterminado*	0 (0,0 %)	1 (0,1 %)

*Los resultados indeterminados se excluyen de todos los cálculos de PCN/PCP.

Tabla 5: Tabla de contingencia entre los ensayos VIDAS® TB-IGRA y QFT®-Plus en la población de riesgo mixto

		QFT®-Plus		
		Negativo	Positivo	Total*
VIDAS® TB-IGRA	Negativo	1097	19	1116
	Positivo	120	223	343
	Total*	1217	242	1459

*Con la exclusión de los resultados indeterminados. Ver más detalles en la Tabla 12.

En la población del riesgo mixto, la PCN fue del **90,1 %** (1097/1217) y la PCP fue del **92,1 %** (223/242) sin ningún resultado indeterminado (véase la Tabla 6).

Tabla 6: porcentaje de concordancia negativa (PCN) y porcentaje de concordancia positiva (PCP) entre los ensayos VIDAS® TB-IGRA y QFT®-Plus, según se estima en la población de riesgo mixto

PCN* [IC del 95%]	90,1 % [88,3 ; 91,7] %
----------------------	----------------------------------

PCP* [IC del 95%]	92,1 % [88,1 ; 94,9] %
----------------------	----------------------------------

*Con la exclusión de los resultados indeterminados. Ver más detalles en la Tabla 12.

La especificidad, calculada en datos de donantes de sangre, fue del **97,6 %** (122/125) con el ensayo VIDAS® TB-IGRA y del 95,2 % (119/125) con el ensayo QFT®-Plus (véase la Tabla 7).

Tabla 7: Especificidad en donantes de sangre

	VIDAS® TB-IGRA	QFT®-Plus
Positivo	3	6
Negativo	122	119
Total*	125	125
Indeterminado	0	0
Especificidad [IC del 95%]	97,6 % (122/125) [93,1 ; 99,5] %	95,2 % (119/125) [89,8 ; 98,2] %

*Con la exclusión de los resultados indeterminados. Ver más detalles en la Tabla 12.

Subgrupos en la población de riesgo mixto - Descripción y rendimiento clínico

La población de riesgo mixto estaba compuesta de distintos subgrupos que pueden clasificarse a lo largo de un gradiente de riesgo de exposición a la TB (véase la Tabla 8). Se espera que el riesgo de exposición a la TB refleje la probabilidad de infección latente, es decir, cuanto mayor sea el riesgo, mayor será el porcentaje esperado de sujetos con ITBL. Por lo tanto, se realizó un análisis de subgrupos para evaluar el impacto del riesgo de la exposición a la TB en el PCN y el PCP del ensayo VIDAS® TB-IGRA en relación con el ensayo QFT®-Plus.

Tabla 8: Subgrupos de la población del riesgo mixto y su nivel de riesgo de exposición de TB

Riesgo de la exposición a la TB	Subgrupos	Número de sujetos (%)
Extremadamente bajo	Donantes de sangre sin factores de riesgo conocidos para la prueba de TB	125 (8,6 %)
Muy bajo	Personas sin factores de riesgo de exposición a la TB conocidos a las que se somete a un cribado de ITBL debido al tratamiento con inmunosupresores	90 (6,2 %)
Bajo	Estudiantes de Medicina de países de bajo riesgo de TB sin factores de riesgo de exposición a la TB	118 (8,1 %)
Medio bajo	Trabajadores sanitarios o voluntarios sin factores de riesgo conocidos de exposición a la TB	598 (41,0 %)
Medio	Personas de entornos relacionados con la TB en países con baja carga de TB	13 (0,9 %)
Medio alto	<ul style="list-style-type: none"> Inmigrantes o residentes de países con una incidencia elevada de TB Personas que han pasado > 1 mes en una zona con una incidencia elevada de TB 	68 (4,7 %)
Alto	Contactos de casos de TB (fuera del hogar)	296 (20,3 %)
Muy alto	Contactos de casos de TB (del mismo hogar)	81 (5,6 %)
Extremadamente alto	Contactos de casos de TB (del mismo dormitorio)	70 (4,8 %)

Los resultados de VIDAS® TB-IGRA y QFT®-Plus de cada subgrupo se incluyen en la Tabla 9.

El índice de resultados positivos con cualquiera de las pruebas suele aumentar a medida que aumenta el riesgo de exposición, lo que refleja la probabilidad prevista de ITBL en los diferentes subgrupos.

Tabla 9: Resultados del ensayo VIDAS® TB-IGRA y QFT®-Plus por subgrupo de la población de riesgo mixto

Riesgo de la exposición a la TB	Número de sujetos	Resultados negativos		Resultados positivos	
		Número (%)		Número (%)	
		VIDAS® TB-IGRA	QFT®-Plus	VIDAS® TB-IGRA	QFT®-Plus
Extremadamente bajo	125	122 (97,6%)	119 (95,2%)	3 (2,4%)	6 (4,8%)
Muy bajo	90	80 (88,9%)	84 (93,3%)	10 (11,1%)	6 (6,7%)
Bajo	118	113 (95,8%)	117 (99,2%)	5 (4,2%)	1 (0,8%)
Medio bajo	598	553 (92,5%)	593 (99,2%)	45 (7,5%)	5 (0,8%)
Medio	13	12 (92,3%)	13 (100,0%)	1 (7,7%)	0 (0,0%)
Medio alto	68	28 (41,2%)	31 (45,6%)	40 (58,8%)	37 (54,4%)
Alto	296	152 (51,4%)	184 (62,2%)	144 (48,6%)	112 (37,8%)
Muy alto	81	36 (44,4%)	45 (55,6%)	45 (55,6%)	36 (44,4%)
Extremadamente alto	70	20 (28,6%)	31 (44,3%)	50 (71,4%)	39 (55,7%)

Además, se calculó el PCN y el PCP de todos los niveles de riesgo de la exposición a la TB. Como se muestra en la Tabla 10, el grado de concordancia de la prueba VIDAS® TB-IGRA con respecto a la prueba QFT®-Plus varía en función del nivel de riesgo. A medida que aumenta el riesgo de exposición a la TB, el PCN tiende a disminuir, mientras que el PCP suele aumentar.

Examen de los valores de los niveles principales de riesgo de exposición a la TB (véanse la Tabla 11 y la Figura 1):

- Cuando el riesgo de exposición a la TB es bajo, es decir, se espera que la ITBL sea menos frecuente:
 - La mayoría de los sujetos negativos en QFT® fueron también negativos en VIDAS®, lo que produjo el 96,9 % de PCN.
 - Aproximadamente una tercera parte de los sujetos positivos en QFT® eran aun así negativos en VIDAS®, lo que da lugar a un 61,5 % de PCP.
- Cuando el riesgo de exposición a la TB es alto, es decir, se espera que la ITBL sea más frecuente:
 - La mayoría de los sujetos positivos en QFT® fueron también positivos en VIDAS®, lo que produjo el 95,7 % de PCP.
 - Aproximadamente una cuarta parte de los sujetos negativos en QFT® eran aun así positivos en VIDAS®, lo que dio lugar al 76,9 % de PCN.

Tabla 10: Porcentaje de concordancias negativa y positiva calculadas en los subgrupos de la población de riesgo mixto

Riesgo de la exposición a la TB	Resultados negativos en QFT®-Plus				Resultados positivos en QFT®-Plus			
	N total	Resultados de VIDAS® TB-IGRA		PCN [IC del 95%]	N total	Resultados de VIDAS® TB-IGRA		PCP [IC del 95%]
		Negativo	Positivo			Positivo	Negativo	
Extremadamente bajo	119	119	0	100,0 % [96,9 ; 100,0] %	6	3	3	50,0 % [18,8 ; 81,2] %
Muy bajo	84	78	6	92,9 % [85,3 ; 96,7] %	6	4	2	66,7 % [30,0 ; 90,3] %
Bajo	117	113	4	96,6 % [91,5 ; 99,1] %	1	1	0	100,0 % [2,5 ; 100,0] %
Medio bajo	593	550	43	92,7 % [90,4 ; 94,6] %	5	2	3	40,0 % [11,8 ; 76,9] %
Medio	13	12	1	92,3 % [66,7 ; 98,6] %	0	N/A	N/A	N/A
Medio alto	31	25	6	80,6 % [63,7 ; 90,8] %	37	34	3	91,9 % [78,7 ; 97,2] %
Alto	184	144	40	78,3 % [71,8 ; 83,6] %	112	104	8	92,9 % [86,5 ; 96,3] %

Riesgo de la exposición a la TB	Resultados negativos en QFT®-Plus				Resultados positivos en QFT®-Plus			
	N total	Resultados de VIDAS® TB-IGRA		PCN [IC del 95%]	N total	Resultados de VIDAS® TB-IGRA		PCP [IC del 95%]
		Negativo	Positivo			Positivo	Negativo	
Muy alto	45	36	9	80,0 % [66,2 ; 89,1] %	36	36	0	100,0 % [90,3 ; 100,0] %
Extremadamente alto	31	20	11	64,5 % [46,9 ; 78,9] %	39	39	0	100,0 % [91,0 ; 100,0] %

Tabla 11: Porcentajes de concordancias negativa y positiva calculadas en la población de riesgo mixto en los niveles principales de riesgo de exposición a la TB

Riesgo de la exposición a la TB	Resultados negativos en QFT®-Plus				Resultados positivos en QFT®-Plus			
	N total	Resultados de VIDAS® TB-IGRA		PCN [IC del 95%]	N total	Resultados de VIDAS® TB-IGRA		PCP [IC del 95%]
		Negativo	Positivo			Positivo	Negativo	
Bajo	320	310	10	96,9 % [94,3 ; 98,5] %	13	8	5	61,5 % [35,5 ; 82,3] %
Medio	637	587	50	92,2 % [89,8 ; 94,0] %	42	36	6	85,7 % [72,2 ; 93,3] %
Alto	260	200	60	76,9 % [71,4 ; 81,6] %	187	179	8	95,7 % [91,7 ; 98,1] %

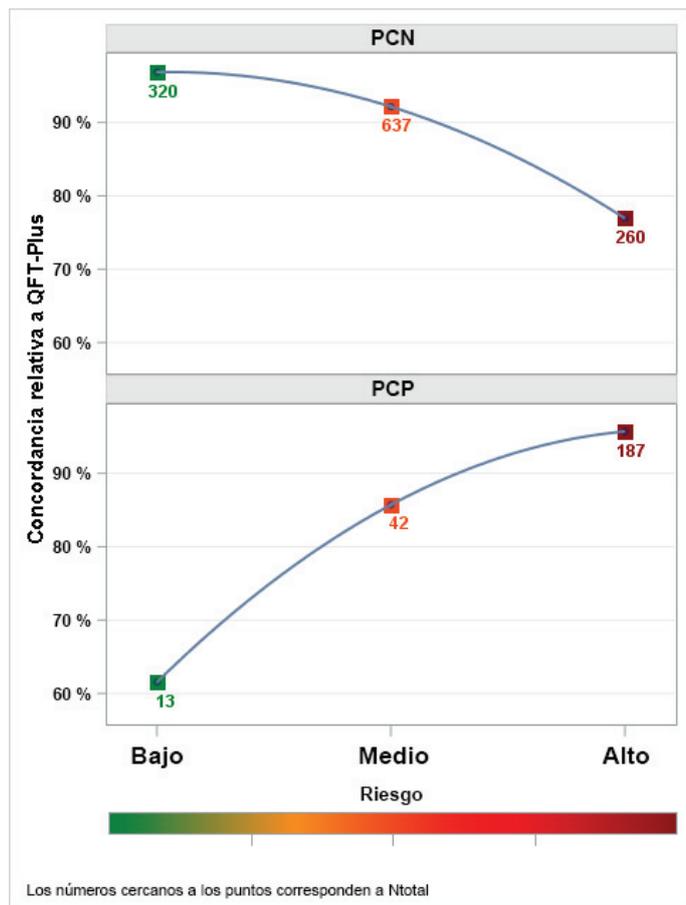


Figura 1: PCN y PCP en la población de riesgo mixto para los niveles principales de riesgo de exposición a la TB

3. Resultados indeterminados

La frecuencia de los resultados indeterminados fue diferente en las dos poblaciones. Los datos se resumen en la Tabla 12.

Tabla 12: Resultados indeterminados

	TB activa (N=200)		RMIT (N=1460)		Todas las cohortes (N=1660)	
	Número	%	Número	%	Número	%
VIDAS® TB-IGRA	2	1,0	0	0,0	2	0,1*
QFT®-Plus	19	9,5	1	0,1	20	1,2*

*El índice de resultados indeterminados fue estadísticamente inferior ($\alpha = 5\%$) con el ensayo VIDAS® TB-IGRA que con el ensayo QFT®-Plus (valor $p = 0,0001$).

Los dos resultados indeterminados observados con el ensayo VIDAS® TB-IGRA se debieron a un valor de NIL alto. Los 20 resultados indeterminados observados con el ensayo QFT®-Plus se debieron a un valor de MIT-NIL bajo.

4. Distribución de los valores observados por población obtenidos con el ensayo VIDAS® TB-IGRA

Se calcularon los diferentes niveles de IFN- γ en las diferentes poblaciones. Los niveles observados de NIL, AG-NIL y MIT-NIL se muestran en las Figuras 2, 3 y 4. Estos pueden considerarse valores típicos de las diferentes poblaciones.

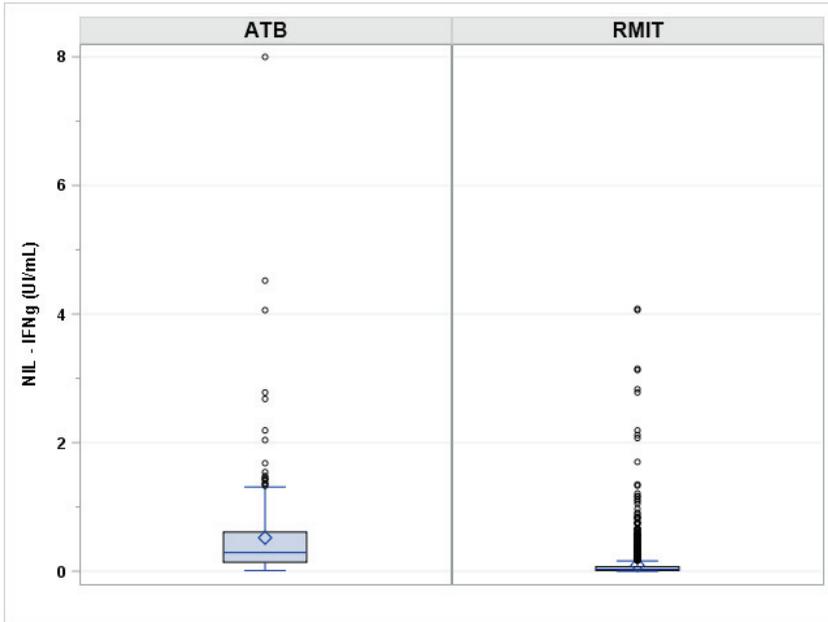


Figura 2: Distribución de los valores de NIL obtenidos con el ensayo VIDAS® TB-IGRA

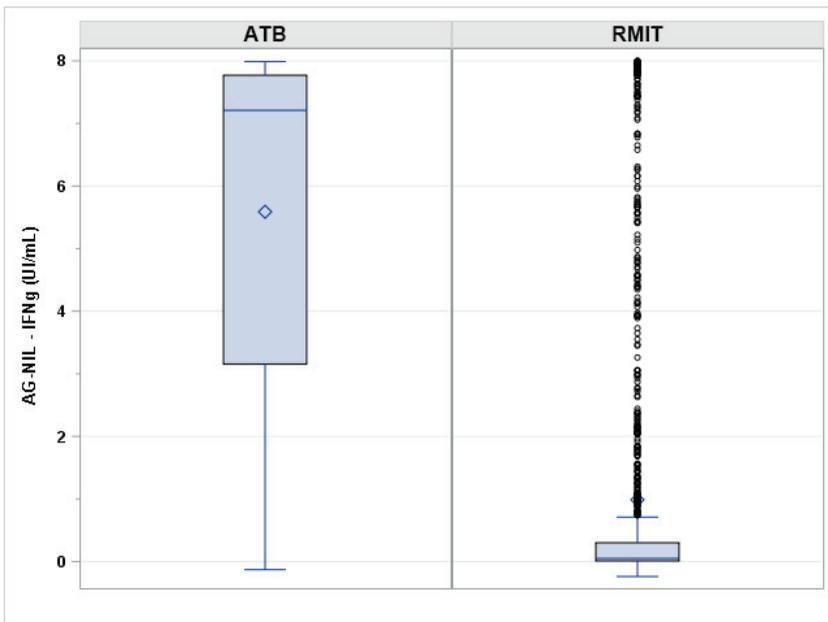


Figura 3: Distribución de los valores de AG-NIL obtenidos con el ensayo VIDAS® TB-IGRA

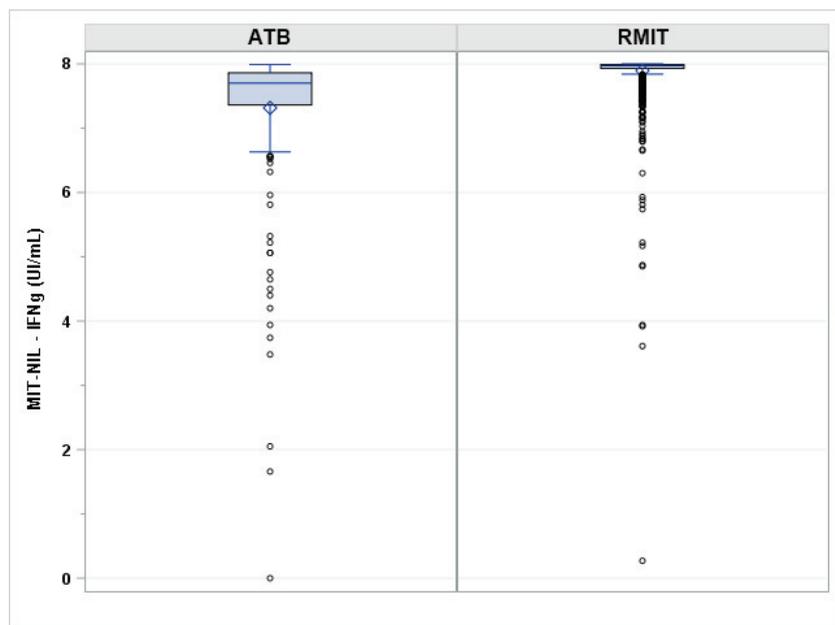


Figura 4: Distribución de los valores de MIT-NIL obtenidos con el ensayo VIDAS® TB-IGRA

5. Reproducibilidad de los resultados cualitativos / Precisión

La precisión del ensayo VIDAS® TB-IGRA se evaluó mediante un estudio multicéntrico. Las muestras se tomaron en tres centros diferentes y se analizaron en tres laboratorios diferentes. Las pruebas fueron realizadas por varios operadores con tres lotes de producto diferentes del ensayo VIDAS® TB-IGRA en tres instrumentos diferentes.

Se incluyeron 55 sujetos en total, entre los que se incluyó a trabajadores sanitarios, pacientes con indicios de TB o antecedentes de pruebas positivas asociadas a la TB. Se seleccionaron sujetos que pudieran arrojar resultados positivos y negativos para cubrir el intervalo de medición de la prueba.

Se obtuvieron seis tubos de sangre y hasta seis resultados de cada sujeto. Los sujetos con menos de cuatro resultados se excluyeron del análisis de datos. Se atribuyó un estado a cada uno de los sujetos de la manera siguiente:

- Concordantes positivos si al menos cuatro muestras dieron un resultado positivo,
- Concordantes negativos si al menos cuatro muestras dieron un resultado negativo,
- Discordante si se obtuvieron menos de cuatro resultados concordantes.

No se observaron resultados indeterminados.

El porcentaje de sujetos concordantes fue del **98,2 %** (54/55), 35 sujetos fueron concordantes negativos, 19 fueron concordantes positivos y 1 fue discordante.

En total, se analizaron 323 muestras y el 94,4 % (305/323) fueron concordantes con el estado del sujeto. Véase la Tabla 13 para obtener más detalles.

Tabla 13: Resumen del estudio de precisión

Estado del sujeto	Concordante/total	Número de sujetos	Número de muestras analizadas	Número de muestras concordantes con el estado
Concordante negativo	6/6	30	180	180
	5/6	2	12	10
	4/6	1	6	4
	4/5	2	10	8

Estado del sujeto	Concordante/total	Número de sujetos	Número de muestras analizadas	Número de muestras concordantes con el estado
Concordante positivo	6/6	13	78	78
	5/6	1	6	5
	4/6	2	12	8
	4/5	1	5	4
	4/4	2	8	8
Discordante	3/6	1	6	N/A
Total		55	323	305

ELIMINACIÓN DE LOS RESIDUOS

Eliminar tanto los reactivos usados como los no utilizados, así como los materiales desechables contaminados siguiendo los procedimientos relativos con los productos infecciosos o potencialmente infecciosos.

Es responsabilidad de cada laboratorio la gestión de los desechos y efluentes que produce según su naturaleza y peligrosidad, garantizando (o haciendo garantizar) su tratamiento y eliminación, según las reglamentaciones aplicables.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World health statistics 2018: monitoring health for the SDGs sustainable development goals. GWHO 2018, IGO LCB-N-S 3. Who Report 2018.
2. N.M. Parrish, J.D. Dick and W.R. Bishai - Mechanisms of latency in *Mycobacterium tuberculosis* - *Trends Microbiol.* 6(3) (1998) 107–112.
3. Y. Zhang - Persistent and dormant tubercle bacilli and latent tuberculosis - *Front Biosci* 9 (2004) 1136–1156.
4. P. Piccini, *et al.* - Clinical peculiarities of tuberculosis - *BMC Infect Dis* [Internet] 2014;14(Suppl1):S4.
5. T. Mori *et al.* - Specific detection of tuberculosis infection: an interferon-gamma-based assay using new antigens - *Am J Respir Crit Care Med.* 2004 Jul 1;170(1): 59-64.
6. L.Richeldi - An update on the diagnosis of tuberculosis infection - *Am J Respir Crit Care Med.* 2006 Oct 1; 174(7): 736-42
7. WORLD HEALTH ORGANIZATION, Latent TB Infection: Updated and consolidated guidelines for programmatic management, 2018, WHO/CDS/TB/2018.4.
8. G.Sulis *et al.* - Recent developments in the diagnosis and management of tuberculosis - *NPJ Prim Care Respir Med.* 2016; 26: 16078.
9. WORLD HEALTH ORGANIZATION, USE OF ANTICOAGULANTS IN DIAGNOSTIC, LABORATORY INVESTIGATIONS, 2002, WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2
10. Andersen, P. *et al.* - Specific immune-based diagnosis of tuberculosis - *Lancet.* (2000) 356(9235): 1099-1104.
11. Geluk, A. *et al.* - Identification and characterization of the ESAT-6 homologue of *Mycobacterium leprae* and T-cell cross-reactivity with *Mycobacterium tuberculosis* - *Infect Immun* (2002) 70(5): 2544-2548.
12. Geluk, A. *et al.* - Immunological crossreactivity of the *Mycobacterium leprae* CFP-10 with its homologue in *Mycobacterium tuberculosis* - *Scand J Immunol* (2004) 59(1): 66-70.
13. Van Ingen, J. *et al.* - Region of difference 1 in nontuberculous *Mycobacterium* species adds a phylogenetic and taxonomical character - *J Bacteriol* (2009) 191(18): 5865-5867.

TABLA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Fabricante
	Límite de temperatura
	Fecha de caducidad

Símbolo	Significado
	Código de lote
	Consulte las instrucciones de uso
	Contenido suficiente para <n> ensayos
	Fecha de fabricación

GARANTÍA LIMITADA

bioMérieux garantiza el rendimiento del producto para el uso previsto declarado siempre que todos los procedimientos para el uso, el almacenamiento y la manipulación, la vida útil (en su caso) y las precauciones se sigan estrictamente como se detalla en las instrucciones de uso.

A excepción de lo expresamente establecido anteriormente, bioMérieux por la presente renuncia a todas las garantías, incluyendo cualquier garantía implícita de comerciabilidad y adecuación para un propósito o uso particular, y se exime de toda responsabilidad, ya sea directa, indirecta o consecuente, de cualquier uso del reactivo, software, instrumento y desechables (el "Sistema") distinto a lo que se indica en las instrucciones de uso.

HISTÓRICO DE REVISIONES

Categoría de tipo de cambio

N/A	No aplica (primera modificación)
Corrección	Corrección de anomalías en la documentación
Cambio técnico	Adición, revisión y/o eliminación de información relativa al producto
Administrativo	Implementación de cambios no técnicos notables para el usuario

Nota: Los cambios menores de errores tipográficos, gramaticales y de formato no aparecen incluidos en el historial de revisiones.

Fecha de publicación	Versión	Tipo de cambio	Resumen de cambios
2021-02	053331-01	N/A	No aplica (primera modificación)
2021-04	053331-02	Cambio técnico	Uso previsto Resumen y explicación Muestras Procedimiento \ Iniciar un análisis de muestra Límites de la prueba Rendimiento clínico

BIOMERIEUX, el logo de BIOMERIEUX, SPR y VIDAS son marcas utilizadas, depositadas y/o registradas pertenecientes a bioMérieux o a cada una de sus filiales, o a cada una de sus sociedades.

QuantIFERON y QFT son marcas registradas o pendientes de registro del grupo QIAGEN.

CLSI es una marca registrada que pertenece a Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.

Los demás nombres o marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.