

Abril de 2022

Instrucciones de uso del QuantiFERON[®] SARS-CoV-2 ELISA Kit



Versión 1



Para uso diagnóstico in vitro

Para su uso con QuantiFERON[®] SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes



626420



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

Número de teléfono: +1-800-426-8157



QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1, 40724
Hilden, Alemania



1124420ES

Contenido

Uso previsto	5
Usuario previsto	6
Descripción y principio.....	7
Resumen y explicación	7
Materiales suministrados	9
Contenido del kit.....	9
Componentes del kit	10
Plataforma y software	10
Materiales necesarios pero no suministrados	11
Reactivos adicionales.....	11
Equipo	11
Advertencias y precauciones.....	12
Información de seguridad.....	12
Precauciones	13
Almacenamiento y manipulación de los reactivos	16
Estabilidad en uso	16
Reactivos reconstituidos sin utilizar	16
Manipulación y almacenamiento de material de muestra	17
Procedimiento: Realizar el ensayo ELISA	18
Protocolo: ELISA para IFN- γ	18
Resultados (cálculos)	24
Generación de valores de curva estándar y muestra.....	24

Control de calidad de la prueba	26
Interpretación de los resultados	28
Limitaciones	29
Características del rendimiento del ensayo	30
Rendimiento analítico	30
Rendimiento clínico	40
Referencias	48
Guía de resolución de problemas	53
Símbolos	56
Información de contacto	57
Apéndice A: Información técnica.....	58
Resultados indeterminados	58
Muestras de plasma coaguladas	58
Muestras de plasma lipémico.....	58
Apéndice B: Procedimiento de prueba ELISA abreviado	59
Información para pedidos	61
Historial de revisiones del documento	62

Uso previsto

El ensayo QuantiFERON SARS-CoV-2 es una prueba de diagnóstico in vitro diseñada para la detección cualitativa del interferón- γ (IFN- γ) producido por los linfocitos T CD4+ y CD8+ en respuesta a la estimulación de un combinado de péptidos del SARS-CoV-2 en sangre total heparinizada. La cantidad de IFN- γ producida se mide mediante un ensayo de inmunoenlaces de adsorción (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA).

El ensayo QuantiFERON SARS-CoV-2 está diseñado como ayuda en la evaluación de la reacción inmunitaria celular (RIC) en personas sin antecedentes de infección por SARS-CoV-2 y que han recibido la vacunación contra la COVID-19 con vacunas cuya diana vírica es la proteína de la espícula (S) del virus SARS-CoV-2.

El ensayo QuantiFERON SARS-CoV-2 debe usarse junto con otras pruebas de laboratorio y evaluaciones epidemiológicas y clínicas para valorar la reacción inmunitaria de un paciente debido a la vacunación contra COVID-19.

La reacción inmunitaria de los linfocitos T puede tardar en desarrollarse varios días tras la vacunación, aunque la duración del tiempo en que la respuesta inmunitaria de los linfocitos T está presente no se ha caracterizado bien en los pacientes vacunados.

Los resultados no reactivos no descartan la infección activa por SARS-CoV-2 ni determinan la eficacia de las vacunas contra COVID-19. Si se sospecha de una infección activa, es necesario confirmarlo con otra prueba molecular o prueba de antígenos para el SARS-CoV-2. Los resultados del ensayo deben usarse siempre junto con el examen clínico, los antecedentes médicos del paciente y otros hallazgos.

Para uso diagnóstico in vitro.

Usuario previsto

Este kit se ha diseñado para uso profesional.

Solo el personal especialmente formado y cualificado en las técnicas de biología molecular y que esté familiarizado con esta tecnología puede utilizar el producto.

Descripción y principio

Resumen y explicación

QuantiFERON SARS-CoV-2 (QFN SARS) es un ensayo cualitativo que utiliza tubos de recogida de sangre especializados que contienen antígenos peptídicos que estimulan las células inmunitarias mediante el uso de proteínas específicas del SARS-CoV-2. La sangre se extrae en los tubos y se incuba entre 16 y 24 horas. Posteriormente se retira y analiza el plasma para determinar si se ha producido IFN- γ como reacción a los antígenos peptídicos. Se han notificado respuestas de linfocitos T específicos a la infección por SARS-CoV-2 tras la vacunación con diferentes tipos de vacunas cuya diana es la proteína de la espícula [1-34].

En primer lugar se recoge sangre total en cada uno de los QuantiFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes, que incluye un tubo Nil, un tubo Ag1, un tubo Ag2 y un tubo Mitogen. De forma alternativa, la sangre se puede extraer en un único tubo de recogida de sangre con heparina de litio o de sodio como anticoagulante y transferirla luego a los QuantiFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes.

Los QuantiFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes se agitan para mezclar el antígeno con la sangre y deben incubarse a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ lo antes posible durante las 16 horas posteriores a la recogida de sangre. Tras el periodo de incubación comprendido entre 16 y 24 horas, se centrifugan los tubos, se procesa el plasma y se mide la cantidad producida de interferón IFN- γ (UI/ml) mediante el método ELISA. El ensayo QuantiFERON SARS-CoV-2 ELISA utiliza un estándar de IFN- γ humano recombinante que se ha analizado comparándolo con una preparación de IFN- γ de referencia (ref. de NIH: Gxg01-902-535). Los resultados de las muestras de la prueba se indican en Unidades internacionales por ml (UI/ml) relativas a una curva estándar preparada mediante el análisis de las diluciones del estándar suministrado con el kit.

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

La muestra de plasma del tubo Mitogen sirve como control positivo de IFN- γ para cada muestra analizada. El tubo Nil ajusta el fondo (p. ej., niveles elevados de IFN- γ en circulación o la presencia de anticuerpos heterófilos). El nivel de IFN- γ en el tubo Nil se sustrae del nivel de IFN- γ en los tubos Ag1, Ag2 y Mitogen.

Materiales suministrados

Contenido del kit

Componentes para ELISA	Kit biplaca
N.º de catálogo	626420
Microplate Strips (Tiras de microplacas, 12 x 8 pocillos) revestidas con anticuerpos monoclonales murinos antihumano IFN- γ	2 conjuntos de tiras para microplaca, 12 x 8
IFN- γ Standard, (estándar de IFN- γ), liofilizado; contiene IFN- γ humano recombinante, caseína bovina, 0,01 % p/v de timerosal	1 x vial (8 UI/ml después de su reconstitución)
Green Diluent (Diluyente verde, contiene caseína bovina, suero de ratón normal, 0,01 % p/v de timerosal)	1 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate, (Conjugado 100x concentrado), liofilizado; IFN- γ HRP murino antihumano, contiene 0,01 % de timerosal)	1 x 0,3 ml (después de su reconstitución)
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 0,5 M H ₂ SO ₄)*	1 x 15 ml
<i>Instrucciones de uso del QuantiFERON SARS-CoV-2 ELISA Kit</i>	1

* Contiene ácido sulfúrico

Componentes del kit

Controles y calibradores

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

Plataforma y software

El software de análisis de QFN SARS es de uso opcional y se puede utilizar para analizar los datos obtenidos y calcular los resultados. Se puede descargar en www.qiagen.com.

Materiales necesarios pero no suministrados

Reactivos adicionales

- Agua desionizada o destilada, 2 litros

Equipo*

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

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

Advertencias y precauciones

Para usuarios de la Unión Europea: Tenga en cuenta que debe comunicar los incidentes graves que hayan ocurrido en relación con el dispositivo al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro en el que el usuario o el paciente esté establecido.


Información de seguridad

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

- Todos los materiales químicos y biológicos son potencialmente peligrosos. Los materiales de muestra son material potencialmente infeccioso y deben tratarse como material biopeligroso.
- Deseche los residuos de muestras y ensayos conforme a los procedimientos de seguridad local.
- Los materiales de muestra y las muestras son potencialmente infecciosos. Deseche los residuos de muestras y ensayos conforme a los procedimientos de seguridad local.
- El ensayo QFN SARS debe usarse junto con otras pruebas de laboratorio y evaluaciones epidemiológicas y clínicas para valorar la reacción inmunitaria de un paciente debido a la vacunación contra COVID-19.
- Un resultado de QFN SARS no reactivo no descarta la posibilidad de infección por SARS-CoV-2 ni determina la eficacia de las vacunas contra COVID-19. Los resultados no reactivos falsos pueden deberse a la manipulación incorrecta de los tubos de recogida de sangre tras la venopunción, el rendimiento incorrecto del ensayo u otras variables inmunológicas individuales, incluidas aquellas relacionadas con cualquier comorbilidad. Los anticuerpos heterófilos o la producción de IFN- γ inespecífico de otras enfermedades inflamatorias pueden enmascarar respuestas específicas a los péptidos de SARS-CoV-2.
- Un resultado reactivo de QFN SARS tampoco debe considerarse como prueba única y definitiva para determinar la eficacia de la vacuna contra COVID-19. Llevar a cabo el ensayo de forma incorrecta puede producir resultados reactivos de QFN SARS.

- Un resultado reactivo de QFN SARS puede deberse a la recogida de muestras de sangre incorrecta o a la manipulación inadecuada de muestras que repercute en la función de los linfocitos. Consulte el apartado “Procedimiento: Realizar el ensayo ELISA” en la página 18, para obtener información sobre la manipulación correcta de las muestras de sangre. Las demoras en la incubación pueden provocar resultados no reactivos falsos o indeterminados y otros parámetros técnicos pueden afectar la capacidad para detectar una respuesta de IFN- γ significativa.
- Una reacción baja al Mitogen (<0,5 UI/ml) indica un resultado indeterminado cuando la muestra de sangre también presenta una respuesta no reactiva ante las proteínas de SARS CoV-2. Este resultado puede producirse con un número insuficiente de linfocitos, con una menor actividad de los mismos provocada por una manipulación incorrecta de las muestras, con un llenado/mezclado del tubo Mitogen o con la incapacidad de los linfocitos del paciente de producir IFN- γ . Se pueden producir niveles elevados de IFN- γ en la muestra de Nil debido a la presencia de anticuerpos heterófilos o a la secreción intrínseca de IFN- γ .

Precauciones

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

QuantifERON Enzyme Stopping Solution



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

QuantifERON Enzyme Substrate Solution

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

QuantifERON Green Diluent



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

QuantifERON Wash Buffer 20x Concentrate

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

Más información

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

- Algunos reactivos QFN SARS incorporan timerosal, a modo de conservante. Puede resultar tóxico ingerido, inhalado o en contacto con la piel.
- No seguir las *Instrucciones de uso de QuantifERON ELISA Kit* puede ocasionar resultados erróneos. Lea las instrucciones atentamente antes de proceder.
- No utilice el kit si algún frasco de reactivo muestra signos de estar dañado o perder líquido.
- **Importante:** Inspeccione los viales antes de utilizarlos. No utilice viales de conjugado o de estándar de IFN- γ que muestren signos de daños o en los que el sello de goma no esté intacto. No utilice viales rotos. Adopte las precauciones de seguridad apropiadas para eliminar los viales de forma segura. Se recomienda usar un destaponador de viales para abrir los viales de conjugado o de estándar de IFN- γ a fin de minimizar el riesgo de lesiones producidas por las tapas metálicas de rosca.

-
- No mezcle ni utilice las tiras para microplacas, el estándar de IFN- γ , el diluyente verde o el conjugado 100x concentrado de diferentes lotes del kit QFN SARS. Otros reactivos (tampón de lavado 20x concentrado, solución enzimática de sustrato y solución enzimática de parada) pueden intercambiarse entre kits siempre y cuando los reactivos no hayan caducado y se anote la información de los lotes.
 - Elimine los reactivos no utilizados y las muestras biológicas de acuerdo con la normativa local, regional y nacional correspondiente.
 - No utilice el kit QFN SARS ELISA después de la fecha de caducidad indicada.
 - Se deben seguir en todo momento los procedimientos de laboratorio correctos.
 - Compruebe que el equipo del laboratorio (por ejemplo, el lavador y el lector de placas) haya sido calibrado y validado para el uso.

Almacenamiento y manipulación de los reactivos

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

Estabilidad en uso

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

Reactivos reconstituidos sin utilizar

- Consulte el apartado "Procedimiento: Realizar el ensayo ELISA" en la página 18 para obtener instrucciones sobre cómo reconstituir los reactivos.
- El estándar reconstituido del kit puede conservarse durante 3 meses como máximo si se almacena a una temperatura de entre 2-8 °C.
Fíjese en la fecha de reconstitución del estándar del kit.
- El conjugado 100x concentrado reconstituido debe volver a almacenarse a una temperatura comprendida entre 2-8 °C y también debe utilizarse durante los 3 meses siguientes.
Fíjese en la fecha de reconstitución el 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.

Manipulación y almacenamiento de material de muestra

Consulte las *Instrucciones de uso de los QuantiFERON SARS-CoV-2 (QFN SARS) Blood Collection Tubes* (1124422) para obtener información detallada sobre el flujo de trabajo de recogida de sangre para la prueba QFN SARS.

Procedimiento: Realizar el ensayo ELISA

Protocolo: ELISA para IFN- γ

Puntos importantes

- Consulte el apartado Contenido del kit en la página 9 y el apartado Materiales necesarios pero no suministrados en la página 11 para obtener información sobre los materiales necesarios para realizar el ensayo ELISA.

Configuración (tiempo necesario para la realización del ensayo)

Para obtener resultados válidos del ensayo QFN SARS, el operador debe realizar tareas específicas dentro de los plazos establecidos. Antes de usar el ensayo, se recomienda que el operador planifique cuidadosamente cada etapa del ensayo para conceder la cantidad de tiempo adecuada para llevar a cabo cada etapa. A continuación se indica el tiempo necesario para llevar a cabo el ensayo, así como el tiempo necesario para analizar varias muestras si vienen en lotes.

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

Procedimiento

1. Todas las muestras de plasma y los reactivos, excepto el conjugado 100x concentrado, deben estar a temperatura ambiente ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) antes de ser utilizados. Espere por lo menos 60 minutos para permitir el equilibrado.
2. Retire las tiras de la placa ELISA innecesarias del bastidor, vuelva a cerrar la bolsita de aluminio y colóquela de nuevo en la nevera donde quedará almacenada hasta que se necesite.

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

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

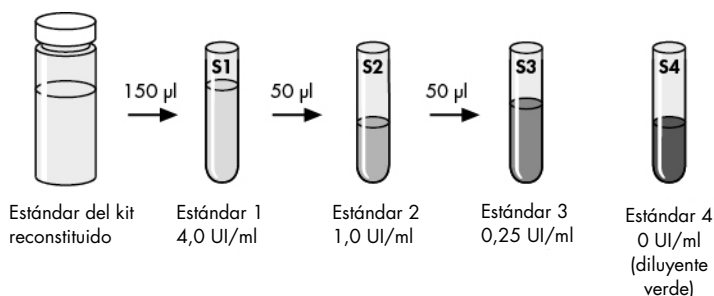


Figura 1. Preparación de la serie de diluciones de curva estándar.

4. Reconstituya el conjugado 100x concentrado liofilizado con 0,3 ml de agua desionizada o destilada. Mezcle cuidadosamente para evitar la formación de espuma y asegurarse de que todo el contenido del vial se disuelva por completo.
 - 4a. El conjugado listo para utilizar se prepara diluyendo la cantidad necesaria de conjugado 100x concentrado en diluyente verde (tabla 1).
 - 4b. El conjugado listo para el uso debe utilizarse en las 6 horas siguientes a su preparación.
 - 4c. Vuelva a guardar inmediatamente los conjugado 100x concentrado no utilizados a un temperatura de entre 2-8° C.

Tabla 1. Preparación del conjugado (listo para usar)

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

5. Mezcle bien la muestra de plasma procedente de los tubos de recogida de sangre que se haya almacenado (refrigerada o congelada) antes de verterla en el pocillo ELISA. Las muestras de plasma pueden almacenarse en QFN SARS Blood Collection Tubes durante un máximo de 28 días a una temperatura comprendida entre 2-8 °C, o bien, las muestras de plasma extraído pueden almacenarse durante un máximo de 28 días a una temperatura comprendida entre 2-8 °C. Las muestras de plasma extraído también pueden almacenarse a temperaturas por debajo de -20 °C (preferiblemente a menos de -70 °C) durante un máximo de 24 meses.

Las muestras de plasma pueden cargarse o usarse directamente desde los tubos de recogida de sangre centrifugados a la placa ELISA para QFN SARS.

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

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

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1 N	3 N	5 N	7 N	9 N	S1	S1	13 N	15 N	17 N	19 N	21 N
B	1 Ag1	3 Ag1	5 Ag1	7 Ag1	9 Ag1	S2	S2	13 Ag1	15 Ag1	17 Ag1	19 Ag1	21 Ag1
C	1 Ag2	3 Ag2	5 Ag2	7 Ag2	9 Ag2	S3	S3	13 Ag2	15 Ag2	17 Ag2	19 Ag2	21 Ag2
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 Ag1	4 Ag1	6 Ag1	8 Ag1	10 Ag1	11 Ag1	12 Ag1	14 Ag1	16 Ag1	18 Ag1	20 Ag1	22 Ag1
G	2 Ag2	4 Ag2	6 Ag2	8 Ag2	10 Ag2	11 Ag2	12 Ag2	14 Ag2	16 Ag2	18 Ag2	20 Ag2	22 Ag2
H	2 M	4 M	6 M	8 M	10 M	11 M	12 M	14 M	16 M	18 M	20 M	22 M

Figura 2. **Diseño recomendado de la placa ELISA.** S1 (estándar 1), S2 (estándar 2), S3 (estándar 3), S4 (estándar 4). 1N (muestra 1, plasma de control de Nil), 1 Ag1 (muestra 1, plasma de Ag1), 1 Ag2 (muestra 1, plasma de Ag2), 1M (muestra 1, plasma de Mitogen).

9. Tape la placa ELISA y mezcle bien el conjugado y las muestras de plasma/estándares durante 1 minuto en un agitador de microplacas a 500-1000 rpm. Evite las salpicaduras.
10. Tape la placa ELISA e incúbela a temperatura ambiente ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante 120 ± 5 minutos. La placa ELISA no debe exponerse a la luz directa del sol durante la incubación. Una desviación respecto del rango de temperatura especificado puede dar lugar a resultados erróneos.

11. Durante la incubación de la placa ELISA prepare el tampón de lavado listo para utilizar. Diluya una parte de tampón de lavado concentrado 20x con 19 partes de agua desionizada o destilada y mezcle bien. Se incluye suficiente tampón de lavado 20x concentrado para preparar 2 litros de tampón de lavado listo para utilizar.
12. Cuando finalice la incubación de la placa ELISA, lave los pocillos de la placa con 400 µl de tampón de lavado listo para usar. Realice el paso de lavado 6 veces como mínimo. Por cuestiones de seguridad, se recomienda utilizar un lavador de placas automatizado al manipular muestras de plasmas.

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

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

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

Resultados (cálculos)

El software de análisis de QFN SARS se utiliza para analizar los datos obtenidos y calcular los resultados. Se encuentra disponible en www.qiagen.com. Asegúrese de utilizar la versión más reciente del software de análisis de QFN SARS.

El software evalúa la calidad del ensayo, genera una curva estándar y proporciona un resultado para cada sujeto, calculado tal y como se describe en el apartado “Interpretación de los resultados” en la página 28. El software informa acerca de todas las concentraciones superiores a 10 UI/ml como “>10”, ya que dichos valores no corresponden al intervalo lineal validado de ELISA.

Como alternativa al uso del software de análisis de QFN SARS los resultados pueden determinarse por medio del método siguiente.

Generación de valores de curva estándar y muestra

Cuando no se utiliza el software de análisis de QFN SARS

La determinación de la curva estándar y la determinación de los valores de UI/ml de la muestra requieren un programa de hoja de cálculo, como Microsoft® Excel®, si no se usa el software de análisis de QFN SARS.

Uso de un programa de hoja de cálculo

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

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

Cálculo de la muestra

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

Tabla 2. Curva estándar

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

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

Si se emplea el criterio especificado en el apartado "Control de calidad de la prueba" en la página 26, se determina la validez del ensayo.

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

Tabla 3. Cálculo de la muestra

Antígeno	Valor de OD	Log _(e) valor de OD	X	e ^x (UI/ml)	Antígeno - Nil (UI/ml)
Nil	0,037	-3,297	-2,934	0,05	-
Ag1	1,161	0,149	1,437	4,21	4,15
Ag2	1,356	0,305	1,634	5,12	5,07
Mitogen	1,783	0,578	1,981	7,25	7,20

Se corrigen los valores de IFN- γ (en UI/ml) para Ag1, Ag2 y Mitogen en función del fondo restando el valor de UI/ml obtenido para el control de Nil respectivo. Estos valores corregidos se usan para interpretar los resultados de la prueba.

Control de calidad de la prueba

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

Para que el ensayo ELISA se considere válido:

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

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

El software de análisis de QFN SARS calcula y muestra los valores de estos parámetros de calidad.

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

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

Interpretación de los resultados

Los resultados de QFN SARS se interpretarán según los siguientes criterios (tabla 4).

Importante: El ensayo QFN SARS debe usarse junto con otras pruebas de laboratorio y evaluaciones epidemiológicas y clínicas para valorar la reacción inmunitaria de un paciente debido a la vacunación contra COVID-19.

Tabla 4. Interpretación de los resultados de la prueba QFN SARS

Nil (UI/ml)	Antígeno Ag1 menos Nil (UI/ml)	Antígeno Ag2 menos Nil (UI/ml)	Mitogen menos Nil (UI/ml)*	Resultado de QFN SARS	Informe/Interpretación
≤8,0	≥0,15 y ≥25 % de Nil	Cualquiera	Cualquiera	Reactivo	<i>Reacción a SARS-CoV-2 detectada</i>
	Cualquiera	≥0,15 y ≥25 % de Nil			
	<0,15 o ≥0,15 y <25 % de Nil	<0,15 o ≥0,15 y <25 % de Nil	≥0,50	No reactivo	<i>NO se ha detectado reacción a SARS-CoV-2</i>
	<0,15 o ≥0,15 y <25 % de Nil	<0,15 o ≥0,15 y <25 % de Nil	<0,50	Indeterminado [‡]	<i>No se puede detectar reacción a SARS-CoV-2 y Mitogen</i>
>8,0 [§]	Cualquiera				

*Las reacciones al control positivo de Mitogen (y en ocasiones las reacciones al antígeno Ag) pueden estar fuera del rango del lector de microplacas. Esto no afecta a los resultados de la prueba. El software QFN SARS notifica los valores >10 UI/ml como >10 UI/ml.

[‡] Consulte el apartado “Guía de resolución de problemas” en la página 53 para conocer las posibles causas.

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

Limitaciones

Los resultados de las pruebas QFN SARS deben completarse con la historia epidemiológica del individuo, estado físico actual y otras pruebas médicas.

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

- Un resultado no reactivo debe considerarse junto con los datos históricos y médicos del paciente relacionados con la probabilidad de la respuesta inmunitaria a la vacunación, particularmente en sujetos con una función inmunitaria deteriorada.
- El ensayo QFN SARS debe usarse junto con otras pruebas de laboratorio y evaluaciones epidemiológicas y clínicas para valorar la reacción inmunitaria de un paciente debido a la vacunación contra COVID-19.

Pueden darse resultados poco fiables o indeterminados si:

- Desviaciones respecto del procedimiento descrito en las instrucciones de uso
- Transporte/manipulación incorrectos de las muestras de sangre
- Niveles elevados de IFN- γ en circulación o presencia de anticuerpos heterófilos
- Se han superado los tiempos validados de la sangre desde la extracción de la muestra hasta la incubación. Consulte las *Instrucciones de uso de los QFN SARS Blood Collection Tubes* (1124422).

Características del rendimiento del ensayo

Rendimiento analítico

Corte del ensayo

El valor de corte del ensayo QFN SARS se determinó con los datos de veinte (20) sujetos que obtuvieron resultados no reactivos para SARS-CoV-2 con una prueba de PCR RT o una prueba serológica y veinte (20) donantes con vacunación completa (entre 2-16 semanas después del estado de vacunación completa) con una vacuna autorizada por la EUA de la FDA. Se analizaron los datos de sensibilidad y especificidad junto con los intervalos de confianza (IC) del 95 % bilaterales exactos y con estos se demostró que el valor de corte óptimo de ELISA fue de 0,15 UI/ml (consulte la tabla 5).

Tabla 5. Los valores de corte de QFN SARS (UI/ml) con la correspondiente sensibilidad y especificidad con IC del 95 % bilateral exacto

Valor de corte	Sensibilidad			Especificidad		
	Valor	Valor inferior del IC del 95 %	Valor superior del IC del 95 %	Valor	Valor inferior del IC del 95 %	Valor superior del IC del 95 %
0,1	1,000	0,940	1,000	0,933	0,838	0,982
0,15	0,983	0,911	1,000	1,000	0,940	1,000
0,2	0,900	0,795	0,962	1,000	0,940	1,000
0,25	0,733	0,603	0,839	1,000	0,940	1,000
0,3	0,717	0,586	0,825	1,000	0,940	1,000
0,35	0,650	0,516	0,769	1,000	0,940	1,000
0,4	0,600	0,465	0,724	1,000	0,940	1,000
0,45	0,567	0,432	0,694	1,000	0,940	1,000
0,5	0,467	0,337	0,600	1,000	0,940	1,000
0,55	0,433	0,306	0,568	1,000	0,940	1,000
0,6	0,400	0,276	0,535	1,000	0,940	1,000
0,65	0,333	0,217	0,467	1,000	0,940	1,000
0,7	0,317	0,203	0,450	1,000	0,940	1,000
0,75	0,300	0,188	0,432	1,000	0,940	1,000
0,8	0,300	0,188	0,432	1,000	0,940	1,000

Linealidad

Se ha demostrado la linealidad del ensayo QFN SARS ELISA mediante la colocación aleatoria de 5 réplicas de 11 grupos 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 (figura 3).

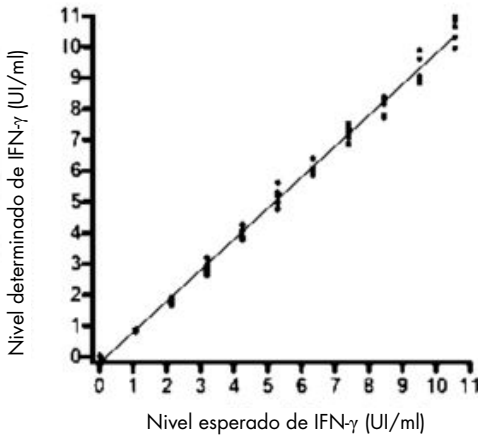


Figura 3. Ilustración del análisis de regresión del estudio de linealidad.

Reproducibilidad

Se realizó un estudio de reproducibilidad en varios laboratorios para evaluar el rendimiento del ensayo QFN SARS en los laboratorios con varios operadores. Este estudio se llevó a cabo en tres laboratorios en QIAGEN. En el estudio se inscribieron en total tres (3) sujetos reactivos a SARS-CoV-2 y tres (3) sujetos no reactivos a SARS-CoV-2 (según se determinó con la prueba de PCR RT o la prueba serológica).

De cada sujeto del estudio se obtuvo sangre en cuatro (4) tubos de recogida de sangre con heparina de litio. Los tubos de recogida de sangre con heparina de litio se transfirieron a continuación a uno de los laboratorios de análisis, donde la sangre se dividió en alícuotas en tres (3) juegos de QFN SARS Blood Collection Tubes (QFN SARS Ag1, Ag2, Mitogen y Nil). Se transfirió un juego de cada uno de los QFN SARS Blood Collection Tubes (BCT) a cada uno de los laboratorios de análisis y luego se analizaron de acuerdo con el procedimiento del ensayo QFN SARS. En cada sujeto se realizaron análisis con diez (10) réplicas (cinco [5] réplicas de Ag1 y cinco [5] réplicas de Ag2) en cada laboratorio. En cada laboratorio un (1) operador realizó la prueba QFN SARS de forma independiente. Los operadores no conocían los resultados obtenidos por los otros operadores ni conocían los resultados de la prueba de PCR RT o la prueba serológica del sujeto del estudio.

Se generaron 30 resultados en cada uno de los tres (3) laboratorios de análisis, lo que supuso un total de 90 puntos de datos. En la tabla 6 se proporciona un resumen de los resultados del estudio de reproducibilidad.

Tabla 6. Resumen de los resultados del estudio de reproducibilidad: N = 30 muestras de pacientes

Laboratorio 1: 1 operador	Laboratorio 2: 1 operador	Laboratorio 3: 1 operador
25/30 = 83 %	30/30 = 100%	30/30 = 100%
Concordancia de resultados cualitativos	Concordancia de resultados cualitativos	Concordancia de resultados cualitativos

El porcentaje de concordancia global entre todas las muestras reactivas y no reactivas con los resultados cualitativos esperados (sujeto reactivo que arroja un resultado reactivo y sujeto no reactivo que arroja un resultado no reactivo con base en el resultado del método de referencia de los sujetos) fue de 94,4 % (85/90) en los tres (3) laboratorios.

Repetibilidad entre lotes

Se llevó a cabo un estudio para determinar la variabilidad entre lotes de QFN SARS Blood Collection Tubes. En el estudio se analizaron en total a dos (2) sujetos reactivos a SARS-CoV-2 y tres (3) sujetos no reactivos a SARS-CoV-2 (según se determinó con la prueba de PCR RT o la prueba serológica). En este estudio se incluyeron tres (3) lotes por separado de QFN SARS Ag1 y Ag2 Blood Collection Tubes. Se analizaron cinco (5) réplicas por donante por lote de tubos de recogida de sangre. En la tabla 7 se proporciona un resumen de los resultados de precisión entre lotes.

Tabla 7. Resumen de los resultados del estudio de precisión entre lotes - Porcentaje de concordancia global para los QFN SARS Blood Collection Tubes Ag1 y Ag2; N = 25

QFN SARS BCT	Número de lote del BCT	Número de alertas cualitativas en la concordancia/alertas totales	Proporción	Límite de confianza inferior	Límite de confianza superior
Ag1	1	25/25	100,00 %	86,28 %	100,00 %
	2	25/25	100,00 %	86,28 %	100,00 %
	3	25/25	100,00 %	86,28 %	100,00 %
Ag2	1	25/25	100,00 %	86,28 %	100,00 %
	2	25/25	100,00 %	86,28 %	100,00 %
	3	25/25	100,00 %	86,28 %	100,00 %

El porcentaje de concordancia global entre todas las muestras reactivas y no reactivas con los resultados esperados (sujeto reactivo que arroja un resultado reactivo y sujeto no reactivo que arroja un resultado no reactivo con base en el resultado del método de referencia de los sujetos) fue de 100 % en los tres (3) lotes de QFN SARS BCT Ag1 y Ag2.

Límite de blanco (Limit of Blank, LoB)

Se evaluó el límite de blanco (Limit of Blank, LoB) del ensayo QFN SARS. Tres (3) operadores analizaron dos (2) réplicas de cada una de las catorce (14) muestras de plasma humano individuales normales (como los blancos) con dos (2) lotes de QFN SARS ELISA en tres (3) días de análisis, un (1) operador por cada día para un total de 84 réplicas de cada lote de kit ELISA.

Los valores de LoB (UI/ml) para los dos (2) lotes de kit ELISA se calcularon por separado, como se muestra en la tabla 8.

Tabla 8. Valores de LoB (UI/ml) para los dos (2) lotes del QFN SARS ELISA Kit

QFN SARS ELISA Kit	LoB estimado (UI/ml)
Kit 1	0,030
Kit 2	0,040

El valor de LoB más grande, 0,040 UI/ml, en ambos lotes de kit QFN SARS ELISA se informó como el valor de LoB final.

Límite de detección (Limit of Detection, LoD)

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

El valor de LoD de cada uno de los lotes de QFN SARS ELISA Kit analizados se calculó por separado como se muestra en la tabla 9. El LoD se calculó con un modelo de regresión Probit. El LoD se basó en la concentración estimada (UI/ml) que arrojó una probabilidad estimada del 95 % en la obtención de una tasa de aciertos superior a 0,04 UI/ml (determinada por el LoB).

Tabla 9. Valores de LoD estimados (UI/ml) de los dos (2) lotes de QFN SARS ELISA Kit

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

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

Sustancias interferentes

Se llevó a cabo un estudio para determinar los efectos de las posibles sustancias interferentes al llevar a cabo la detección QFN SARS ELISA de IFN- γ . Las sustancias interferentes incluidas en este análisis fueron: triglicéridos (totales), hemoglobina, proteína (suero total), bilirrubina (conjugada), bilirrubina (no conjugada), sulfato de abacavir, ciclosporina y prednisolona. Se prepararon cinco (5) grupos de plasma con concentraciones conocidas de IFN- γ utilizando diferentes concentraciones de sustancias interferentes. El nivel de IFN- γ del grupo base se preparó previamente con una cantidad predeterminada de IFN- γ presente (aproximadamente 0,21; 0,45 y 1,4 UI/ml). Este grupo se usó posteriormente para preparar el grupo de sustancias interferentes. Se analizaron cinco niveles diferentes de concentraciones de sustancias interferentes y se basaron en los intervalos de referencia, los valores patológicos, los intervalos terapéuticos y los intervalos tóxicos, o en las recomendaciones del proveedor o los niveles clínicos generales. Se analizaron seis (6) réplicas para cada nivel de concentración de muestra interferente.

Por cada concentración de las muestras, se realizó una prueba de la t, en la que se comparó la diferencia en \log_{10} (UI/ml) medio del nivel de sustancia interferente alto (10) en comparación con el control (es decir, nivel sin sustancia interferente). En la tabla también se notifican la diferencia estimada en la respuesta media, junto con los límites de confianza del 95 % bilaterales correspondientes y el valor de p.

Tabla 10. Log10 UI/ml: Tabla de resumen de la prueba de la t sobre las diferencias en las medias entre el nivel de control y de interferente primario de cada interferente y nivel de concentración de IFN- γ

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

La tabla continúa en la página siguiente

La tabla continúa de la página anterior

Tabla 10. Log₁₀ UI/ml: Tabla de resumen de la prueba de la t sobre las diferencias en las medias entre el nivel de control y de interferente primario de cada interferente y nivel de concentración de IFN- γ

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

Los resultados no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre el nivel de sustancia interferente más alto analizado y el control (nivel sin sustancia interferente), a excepción del nivel de concentración de 0,45 UI/ml de triglicérido. Se determinó que la diferencia media de este valor fue de ± 2 desviaciones estándar de la medición del nivel de control medio y esto demostró que la diferencia observada se encontraba dentro de la variabilidad prevista del ensayo y que los niveles de trascendencia clínica de triglicéridos no afectarían al QFN SARS ELISA.

Rendimiento clínico

Se evaluó el rendimiento clínico del ensayo QFN SARS en un estudio observacional y prospectivo que se llevó a cabo de junio a octubre de 2021 en sujetos sin antecedentes de haber adquirido la infección por SARS-CoV-2 y a quienes se les había administrado la vacuna contra COVID-19 con vacunas cuya diana es la proteína S vírica del SARS-CoV-2, así como en sujetos sin antecedentes de haber adquirido la infección por SARS-CoV-2 y a quienes no se les había administrado la vacuna contra la COVID-19.

Los sujetos que dieron su consentimiento se sometieron a una evaluación basándose en los criterios de inclusividad y exclusividad del estudio y se registraron solo los sujetos que cumplían con todos los criterios de inclusividad, y con ninguno de los criterios de exclusividad para someterse a una recogida de sangre para el QFN SARS.

A continuación, se muestra una descripción de la población registrada:

- Grupo 1: Sujetos incluidos sin antecedentes de infección natural por SARS-CoV-2, a quienes no se les había administrado la vacuna contra la COVID-19 cuando se sometieron a la recogida de sangre para el QFN SARS, nunca habían arrojado un resultado positivo en el análisis de infección por SARS-CoV-2, habían registrado un resultado no reactivo en el análisis de serología y no habían presentado signos ni síntomas de COVID-19 en un plazo de 4 semanas antes de su registro en el estudio.
- Grupo 2: Sujetos incluidos sin historial de infección por SARS-CoV-2, a quienes se les había administrado la vacuna contra COVID-19 cuya diana es la proteína S del SARS-CoV-2 cuando se sometieron a la recogida de sangre para el QFN SARS y nunca habían arrojado un resultado positivo en el análisis de infección por SARS-CoV-2.
- Ninguno de los sujetos era receptor de trasplantes (vísceras macizas o células) ni estaban bajo tratamiento contra el cáncer en el momento de su participación en el estudio.

Se registró un total de 218 sujetos en el grupo 1, mientras que en el grupo 2 se registraron 171 sujetos. Después de la recogida de sangre para el QFN SARS, cuatro sujetos del grupo 1 no pudieron participar debido a un resultado reactivo en la prueba serológica que se obtuvo empleando una muestra recogida en la misma consulta donde se realizó la recogida de sangre para el QFN SARS, quedando así excluidos del análisis.

Se recogieron las muestras, se procesaron los QFN SARS Blood Collection Tubes y se almacenó el plasma a ≤ -20 °C hasta que estuvo listo para el análisis con el QFN SARS ELISA. Todos los procesamientos de la placa QFN SARS ELISA fueron válidos y no se obtuvieron resultados indeterminados, lo que generó 214 y 171 muestras evaluables en los grupos 1 y 2 respectivamente.

Datos demográficos

El número de muestras recogidas en cada país y el porcentaje del total de cada grupo de estudio se muestran en la tabla 11.

Tabla 11. Descripción del país de la recogida de muestras

País de la recogida de muestras	Grupo 1		Grupo 2	
	N	%	N	%
Países Bajos	214	100,00 %	153	89,47 %
EE. UU.	0	0,00 %	18	10,53 %

Se muestra una descripción de la edad de los sujetos, incluyendo las edades media, mediana, mínima y máxima, además de la desviación estándar (DE) de la edad, en la tabla 12.

Tabla 12. Descripción de la edad de los sujetos (años)

N	Media	Mediana	DE	Mínimo	Máximo
385	40,47	37,00	14,168	18,00	80,00

En la tabla 13 se muestra una descripción del género de los sujetos.

Tabla 13. Descripción del género de los sujetos

Sexo	N	%
Femenino	234	60,78 %
Masculino	151	39,22 %

Especificidad

La concordancia clínica que compara los resultados del QFN SARS con los resultados del método de referencia se muestra en la tabla 14.

Tabla 14. Concordancia clínica: Resultado del QFN SARS frente al método de referencia

		Resultado del método de referencia		Total
		Grupo 1 (- vac., -infección)	Grupo 2 (+ vac., -infección)	
Resultado de QFN SARS	No reactivo	199	34	233
	Reactivo	15	137	152
Total		214	171	385

En los sujetos a los que no se les había administrado la vacuna (grupo 1), 199 de 214 fueron no reactivos en el análisis empleando el QFN SARS, mientras que los 15 restantes fueron reactivos. En los sujetos a los que se les había administrado la vacuna (grupo 2), 137 de 171 fueron reactivos en el análisis empleando el QFN SARS, mientras que los 34 restantes fueron no reactivos. Ninguna de las 15 y 34 muestras con resultados discordantes en los grupos 1 y 2, respectivamente, se sometieron a análisis adicionales con un método discordante.

El porcentaje de concordancia negativa (PCN) (especificidad) se calculó para los sujetos sin vacuna (grupo 1), junto con el intervalo de confianza (IC) del 95 % bilateral exacto, y este se muestra en la tabla 15.

Tabla 15. Porcentaje de concordancia negativa (especificidad)

N.º de grupo	PCN (especificidad)	IC del 95 %
Grupo 1 (-vacuna, -infección)	92,99 % (199/214)	88,70-96,02 %

Sensibilidad

El porcentaje de concordancia positiva (PCP) (sensibilidad) se calculó para los sujetos vacunados (grupo 2), junto con el IC del 95 % bilateral exacto, y este se muestra en la tabla 16.

Tabla 16. Porcentaje de concordancia positiva (sensibilidad)

N.º de grupo	PCP (sensibilidad)	IC del 95 %
Grupo 2 (+vacuna, -infección)	80,12 % (137/171)	73,34-85,82 %

Porcentaje de concordancia positiva por edad

En los sujetos vacunados (grupo 2), el porcentaje de concordancia positiva se estratificó según la edad <60 y ≥60 años y este se muestra en la tabla 17.

Tabla 17. Porcentaje de concordancia positiva según <60 y ≥60 años de edad

Intervalo de edad (años)	PCP (sensibilidad)	IC del 95 %
<60	85,33 % (128/150)	78,78-90,64 %
≥60	42,86 % (9/21)	21,82-65,98 %

Porcentaje de concordancia positiva según la vacuna contra COVID-19

En los sujetos vacunados (grupo 2), el porcentaje de concordancia positiva se estratificó según la vacuna contra COVID-19 administrada y este se muestra en la tabla 18.

Tabla 18. Porcentaje de concordancia positiva según la vacuna contra COVID-19

Vacuna	PCP (sensibilidad)	IC del 95 %
Astra Zeneca	62,50 % (5/8)	24,49-91,48 %
Janssen (Johnson & Johnson)	86,67 % (13/15)	59,54-98,34 %
Moderna	77,27 % (17/22)	54,63-92,18 %
Pfizer: BioNTech	80,95 % (102/126)	73,00-87,40 %

Factores asociados con los resultados no reactivos en sujetos vacunados

Para determinar si el incremento de edad, la finalización del proceso de vacunación contra COVID-19, la vacuna administrada y el sexo se relacionan con los resultados no reactivos en los sujetos vacunados (grupo 2), se realizó un análisis de regresión de logística invariable. La relación entre cada factor y los resultados no reactivos se calculó en función de la oportunidad relativa (OR) y los resultados se muestran en la tabla 19.

Tabla 19. Asociación entre los factores y los resultados no reactivos en los sujetos vacunados

Factor		O (IC del 95 %)	valor p
Edad (años)		1,08 (1,05-1,12)	<0,001
Tiempo desde la vacunación hasta la recogida de sangre para QFN SARS (días)		1,02 (1,01-1,03)	<0,001
Vacuna	Pfizer: BioNTech	1	–
	Astra Zeneca	2,55 (0,57-11,42)	0,221
	Janssen (Johnson & Johnson)	0,65 (0,14-3,09)	0,592
	Moderna	1,25 (0,42-3,72)	0,689
Sexo	Femenino	1	–
	Masculino	1,25 (0,59-2,65)	0,565

Los únicos factores que se relacionaban significativamente con los resultados no reactivos en sujetos vacunados fueron la edad y el tiempo transcurrido desde la vacunación.

Dado el estudio se llevó a cabo en países donde las vacunas contra COVID-19 estaban disponibles principalmente para sujetos mayores, es posible que la edad haya tenido un impacto en la relación entre el tiempo transcurrido desde la vacunación y los resultados no reactivos. En la tabla 20 se muestra el análisis de regresión con la edad como covariable.

Tabla 20. Relación entre los factores y los resultados no reactivos con control de edad

Factor	O (IC del 95 %)	valor p
Edad (años)	1,07 (1,03-1,11)	<0,001
Tiempo desde la vacunación hasta la recogida de sangre para QFN SARS (días)	1,01 (1,00-1,02)	0,214

Cuando se controla la edad, la relación entre el tiempo transcurrido desde la vacunación y los resultados no reactivos ya no es significativa; sin embargo, la edad sigue teniendo una relación significativa.

Referencias

1. Goletti D., Petrone L, Manissero D, Bertoletti A, Rao S, Ndunda N, et al. The potential clinical utility of measuring SARS-CoV-2-specific T-cell responses. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 2021 Jul [cited 2021 Jul 13];0(0). Available from: <http://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198743X21003785/fulltext>
2. Petrone L., Petruccioli E, Vanini V, Cuzzi G, Najafi Fard S, Alonzi T, et al. A whole blood test to measure SARS-CoV-2-specific response in COVID-19 patients. *Clin Microbiol Infect*. 2021
3. Petrone L., Petruccioli E, Vanini V, Cuzzi G, Gualano G, Vittozzi P, et al. Coinfection of tuberculosis and COVID-19 limits the ability to in vitro respond to SARS-CoV-2. *Int J Infect Dis*. 2021
4. Shrotri M., van Schalkwyk MCI, Post N, Eddy D, Huntley C, Leeman D, et al. T cell response to SARS-Cov-2 infection in humans: A systematic review. *PLoS ONE*. 2021
5. Alessandra D’Abramo, Serena Vita, Gaetano Maffongelli, Andrea Mariano , Chiara Agrati , Concetta Castilletti ,Delia Goletti, Giuseppe Ippolito, Emanuele Nicastrì SC-19 CIT. Prolonged and severe SARS-CoV-2 infection inpatients under B-cell-depleting drug successfully treated: A tailored approach. *Int J Infect Dis*. 2021;(107):247–50
6. Soresina A, Moratto D, Chiarini M, Paolillo C, Baresi G, Focà E, et al. Two X-linked agammaglobulinemia patients develop pneumonia as COVID-19 manifestation but recover. *Pediatr Allergy Immunol*. 2020
7. Quinti I, Lougaris V, Milito C, Cinetto F, Pecoraro A, Mezzaroma I, et al. A possible role for B cells in COVID-19? Lesson from patients with agammaglobulinemia. *J Allergy Clin Immunol*. 2020

8. Geers D, Shamier MC, Bogers S, den Hartog G, Gommers L, Nieuwkoop NN, et al. SARS-CoV-2 variants of concern partially escape humoral but not T-cell responses in COVID-19 convalescent donors and vaccinees. *SciImmunol* [Internet]. 2021 May 1 [cited 2021 Jun 30];6(59). Available from: <http://immunology.sciencemag.org/>
9. Alter G, Yu J, Liu J, Chandrashekar A, Borducchi EN, Tostanoski LH, McMahan K, Jacob-Dolan C, Martinez DR, Chang A, Anioke T, Lifton M, Nkolola J, Stephenson KE, Atyeo C, Shin S, Fields P, Kaplan I, Robins H, Amanat F, Krammer F, Baric RS, Le Gars M, Sado BD. Immunogenicity of Ad26.COV2.S vaccine against SARS-CoV-2 variants in humans. *Nature*. 2021
10. Dan JM, Mateus J, Kato Y, Hastie KM, Yu ED, Faliti CE, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science* (80-) [Internet]. 2021 Feb 5 [cited 2021 Jun 30];371(6529). Available from: <https://doi.org/10.1126/science.abf4063>
11. Chavarot N, Ouedrani A, Marion O, Leruez-Ville M, Villain E, Baaziz M, et al. Poor Anti-SARS-CoV-2 Humoral and T-cell Responses After 2 Injections of mRNA Vaccine in Kidney Transplant Recipients Treated with Belatacept. *Transplantation* [Internet]. 2021 Apr 8 [cited 2021 Jul 1];2. Available from: https://journals.lww.com/transplantjournal/Fulltext/9000/Poor_Anti_SARS_CoV_2_Humoral_and_T_cell_Responses.95281.aspx
12. Sekine T, Perez-Potti A, Rivera-Ballesteros O, Strålin K, Gorin JB, Olsson A, et al. Robust T Cell Immunity in Convalescent Individuals with Asymptomatic or Mild COVID-19. *Cell*. 2020
13. Alberto M, Borobia, Antonio J, Carcas, Mayte Pérez-Olmeda, Luis Castaño, María Jesús Bertran, Javier García-Pérez, Magdalena Campins, Antonio Portolés, María González-Pérez, María Teresa García Morales, Eunáte Arana-Arri, Marta Aldea, Francisco Díez-Fuerte CSG. Immunogenicity and reactogenicity of BNT162b2 booster in ChAdOx1-S-primed participants (CombiVacS): a multicentre, open-label, randomised, controlled, phase 2 trial. *Lancet*. 2021

-
14. Mónica Martínez-Gallo, Juliana Esperalba-Esquerria, Ricardo Pujol-Borrell, Víctor Sandá, Iria Arrese-Muñoz, Candela Fernández Naval, Andrés Antón Pagarolas, Victoria Cardona, Moisés Labrador-Horrillo, Tomás Pumarola-Suñé MH-G. T-cell responses as a correlate of COVID-19 vaccination. A pilot study in Health Care Workers
 15. Van Praet JT, Vandecasteele S, De Roo A, De Vriese AS, Reynders M. Humoral and cellular immunogenicity of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine in nursing home residents. *Clin Infect Dis.* 2021
 16. Pedersen RM, Tornby DS, Bistrup C, Johansen IS, Andersen TE JU. Negative SARS-CoV-2 antibodies, T cell response and virus neutralization following full vaccination in a renal transplant recipient: a call for vigilance. *Clin Microbiol Infect.* 2021
 17. Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, Mateus J, Dan JM, Moderbacher CR, et al. Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals. *Cell.* 2020
 18. Rydyzski Moderbacher C, Ramirez SI, Dan JM, Grifoni A, Hastie KM, Weiskopf D, et al. Antigen-Specific Adaptive Immunity to SARS-CoV-2 in Acute COVID-19 and Associations with Age and Disease Severity. *Cell.* 2020
 19. Tan AT, Linster M, Tan CW, Le Bert N, Chia WN, Kunasegaran K, et al. Early induction of functional SARS-CoV-2-specific T cells associates with rapid viral clearance and mild disease in COVID-19 patients. *Cell Rep.* 2021
 20. Aiello A, Najafi Fard S, Petruccioli E, Petrone L, Vanini V, Farroni C, et al. Spike is the most recognized antigen in the whole-blood platform in both acute and convalescent COVID-19 patients. *Int J Infect Dis.* 2021
 21. Soumya Jaganathan, Francis Stieber, Sonia N. Rao, Vladyslav Nikolayevskyy, Nadia Allen, Jeff Boyle JH. Preliminary Evaluation of QuantiFERON SARS-CoV-2 and QIAreach Anti-SARS-CoV-2 Total Test in Recently Vaccinated Individuals. 2021

-
22. Zheng M, Gao Y, Wang G, Song G, Liu S, Sun D, et al. Functional exhaustion of antiviral lymphocytes in COVID-19 patients. *Cellular and Molecular Immunology*. 2020
 23. Aid M, Busman-Sahay K, Vidal SJ, Maliga Z, Bondoc S, Starke C, et al. Vascular Disease and Thrombosis in SARS-CoV-2-Infected Rhesus Macaques. *Cell*. 2020
 24. Kuri-Cervantes L, Pampena MB, Meng W, Rosenfeld AM, Ittner CAG, Weisman AR, et al. Comprehensive mapping of immune perturbations associated with severe COVID-19. *Sci Immunol*. 2020
 25. Lucas C, Wong P, Klein J, Castro TBR, Silva J, Sundaram M, et al. Longitudinal analyses reveal immunological misfiring in severe COVID-19. *Nature*. 2020
 26. Del Valle DM, Kim-Schulze S, Huang HH, Beckmann ND, Nirenberg S, Wang B, et al. An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival. *Nat Med*. 2020
 27. Peng Y, Mentzer AJ, Liu G, Yao X, Yin Z, Dong D, et al. Broad and strong memory CD4+ and CD8+ T cells induced by SARS-CoV-2 in UK convalescent individuals following COVID-19. *Nat Immunol*. 2020
 28. Sattler A, Angermair S, Stockmann H, Heim KM, Khadzhynov D, Treskatsch S, et al. SARS-CoV-2-specific T cell responses and correlations with COVID-19 patient predisposition. *J Clin Invest*. 2020
 29. Mathew D, Giles JR, Baxter AE, Greenplate AR, Wu JE, Alanio C, et al. Deep immune profiling of COVID-19 patients reveals patient heterogeneity and distinct immunotypes with implications for therapeutic interventions. *bioRxiv Prepr Serv Biol*. 2020
 30. Chen Z, John Wherry E. T cell responses in patients with COVID-19. *Nat Rev Immunol*. 2020

-
31. Folegatti PM, Ewer KJ, Aley PK, Angus B, Becker S, Belij-Rammerstorfer S, et al. Safety and immunogenicity of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine against SARS-CoV-2: a preliminary report of a phase 1/2, single-blind, randomised controlled trial. *Lancet*. 2020
 32. Sahin U, Muik A, Derhovanessian E, Vogler I, Kranz LM, Vormehr M, et al. COVID-19 vaccine BNT162b1 elicits human antibody and TH1 T cell responses. *Nature*. 2020
 33. Ryu MR, Park MS, Cho EH, Jung CW, Kim K, Kim SJ, et al. Comparative evaluation of quantiFERON-TB gold in-tube and quantiFERON-TB gold plus in diagnosis of latent tuberculosis infection in immunocompromised patients. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2018 Nov 1 [cited 2021 Jul 1];56(11). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30135226/>
 34. Petruccioli E, Vanini V, Chiacchio T, Cuzzi G, Cirillo DM, Palmieri F, et al. Analytical evaluation of QuantiFERON- Plus and QuantiFERON- Gold In-tube assays in subjects with or without tuberculosis. *Tuberculosis*. 2017

Guía de resolución de problemas

Esta guía de resolución de problemas puede ayudarle a resolver cualquier problema que pueda surgir. Para obtener más información, también puede consultar la página de preguntas frecuentes (Frequently Asked Question, FAQ) de nuestro Centro de servicio técnico: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Los científicos del servicio técnico de QIAGEN se encargarán de responder cualquier pregunta que tenga sobre la información y/o los protocolos de este manual de uso, así como sobre las tecnologías para la preparación de muestras y ensayos de biología molecular (encontrará la información de contacto en www.qiagen.com).

Comentarios y sugerencias

Resolución de problemas para ELISA

Coloración indeterminada

- | | |
|--|--|
| a) Placa mal lavada | Lave la placa al menos 6 veces con 400 µl de tampón de lavado por pocillo. Puede que sean necesarios más de 6 ciclos de lavado dependiendo del lavador. Debe dejarse un período de remojo de al menos 5 segundos entre los ciclos. |
| b) Contaminación cruzada entre los pocillos de ELISA | Extreme la precaución durante el pipeteado y la mezcla de la muestra para minimizar el riesgo. |
| c) Kit o componentes caducados | Asegúrese de utilizar el kit antes de la fecha de caducidad. Compruebe que el estándar reconstituido y el conjugado 100x concentrado se utilizan durante los tres meses siguientes a la fecha de reconstitución. |
| d) La solución enzimática de sustrato está contaminada | Deseche el sustrato si presenta una coloración azul. Utilice depósitos de reactivos limpios. |

Comentarios y sugerencias

- e) Plasma mezclado en QFN SARS Blood Collection Tubes antes de la extracción
- Después del centrifugado, no pipetee arriba y abajo ni mezcle el plasma de ninguna forma antes de la extracción. Tenga cuidado en todo momento de no interferir en el material de la superficie del gel.

Valores bajos de densidad óptica para los estándares

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

Comentarios y sugerencias

Fondo elevado




- | | |
|--|--|
| a) Placa mal lavada | Lave la placa al menos 6 veces con 400 µl de tampón de lavado por pocillo. Puede que sean necesarios más de 6 ciclos de lavado. Debe dejarse un período de remojo de al menos 5 segundos entre los ciclos. |
| b) Temperatura de incubación demasiado elevada | La incubación para ELISA debe realizarse a temperatura ambiente ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$). |
| c) Kit o componentes caducados | Asegúrese de que el kit no haya caducado. Compruebe que el estándar reconstituido y el conjugado 100x concentrado se utilizan durante los tres meses siguientes a la fecha de reconstitución. |
| d) La solución enzimática de sustrato está contaminada | Deseche el sustrato si presenta una coloración azul. Utilice depósitos de reactivos limpios. |





Curva estándar no lineal y variabilidad entre duplicados

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

Símbolos

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

Símbolo	Definición del símbolo
 Σ <N>	Contiene suficientes reactivos para <N> reacciones
	Fecha de caducidad
IVD	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
REF	Número de catálogo
LOT	Número de lote
MAT	Número de material (p. ej., el etiquetado de los componentes)
COMP	Componentes
CONT	Contenido
NUM	Número
GTIN	Número mundial de artículo comercial
ECREP	Representante autorizado
Rn	“R” es la revisión de las Instrucciones de uso y “n” es el número de revisión
	Limitación de temperatura

Símbolo	Definición del símbolo
	Fabricante
	Consultar las instrucciones de uso
	Mantener alejado de la luz solar
	Advertencia/precaución

Información de contacto

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

Apéndice A: 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 (p. ej. manipulación o almacenamiento inadecuados de los tubo de recogida de sangre, placa ELISA mal lavada) en caso de no seguir las instrucciones de uso indicadas.

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

Muestras de plasma coaguladas

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

Muestras de plasma lipémico

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

Apéndice B: Procedimiento de prueba ELISA abreviado

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

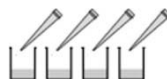


2. Reconstituya el estándar del kit hasta 8,0 UI/ml con agua desionizada o destilada. Prepare cuatro (4) diluciones de estándar.

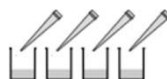


3. Reconstituya el conjugado 100x concentrado liofilizado con agua desionizada o destilada.

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



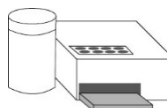
5. Añada 50 µl de las muestras de plasma de análisis y 50 µl de los patrones a los pocillos correspondientes. Mezcle con un agitador.



6. Deje incubar durante 120 minutos a temperatura ambiente.



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



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



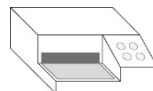
9. Deje incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente.



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



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



12. Analice los resultados.



Información para pedidos

Producto	Contenido	N.º de cat.
QuantifERON SARS-CoV-2 (QFN SARS) ELISA Kit	Kit ELISA biplaca	626420
Productos relacionados		
QuantifERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes	200 tubos (50 de cada uno: Nil, Ag1, Ag2 y Mitogen)	626725

Para obtener información actualizada sobre licencias y exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual de uso o el manual del usuario del kit de QIAGEN correspondiente. Los manuales de uso y las guías del usuario de los kits de QIAGEN están disponibles en www.qiagen.com o pueden solicitarse a los servicios técnicos de QIAGEN o a su distribuidor local.

Historial de revisiones del documento

Fecha	Descripción
R1, octubre de 2021	Versión inicial
R2, noviembre de 2021	Se han actualizado las secciones Características del rendimiento y Rendimiento clínico
R3, abril de 2022	Se ha actualizado el apartado Sustancias interferentes de la sección Características del rendimiento analítico

Esta página se ha dejado intencionadamente en blanco.

Esta página se ha dejado intencionadamente en blanco.

Esta página se ha dejado intencionadamente en blanco.

Acuerdo de licencia limitada para el QuantiFERON® SARS-CoV-2 (QFN SARS) ELISA Kit

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

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

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

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

04-22 1124420 © 2022 QIAGEN. Todos los derechos reservados.

