

ES

Anti-Rubella Virus IgM

REF**9Z9801M
SM9Z9801M****IVD****Rx Only**

APLICACIÓN

El Anti-Rubella Virus IgM está diseñado para la determinación cualitativa de anticuerpos de tipo IgM contra el virus de la rubeola en suero humano. El sistema de pruebas está diseñado para evaluar la presencia de evidencias serológicas de infección activa o reciente por virus de la rubeola, y es para uso diagnóstico *in vitro*.

IMPORTANCIA Y ASPECTOS GENERALES

La rubeola es una infección viral contagiosa de carácter leve que afecta principalmente a los niños y los adultos jóvenes (1,2). Las investigaciones muestran que una característica principal de la rubeola es un exantema eritematoso maculopapuloso de dos o tres días de duración. Sin embargo, más del 50% de las infecciones por este virus no son evidentes desde el punto de vista clínico (2). Otros síntomas de la rubeola son febrícula, síntomas leves de las vías respiratorias superiores y adenopatías linfáticas suboccipitales. En los adultos jóvenes son síntomas frecuentes las artralgias y artritis transitorias, mientras que las complicaciones más graves, como la encefalitis y la púrpura trombocitopénica, son muy raras (1).

Aunque la rubeola en el niño y el adulto suele ser una enfermedad benigna y autolimitada, la infección del feto durante el primer trimestre de gestación puede causar aborto espontáneo, mortinato o defectos congénitos de nacimiento (4). Los sujetos que adquieren la infección dentro del útero pueden nacer con defectos del nacimiento evidentes o, lo que es más frecuente, pueden parecer normales y permanecer normales o experimentar más adelante complicaciones (1,2).

Los profesionales sanitarios y los científicos reconocen y caracterizan el síndrome de la rubeola congénita por los siguientes síntomas: presencia de cardiopatía congénita, sordera neurosensorial, retraso mental y retraso del crecimiento intrauterino (1,4). Tras una epidemia de rubeola en 1964, los científicos identificaron otras manifestaciones clínicas de la rubeola congénita, tales como púrpura trombocitopénica, hepatitis, lesiones óseas y meningoencefalitis en el recién nacido (3). Además, la diabetes mellitus y la panencefalitis rubeólica progresiva son manifestaciones tardías de la rubeola congénita recientemente identificadas (1).

La rubeola es endémica en todo el mundo (2). En los países que carecen de programas de vacunación, entre el 10 y el ~25% de las mujeres en edad fértil son seronegativas y susceptibles a la infección (2). En Estados Unidos y el Reino Unido, los extensos programas de vacunación han reducido sustancialmente la incidencia del síndrome de la rubeola congénita (2,5). En la actualidad se comunican menos de 10 casos al año en Estados Unidos.

La presencia de anticuerpos maternos circulantes indica inmunidad frente al virus de la rubeola y prácticamente excluye la posibilidad de transmitir la infección al feto (2,5 y 6). Si la mujer adquiere la rubeola durante el embarazo, especialmente durante el primer trimestre, el feto puede tener riesgo de infectarse (1). La infección aguda por el virus de la rubeola puede confirmarse analizando simultáneamente pares de sueros (fase aguda y fase de convalecencia) y comprobando si existe seroconversión o una elevación al cuádruple de los títulos de anticuerpos IgG, o detectando anticuerpos IgM específicos del virus de la rubeola (6). La presencia de IgM específica del virus de la rubeola en el neonato o la persistencia de un título elevado de anticuerpos IgG durante más tiempo del que cabe esperar para los anticuerpos adquiridos de forma pasiva (6 meses) confirma el diagnóstico de rubeola congénita (6).

La inhibición de la hemaglutinación (IH), la primera técnica de uso extendido para la detección de anticuerpos frente al virus de la rubeola, ha sido el estándar de referencia con el que se han comparado métodos más nuevos (7). Sin embargo, la prueba IH es laboriosa y difícil de realizar, ya que es preciso pretratar las muestras de suero para eliminar la lipoproteína-beta (6,8). Las investigaciones muestran que la prueba ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas) es un método sensible y fiable para la detección de anticuerpos frente al virus de la rubeola (7,8 y 9). La prueba ELISA es menos incómoda y más aplicable al análisis de grandes cantidades de muestras, puesto que las determinaciones se realizan en una sola dilución de suero que no requiere pretratamiento. Además, los resultados de la prueba ELISA se pueden correlacionar, sobre la base de una lectura objetiva de absorbencia, con los títulos de IH (7,8).

Los anticuerpos de alta afinidad de tipo IgG frente al virus de la rubeola que estén presentes en una muestra pueden interferir en la detección de anticuerpos específicos de tipo IgM (10,11). Debido a su alta afinidad, los anticuerpos de tipo IgG pueden tener preferencia para fijarse al antígeno del virus de la rubeola, lo que puede producir resultados negativos falsos de anticuerpos de tipo IgM (10). Además, si está presente el factor reumatoide junto con IgG específica del antígeno, ambos pueden fijarse entre sí, lo que produciría

resultados positivos falsos de anticuerpos de tipo IgM (11). Estos dos problemas pueden evitarse si se elimina la inmunoglobulina IgG de la muestra, mediante diferentes métodos, antes de analizarla para detectar la presencia de anticuerpos de tipo IgM (20-23). Entre dichos métodos se incluyen la centrifugación en gradientes de densidad de sacarosa (9), la cromatografía de intercambio de iones (12) y la precipitación de la inmunoglobulina IgG con suero de anti-IgG humana (13).

FUNDAMENTO DE LA PRUEBA

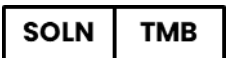
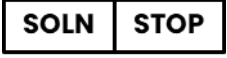
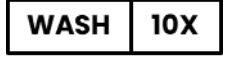
El Anti-Rubella Virus IgM está diseñado para detectar anticuerpos de tipo IgM contra el virus de la rubeola en suero humano. La creación de los pocillos sensibilizados de las tirillas de micropocillos de plástico se llevó a cabo mediante adsorción pasiva con antígeno de la rubeola. El procedimiento de la prueba comprende tres pasos de incubación:

- Los sueros de la prueba se diluyen con el diluyente de muestra que se proporciona. El diluyente de muestra contiene anti-IgG humana, la cual precipita y elimina la IgG y el factor reumatoide de la muestra, de forma que la IgM pueda reaccionar libremente con el antígeno inmovilizado. Durante la incubación de la muestra, los anticuerpos de tipo IgM específicos del antígeno presentes en la muestra se fijarán al antígeno inmovilizado. La placa se lava para eliminar el anticuerpo no fijado y otros componentes séricos.
- Se agrega anti-IgM humana de cabra conjugada con peroxidasa a los pocillos y se incuba la placa. El conjugado reaccionará con el anticuerpo de tipo IgM inmovilizado en la fase sólida del paso 1. Se lavan los micropocillos para eliminar el conjugado que no se haya fijado.
- Los micropocillos que contienen conjugado de peroxidasa inmovilizado se incuban con solución de sustrato de peroxidasa. La hidrólisis del sustrato por la peroxidasa produce un cambio de color. Transcurrido un tiempo, se detiene la reacción y se mide fotométricamente la intensidad del color de la solución. La intensidad del color de la solución depende de la concentración de anticuerpos en la muestra original analizada.

COMPONENTES DEL SISTEMA DE PRUEBAS

Materiales suministrados:

Cada sistema de pruebas contiene los siguientes componentes en cantidad suficiente para realizar el número de pruebas indicado en la etiqueta del envase. **NOTA: los siguientes componentes contienen como conservante azida de sodio a una concentración de <0,1% (p/v): controles, calibrador y diluyente de la muestra.**

Componente del kit	Cantidad	Descripción
		
	1	Placa: 96 micropocillos distribuidos en doce tirillas de 1x8 micropocillos recubiertos con el antígeno del virus de la rubeola. Las tirillas se suministran envasadas en un soporte y selladas en un sobre con desecante.
	1	Conjugado: anti-IgM humana (específica de la cadena μ) de cabra conjugada con peroxidasa de rábano. Frasco de 15 ml con tapón blanco. Listo para usar.
	1	Control positivo (suero humano): vial de 0,35 ml con tapón rojo. Concentrado 21X.
	1	Calibrador (suero humano): vial de 0,5 ml con tapón azul. Concentrado 21X.
	1	Control negativo (suero humano): vial de 0,35 ml con tapón verde. Concentrado 21X.
	1	Diluyente de la muestra: frasco de 30 ml con tapón verde con Tween 20, albúmina sérica bovina y solución salina tamponada con fosfato, y anti-IgG humana de cabra (específica de la cadena γ). Solución de color púrpura. Listo para usar.
	1	TMB: frasco de 15 ml, de color ámbar con tapón ámbar que contiene 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB). Listo para usar.
	1	Solución para detener la reacción: frasco de 15 ml con tapón rojo, con H2SO4 1 M y HCl 0,7 M. Listo para usar.
	1	Tampón de lavado concentrado (10X): diluir 1 parte del concentrado + 9 partes de agua desionizada o destilada. Frasco de 100 ml con tapón transparente, que contiene

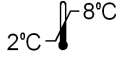
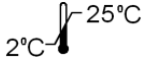
		solución salina tamponada con fosfato concentrada 10X y Tween 20 (solución azul). NOTA: la solución 1X tendrá un pH de 7,2 ± 0,2.
--	--	---

NOTAS: Los siguientes componentes no dependen del número de lote del sistema de pruebas y se pueden usar indistintamente con cualquier sistema de pruebas ELISA de ZEUS: TMB, solución para detener la reacción y tampón de lavado.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

1. Lector de micropocillos ELISA capaz de leer a una longitud de onda de 450 nm. **NOTA: Se podrá usar un lector de longitud de onda única (450 nm) o doble (450/620 – 650 nm). Es preferible la longitud de onda doble, puesto que el filtro de referencia adicional está configurado para disminuir posibles interferencias derivadas de anomalías capaces de absorber luz.**
2. Pipetas capaces de dispensar con exactitud entre 10 y 200 µl.
3. Pipeta multicanal capaz de dispensar con exactitud entre 50 y 200 µl.
4. Depósitos de reactivos para pipetas multicanal.
5. Frasco de lavado o sistema de lavado de micropocillos.
6. Agua destilada o desionizada.
7. Probeta graduada de un litro.
8. Pipetas serológicas.
9. Puntas de pipeta desechables.
10. Toallas de papel.
11. Cronómetro de laboratorio para controlar las etapas de incubación.
12. Recipiente para desechos y desinfectante (es decir: 10 % de lejía de uso doméstico – 0,5 % de hipoclorito de sodio)

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

	Tirillas de micropocillos revestidos: vuelva a sellar inmediatamente las tirillas sobrantes con el secante y devuélvalas al lugar adecuado de almacenamiento. Una vez abiertas, las tirillas son estables durante 60 días siempre y cuando las tirillas indicadoras del envase del desecante permanezcan de color azul.
	Conjugado: NO CONGELAR.
	Sistema de pruebas, calibrador, control positivo, control negativo, TMB y diluyente para muestras sin abrir
	Solución para detener la reacción: 2 – 25°C Tampón de lavado (1X): hasta 7 días entre 20 y 25°C o durante 30 días entre 2 y 8°C. Tampón de lavado (10X): 2 – 25°C

PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico *in vitro*.
2. Se deben seguir las precauciones normales que se utilizan para manipular reactivos de laboratorio. En caso de contacto con los ojos, enjuague inmediatamente con abundante agua y busque asistencia médica. Utilice ropa de protección adecuada, guantes y protección para la cara/ojos. No inhale los vapores. Deshágase de los desechos observando todas las normativas locales, regionales y nacionales.
3. Los micropocillos de la placa ELISA no contienen microorganismos viables. No obstante, considere las tirillas **material con potencial riesgo biológico** y manipúlelas de manera acorde.
4. Los controles son **material con potencial riesgo biológico**. Los materiales a partir de los cuales se obtuvieron estos productos resultaron negativos para el antígeno del VIH-1, el HBsAg y para anticuerpos contra el VHC y el VIH por métodos de prueba homologados. Sin embargo, dado que ningún método de prueba puede ofrecer una garantía total de que no hay agentes infecciosos, estos productos deberán manipularse con un Nivel de bioseguridad 2, tal como se recomienda para cualquier muestra de sangre o suero humano potencialmente infeccioso en el manual de Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos) de los Centros para el Control de Enfermedades / Institutos Nacionales de la Salud: última edición; y en la Norma de la OSHA sobre Patógenos que se transmiten en la sangre (16).
5. Para lograr resultados precisos, es esencial cumplir estrictamente los tiempos y temperaturas de incubación especificados. **Se debe dejar que todos los reactivos alcancen temperatura ambiente (20–25 °C) antes de comenzar el ensayo.** Los reactivos no utilizados deben devolverse a temperatura de refrigeración inmediatamente después de su uso.

6. Un lavado inadecuado podría ocasionar resultados de falsos positivos o falsos negativos. Debe reducirse al mínimo la cantidad de solución de lavado residual (p. ej., mediante secado o aspiración) antes de añadir el conjugado o el sustrato. No permita que los pocillos se sequen entre una incubación y la siguiente.
7. El diluyente para muestras, los controles, y el calibrador contienen azida sódica en una concentración de <0,1% (p/v). Se ha descrito la formación de azidas de plomo o cobre a partir de la azida de sodio en tuberías de laboratorio, lo cual puede causar explosiones al martillar las tuberías. Para evitarlo, enjuague bien el lavabo con agua después de eliminar las soluciones que contengan azida de sodio.
8. La solución para detener la reacción es TÓXICA por inhalación, por contacto con la piel o en caso de ingestión. Provoca quemaduras. En caso de accidente o si se siente mal, solicite asistencia médica inmediatamente.
9. La solución de TMB es NOCIVA. Irritante para los ojos, el sistema respiratorio y la piel.
10. La solución concentrada del tampón de lavado es IRRITANTE. Irritante para los ojos, el sistema respiratorio y la piel.
11. Limpie el fondo de la placa de todo residuo de líquido o huellas de los dedos que puedan alterar las lecturas de la densidad óptica (DO).
12. La dilución o adulteración de estos reactivos puede generar resultados erróneos.
13. No utilice reactivos de otro origen o fabricante.
14. La solución de TMB debe ser incolora o de color amarillo muy claro, verde muy claro o azul muy claro al utilizarla. La contaminación de TMB con el conjugado u otros oxidantes hará que la solución cambie de color prematuramente. No utilice la solución de TMB si tiene un color azul intenso.
15. Nunca pipetee con la boca. Evite el contacto de los reactivos y las muestras de pacientes con la piel y las membranas mucosas.
16. Evite la contaminación microbiana de los reactivos. Esto puede ocasionar resultados incorrectos.
17. La contaminación cruzada de reactivos y/o muestras podría ocasionar resultados erróneos.
18. Los instrumentos de vidrio reutilizables se deben lavar y enjuagar cuidadosamente para eliminar cualquier residuo de detergente.
19. Evite las salpicaduras o la formación de aerosoles.
20. No exponga los reactivos a la luz intensa durante el almacenamiento o la incubación.
21. Permita que las tirillas de micropocillos y su soporte alcancen la temperatura ambiente antes de abrir el sobre protector, a fin de evitar la condensación en los micropocillos.
22. Recoja la solución de lavado en un lavabo de eliminación. Trate la solución de desecho con desinfectante (es decir: 10 % de lejía de uso doméstico – 0,5 % de hipoclorito de sodio) Evite la exposición de los reactivos a los vapores de la lejía.
23. Precaución: neutralice cualquier desecho líquido con pH ácido antes de agregarlo a la solución de lejía.
24. No utilice la placa ELISA si la tirilla indicadora del sobre de desecante ha cambiado de azul a rosado.
25. No permita que el conjugado entre en contacto con recipientes o instrumentos que hayan podido contener previamente una solución que utilice azida de sodio como conservante. Los residuos de azida de sodio pueden destruir la actividad enzimática del conjugado.
26. No exponga ninguno de los reactivos a soluciones que contengan lejía o a ningún olor fuerte de soluciones que contengan lejía. Los restos de lejía (hipoclorito de sodio), incluso a nivel de trazas, pueden destruir la actividad biológica de muchos de los reactivos incluidos en este sistema de pruebas.

RECOGIDA DE LAS MUESTRAS

1. ZEUS Scientific recomienda que el usuario realice la recolección de muestras conforme al documento M29 del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI): Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease (Protección de los trabajadores de laboratorio frente a las enfermedades infecciosas).
2. Ningún método de prueba puede ofrecer una garantía completa de que las muestras de sangre humana no transmitirán infecciones. Por lo tanto, todos los derivados de la sangre deben considerarse potencialmente infecciosos.
3. Con este ensayo solamente deben utilizarse sueros recién extraídos y debidamente refrigerados que se hayan obtenido mediante procedimientos homologados de venopunción aséptica (14). No los utilice si se han agregado anticoagulantes o conservantes. Evite utilizar sueros hemolizados, lipémicos o contaminados con bacterias.
4. Almacene la muestra a temperatura ambiente durante un lapso no superior a las 8 horas. Si la prueba no se realiza dentro de las 8 horas, el suero puede almacenarse a entre 2 – 8° C, durante un lapso no superior a las 48 horas. Si tiene previsto retrasar la realización de la prueba, conserve los sueros de la prueba a –20 °C o a temperaturas inferiores. Evite múltiples ciclos de congelación/descongelación que puedan ocasionar la pérdida de actividad de los anticuerpos y dar lugar a resultados erróneos. Es responsabilidad del laboratorio individual usar todas las referencias disponibles o sus propios estudios para determinar los criterios de estabilidad para su laboratorio (17).

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

1. Retire los componentes individuales del kit del almacenamiento y permita que alcancen la temperatura ambiente (20 – 25 °C).
2. Determine el número de micropocillos necesarios. Calcule seis determinaciones de control o calibrador (un blanco de reactivo, un control negativo, tres calibradores y un control positivo) por serie. En cada prueba se debe analizar un blanco de reactivo. Compruebe que las configuraciones de controles y calibrador sean correctas en los requisitos del programa y del lector. Devuelva las tirillas no usadas a la bolsa resellable con desecante, séllela y devuélvala a su almacenamiento entre 2 y 8 °C.

EJEMPLO DE CONFIGURACIÓN DE LA PLACA		
	1	2
A	Blanco	Paciente 3
B	Control negativo	Paciente 4
C	Calibrador	etc.
D	Calibrador	
E	Calibrador	
F	Control positivo	
G	Paciente 1	
H	Paciente 2	

3. Prepare una dilución 1:21 (por ejemplo: 10 µl de suero + 200 µl de diluyente para muestras) del control negativo, del calibrador, del control positivo y de cada suero de paciente.
4. A cada micropocillo se añaden 100 µl de cada control diluido, calibrador y muestra de paciente. Compruebe que las muestras estén bien mezcladas. Utilice una punta de pipeta diferente para cada muestra.
5. Añada 100 µl de diluyente para muestras al micropocillo A1 como blanco de reactivo. Compruebe que la configuración del micropocillo del blanco de reactivo sea correcta en los requisitos del programa y del lector.
6. Incube la placa a temperatura ambiente (20 – 25 °C) durante 25 ± 5 minutos.
7. Lave las tirillas de micropocillos 5 veces.

a. **Procedimiento de lavado manual:**

1. Agite la placa para eliminar el líquido de todos los micropocillos.
2. Llene cada micropocillo con solución tampón de lavado. Asegúrese de que no queden burbujas de aire atrapadas en los micropocillos.
3. Repita los pasos 1. y 2. para un total de 5 lavados.
4. Agite la placa para eliminar la solución de lavado de todos los micropocillos. Invierta la placa sobre una toalla de papel y dele unos golpes secos para eliminar cualquier residuo de solución de lavado de los micropocillos. Inspeccione visualmente la placa para asegurarse de que no queden residuos de la solución de lavado. Recoja la solución de lavado en un recipiente desechable y trátela con desinfectante al final de la jornada de trabajo.

b. **Procedimiento de lavado automático:**

Si está utilizando un sistema automático de lavado, ajuste el volumen dispensado en 300–350 µl/micropocillo. Ajuste el ciclo de lavado para 5 lavados, sin interrupción entre los mismos. En caso necesario, se puede extraer la placa de micropocillos del lavador, invertirla sobre una toalla de papel y golpearla con firmeza para eliminar cualquier residuo de solución de lavado de los micropocillos.

8. Agregue 100 µl de conjugado a cada micropocillo, incluido el micropocillo del blanco de reactivo, a la misma velocidad y en el mismo orden en que se agregaron las muestras.
9. Incube la placa a temperatura ambiente (20 – 25 °C) durante 25 ± 5 minutos.
10. Lave los micropocillos siguiendo el procedimiento descrito en el paso 7.
11. Agregue 100 µl de TMB a cada micropocillo, incluido el micropocillo del blanco de reactivo, a la misma velocidad y en el mismo orden en que se agregaron las muestras.
12. Incube la placa a temperatura ambiente (20 – 25 °C) entre 10 y 15 minutos.
13. Detenga la reacción añadiendo 50 µl de la solución para detener la reacción a cada micropocillo, incluido el micropocillo del blanco de reactivo, a la misma velocidad y en el mismo orden en que se agregó la TMB. Las muestras positivas cambiarán de azul a amarillo. Después de agregar la solución para detener la reacción, dé unos cuantos golpes secos a la placa para asegurarse de que las muestras estén bien mezcladas.
14. Ajuste la longitud de onda del lector de micropocillos a 450 nm y mida la densidad óptica (DO) de cada micropocillo con respecto al blanco de reactivo. Lea la placa en los 30 minutos posteriores a la adición de la solución para detener la reacción.

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA ABREVIADO

1. Diluya el suero 1:21.
2. Añada la muestra diluida al micropocillo – 100 µl/micropocillo.

3. $\longrightarrow$ Incube durante 25 ± 5 minutos.
4. Lave.
5. Añada el conjugado - 100 μ l/micropocillo.
6. $\longrightarrow$ Incube durante 25 ± 5 minutos.
7. Lave.
8. Añada la TMB - 100 μ l/micropocillo.
9. $\longrightarrow$ Incube durante 10 - 15 minutos.
10. Añada la solución para detener la reacción - 50 μ l/micropocillo - Mezcle.
11. LEA en el transcurso de 30 minutos.

CONTROL DE CALIDAD

1. El calibrador se debe analizar por triplicado cada vez que se realiza esta prueba. También se deben incluir un blanco de reactivo, el control negativo y el control positivo.
2. Calcule la media de los micropocillos de los tres calibradores. Si alguno de los tres valores difiere de la media más del 15%, deséchelo y calcule la media de los dos valores restantes.
3. El valor medio de la DO del calibrador, del control negativo y del control positivo deben quedar dentro de los intervalos siguientes:

	<u>Intervalo de DO</u>
Control negativo	$\leq 0,250$
Calibrador	$\geq 0,300$
Control positivo	$\geq 0,500$

- a. El valor de la DO para el control negativo dividido entre la media de la DO del calibrador debe ser $\leq 0,9$.
- b. El valor de la DO para el control positivo dividido entre la media de la DO del calibrador debe ser $\geq 1,25$.
- c. Si no se cumplen las condiciones anteriores, la prueba no se debe considerar válida y se debe repetir.
4. Los controles negativo y positivo sirven para verificar fallos sustanciales de los reactivos, pero no aseguran la precisión en el límite de referencia de la prueba.
5. Es posible analizar controles adicionales siguiendo las directrices o los requisitos de las normativas locales, regionales o nacionales, o de las organizaciones acreditadas.
6. Consulte el documento C24 del CLSI: Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures (Control de calidad estadístico para procedimientos de determinación cuantitativa) para obtener información sobre las prácticas de control de calidad apropiadas.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

1. Cálculos

- a. **Factor de corrección:** El fabricante ha determinado un valor de DO como límite de referencia para las muestras positivas y lo ha correlacionado con el calibrador. El factor de corrección (FC) permite calcular el límite de referencia de las muestras positivas. Asimismo, permite corregir las pequeñas variaciones cotidianas de los resultados de las pruebas. El factor de corrección se determina para cada lote de componentes del kit y está impreso en la etiqueta de componentes que se encuentra en la caja del sistema de pruebas.
- b. **Límite de referencia de la DO:** Para obtener el límite de referencia de la DO, multiplique el FC por la media de la DO del calibrador determinado anteriormente.
($FC \times \text{media de DO del calibrador} = \text{límite de referencia de la DO}$)
- c. **Valores índice/cocientes de DO:** Calcule el valor índice/cociente de DO de cada muestra dividiendo su valor de DO por el límite de referencia de la DO del paso b.

Ejemplo:	DO media del calibrador	=	0,793
	Factor de corrección (FC)	=	0,25
	Límite de referencia de la DO	=	$0,793 \times 0,25 = 0,198$
	DO de muestra desconocida	=	0,432
	Valor índice/cociente de DO de la muestra	=	$0,432/0,198 = 2,18$

2. **Interpretaciones:** Los valores índice/cocientes de DO se interpretan como se indica a continuación:

	Valor índice/cociente de DO
Muestras negativas	$\leq 0,90$

Muestras dudosas	0,91 a 1,09
Muestras positivas	≥1,10

- Un cociente de DO $\leq 0,90$ indica que no se ha detectado una cantidad significativa de anticuerpos de tipo IgM antirubeola. Un resultado negativo indica que no hay infección actual por la rubeola. No obstante, las muestras que se obtienen demasiado temprano durante una infección primaria pueden no tener niveles detectables de anticuerpos IgM. Si el profesional sanitario sospecha de la existencia de una infección primaria, deberá volver a tomar otra muestra en los siete días siguientes para someterla a prueba en el mismo ensayo junto con la muestra original, a fin de determinar la seroconversión.
- Un cociente de DO $\geq 1,10$ indica que se han detectado anticuerpos de tipo IgM específicos contra la rubeola. Un resultado positivo de la prueba indica una infección primaria o reactivada por la rubeola. Se considera que estas personas tienen riesgo de transmitir la infección por rubeola, pero no son necesariamente contagiosas en el momento actual.
- Las muestras con cociente de DO en el margen de resultado dudoso (0,91-1,09) deberán volver a analizarse por duplicado. Documente cualesquiera dos de los tres resultados que concuerden. Repita la evaluación de las muestras dudosas utilizando un método serológico alternativo y/o repita la evaluación extrayendo otra muestra entre una y tres semanas más tarde.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

- Los resultados del Anti-Rubella Virus IgM no constituyen un diagnóstico por sí mismos. Interprete los resultados de forma conjunta con la situación clínica del paciente y con los resultados de otros procedimientos de diagnóstico.
- Los anticuerpos de tipo IgG específico contra el virus de la rubeola pueden competir con los anticuerpos de tipo IgM por los sitios de unión al antígeno y provocar resultados negativos falsos. Si está presente el factor reumatoide junto con los anticuerpos de tipo IgG específicos del virus de la rubeola pueden producirse resultados positivos falsos. El diluyente de la muestra contiene un absorbente que elimina los anticuerpos de tipo IgG de la muestra y reduce significativamente la incidencia de los resultados falsos positivos o falsos negativos.
- Pueden producirse respuestas de anticuerpos IgM heterotípicos en pacientes infectados por el virus de Epstein-Barr, y los sueros de pacientes con mononucleosis infecciosa pueden tener resultados positivos falsos en el sistema de pruebas ELISA Rubella IgM (15).
- Las muestras que se recolecten demasiado temprano en la evolución de una infección primaria pueden no tener niveles detectables de IgM específicos del virus de la rubeola. Un resultado negativo no descarta una infección primaria por el virus de la rubeola.
- El Anti-Rubella Virus IgM no distingue la diferencia entre los anticuerpos inducidos por la vacuna y los anticuerpos generados a consecuencia de una infección natural.
- En los pacientes con enfermedades autoinmunitarias pueden obtenerse resultados positivos falsos de IgM antirubeola.
- No se ha validado el funcionamiento del Anti-Rubella Virus IgM utilizando muestras de pacientes neonatos.

RESULTADOS ESPERADOS

Durante una infección primaria por el virus de la rubeola, los anticuerpos IgM específicos del virus se hacen detectables a los dos a cinco días del inicio del exantema (9). Los anticuerpos IgM específicos siguen siendo detectables durante un mes, pero pueden persistir más de 6 meses en algunos pacientes (9).

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

1. Estudios comparativos

Se comparó el Anti-Rubella Virus IgM con otro sistema de pruebas Rubella IgM ELISA disponible en el mercado para la detección de anticuerpos IgM antirubeola, usando un total de 229 muestras de suero de dos centros de plasma del sudeste de los Estados Unidos y de un laboratorio de referencia. También se incluyeron nueve muestras de una vacuna del virus de la rubeola. Todas las muestras se evaluaron mediante ambos sistemas de pruebas. Los resultados del estudio comparativo se resumen en la Tabla 1.

Panel de seroconversión para el virus de la rubeola:

Se evaluaron nueve muestras consecutivas de un paciente inmunizado con la vacuna del virus de la rubeola utilizando el Anti-Rubella Virus IgM y el sistema de pruebas Rubella IgM ELISA de referencia. Además, cada muestra del panel se analizó utilizando el sistema de pruebas Anti-Rubella Virus IgG. Los resultados del estudio comparativo se resumen en la Tabla 2. El Anti-Rubella Virus IgM identificó la segunda muestra extraída como positiva, mientras que el sistema IgM ELISA de referencia la identificó como dudosa. La tercera muestra extraída fue positiva en ambos ensayos de IgM antirubeola. No se identificó la positividad para la IgG antirubeola hasta la cuarta muestra extraída.

Tabla 1: Comparación entre el Anti-Rubella Virus IgM y el Rubella IgM ELISA de referencia

	Anti-Rubella Virus IgM
--	------------------------

		Positivo	Negativo	Dudoso*	Total
Rubella IgM ELISA de referencia	Positivo	33	0	0	33
	Negativo	5	173	6	184
	Dudoso*	8	2	2	12
	Total	46	175	8	229

*Los cálculos no incluyen las muestras dudosas.

Sensibilidad relativa = 33/33 (100%)

Especificidad relativa = 173/178 (97,2%)

Porcentaje de

concordancia = 206/211 (98,6%)

Tabla 2: Resumen de la reactividad del panel de seroconversión para el virus de la rubeola

ID de la muestra	Fecha de extracción	ELISA IgM de ZEUS	ELISA IgM comercial	ELISA IgG de ZEUS
SC1	11/30/90	0,214 (Negativo)	Negativo	0,114 (Negativo)
SC2	12/05/90	1,862 (Positivo)	Dudoso	0,195 (Negativo)
SC3	12/07/90	1,857 (Positivo)	Positivo	0,835 (Negativo)
SC4	12/12/90	2,610 (Positivo)	Positivo	1,441 (Positivo)
SC5	14/12/1990	1,983 (Positivo)	Positivo	1,384 (Positivo)
SC6	19/12/1990	1,494 (Positivo)	Dudoso	1,823 (Positivo)
SC7	21/12/1990	1,324 (Positivo)	Positivo	2,052 (Positivo)
SC8	26/12/1990	1,104 (Positivo)	Dudoso	2,295 (Positivo)
SC9	28/12/1990	0,780 (Negativo)	Negativo	1,785 (Positivo)

2. Precisión y reproducibilidad:

Se analizaron cinco muestras a fin de determinar la variación intraensayo e interensayos. Las muestras se clasificaron según se indica a continuación: uno - negativo; dos - negativo cerca de la zona dudosa; tres - dudoso; cuatro - positivo alto y seis - positivo bajo. En cada uno de los tres días, se analizó cada muestra una vez al día, ocho veces cada una, en cada lote maestro. Un responsable calculó el cociente de DO medio y el coeficiente de variación de los datos resultantes. A continuación se presenta un resumen de los resultados del experimento.

Tabla 3: Resumen de la prueba de variabilidad

	Lote A				Lote B				Lote C				Interensayos	
	Día uno		Día dos		Día uno		Día dos		Día uno		Día dos			
Muestr a	Cocient e	% C V	Cocient e	% C V	Cocient e	% CV	Cocient e	% CV	Cocient e	% C V	Cocient e	% C V	Cocient e	% CV
1	0,105	27	0,047	31	0,040	60	0,090	23	0,026	31	0,073	87	0,06	48
2	0,751	3,1	0,655	5, 5	0,539	7,1	0,732	13, 9	0,540	5,7	0,795	3, 6	0,669	16, 4
3	1,010	2, 8	0,987	8, 3	1,020	10,1	1,010	2,5	1,010	1,2	0,926	9, 2	0,994	3,5
4	2,000	1,2	1,970	9, 3	2,170	<0, 1	2,160	9,1	2,030	11, 3	1,870	3, 4	2,033	5,7
5	1,520	2,1	1,290	3,2	1,390	7,3	1,360	5,4	1,340	9, 6	1,280	5,1	1,347	4,1

3. Reactividad cruzada

Se llevaron a cabo estudios de reactividad cruzada para valorar la interferencia en el procedimiento de la prueba por el factor reumatoide (FR), los anticuerpos IgM frente al EBV (virus de Epstein-Barr) y los anticuerpos frente a los antígenos nucleares (ANA). Se analizaron veintiocho muestras con positividad para el FR en la prueba de aglutinación del látex (1:20 - 1:640) utilizando el Anti-Rubella Virus IgM. Ninguna de las 28 muestras fue positiva. Dos de las muestras fueron dudosas en el Anti-Rubella Virus IgM; una de las dos muestras también fue dudosa en la prueba Rubella IgM ELISA de comparación. Ocho de las nueve muestras que contenían anticuerpos IgM contra el VEB (intervalo del título por IFA = 1:10 - 1:2560) fueron negativas en el Anti-Rubella Virus IgM. Una muestra IgM-VEC (1:5120) fue positiva. Cuarenta y cinco de 46 muestras con positividad para ANA fueron negativas cuando se analizaron

con el Anti-Rubella Virus IgM. Una muestra, que presentaba un patrón homogéneo (1:1280) y una débil tinción citoplásmica (1:40) fue positiva. Estos estudios indican que la interferencia del FR, IgM anti-VEB y ANA en el procedimiento de prueba es mínima.

REFERENCIAS

1. Cooper LZ: The history and medical consequences of rubella. Rev. Infect. Dis. 7:502-510, 1985.
2. Assad F, and Ljungars-Esteves K: Rubella - World impact. Rev. Infect. Dis. 7:529-536, 1985.
3. Cooper LZ, Greene RH, Krugman S, Giles JP, and Mirick GS: Neonatal thrombocytopenic purpura and other manifestations of rubella contracted *in utero*. Am. J. Dis. Child. 110:416-427, 1965.
4. Miller E, Cradock-Watson JE, and Pollock IM: Consequences of confirmed maternal rubella at successive stages of pregnancy. Lancet 2:782-784, 1982.
5. Hinman AR, Bart KJ, Orenstein WA, and Preblub SR: Rational strategy for rubella vaccination. Lancet 1:39-41, 1983.
6. Herrman KL: Rubella virus. In: Lennette EH, Balows A, Hausler WJ, and Shadomy HJ, eds. Manual of Clinical Microbiology, American Society for Microbiology, Washington, DC, pp.779-784, 1985.
7. Herrman KL: Available rubella serologic tests. Rev. Infect. Dis. 7:5108-5112, 1985.
8. Vaheri A, and Salonen EM: Evaluation of solid-phase enzyme immunoassay procedure in immunity surveys and diagnosis of rubella. J. Med. Virol. 5:171-181, 1980.
9. Enders G, Knotek F, and Pacher U: Comparison of various serological methods and diagnostic kits for the detection of acute, recent, and previous rubella infection, vaccination, and congenital infections. J. Med. Virol. 16:219-232, 1985.
10. Fraser KB, Shirodaria PV, and Stanford CF: Fluorescent staining and human IgM. Br. Med. J. 3:707, 1971.
11. Salonen EM, Vaheri A, Suni J, and Wager O: Rheumatoid factor in acute viral infections: Interference with determination of IgM, IgG, and IgA antibodies in enzyme immunoassay. J. Infect. Dis. 142:250-255, 1980.
12. Johnson RB, and Libby R: Separation of immunoglobulin M (IgM) essentially free of IgG from serum for use in systems requiring assay of IgM-type antibodies without interference from rheumatoid factor. J. Clin. Micro. 12:451-454, 1980.
13. Lennette DA: Collection and preparation of specimens for virological examination. in: EH Lennette, A Balows, WJ Hausler, and HJ Shadomy, eds. Manual of Clinical Microbiology, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, DC: ch 61, p 687-693, 1985.
14. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens. NCCLS Document H-18, Approved Guideline.
15. Morgan-Capner P, Tedder RS, and Mace JE: Rubella-specific IgM reactivity in sera from cases of infectious mononucleosis. J. Hyg. (Camb) 90:407-413, 1983.
16. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration: Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule. Fed. Register 56:64175-64182, 1991.
17. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guidelines - 4th Edition (2010). CLSI Document GP44-A4 (ISBN 1-56238-724-3). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087.

GLOSARIO DE SÍMBOLOS

Los siguientes símbolos pueden haber sido utilizados en el etiquetado de este producto.

Símbolo	Descripción	Símbolo	Descripción
	Fabricante		Mantener alejado de la luz solar
IVD	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro	PLATE	Placa
REF	Número de catálogo	CONJ	Conjugado
Σ_n	Suficiente para n pruebas	CTRL +	Control positivo
LOT	Código de lote	CTRL -	Control negativo
	Usar antes de	CAL	Calibrador
	Limitaciones de temperatura de almacenamiento	DIL SPE	Diluyente de la muestra
CONT	Contenido	SOLN TMB	TMB
UDI	Identificador único de dispositivo	SOLN STOP	Solución de detención
	Consulte las advertencias y precauciones	WASH 10X	Solución amortiguadora de lavado (10X)
	Consulte las instrucciones electrónicas de uso	ES	Español
	Guardar en posición vertical	Made in the USA	Fabricado en EE. UU.
RX Only	Aplicable en Estados Unidos: Producto de diagnóstico in vitro de prescripción.		Corrosivo
	Comunicación de riesgos		



ZEUS Scientific

200 Evans Way, Branchburg, New Jersey, 08876, USA

Toll Free (U.S.): 1-800-286-2111, Option 2

International: +1 908-526-3744

Fax: +1 908-526-2058

Website: www.zeusscientific.com

Para atención al cliente en EE. UU., póngase en contacto con su distribuidor local. Para soporte técnico en EE. UU., póngase en contacto con ZEUS Scientific, llame al número gratuito o envíe un correo electrónico a support@zeusscientific.com.

Para consultas de atención al cliente y soporte técnico fuera de EE. UU., póngase en contacto con su filial o distribuidor autorizado de Sebia.

©2025 ZEUS Scientific. Todos los derechos reservados.