

Bioclin

BIOLISA RUBÉOLA IgM

REF **K320**

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Teste imunoenzimático captura (ELISA) para determinação de anticorpos da classe IgM anti-Rubéola em amostras de soro ou plasma. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Enzimaimunoensaio ou imunoenzimático
O kit BIOLISA Rubéola IgM é um ensaio imunoenzimático em fase sólida baseado no princípio de detecção qualitativa por captura de anticorpos IgM para Rubéola em amostras humanas de soro ou plasma. Anticorpos IgM presentes na amostra se ligam aos anticorpos anti-IgM revestidos na microplaca formando imunocomplexos. Após a incubação inicial, a microplaca é lavada para remover os materiais não ligados. Antígenos de Rubéola conjugados à peroxidase são adicionados à microplaca que é então incubada. Os antígenos conjugados a enzima ligam-se aos anticorpos IgM anti-Rubéola presentes, ligados à placa revestida com anticorpos anti-IgM. Nova lavagem é realizada para remover os excedentes. Após esta etapa, o substrato é adicionado e incubado, produzindo uma cor azul que indica a quantidade de anticorpos IgM anti-Rubéola presentes na amostra. A solução de parada é adicionada para interromper a reação havendo uma mudança de cor de azul para amarelo, medida em um leitor de microplaca.

REAGENTES

1- Placa Sensibilizada - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Placa sensibilizada com anticorpos anti-IgM.

2- Conjugado - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução tampão, antígenos de Rubéola conjugados à peroxidase, surfactante, estabilizantes, corante e conservante.

3- Lavagem Concentrada - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução tampão (fosfato < 0,5 mol/L, cloreto de potássio < 100 mmol/L, cloreto de sódio < 5 mol/L), surfactante e conservante.

4- Diluente de Amostra - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução tampão, estabilizantes, surfactante e conservante.

5- Substrato - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução tampão contendo peróxido de uréia, tetrametilbenzidina (TMB) e conservante.

6- Solução de Parada - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Ácido clorídrico 1 M.

7- Controle Negativo - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução tampão, estabilizante, surfactante e conservante. **Potencialmente infectante.**

8- Controle Positivo - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Anticorpos IgM anti-Rubéola, solução tampão, corante, estabilizantes, surfactante e conservante. **Potencialmente infectante.**

APRESENTAÇÃO

REAGENTES	1	2	3
	96 Cavidades	192 Cavidades	480 Cavidades
1- Placa Sensibilizada	1 Unidade	2 Unidades	5 Unidades
2- Conjugado	1 Frasco x 12 mL	1 Frasco x 24 mL	1 Frasco x 60 mL
3- Lavagem Concentrada	1 Frasco x 50 mL	1 Frasco x 100 mL	1 Frasco x 250 mL
4 - Diluente de Amostra	1 Frasco x 25 mL	1 Frasco x 50 mL	1 Frasco x 110 mL
5- Substrato	1 Frasco x 12 mL	1 Frasco x 24 mL	1 Frasco x 60 mL
6- Solução de Parada	1 Frasco x 12 mL	1 Frasco x 24 mL	1 Frasco x 60 mL
7- Controle Negativo	1 Frasco x 300 µL	1 Frasco x 300 µL	1 Frasco x 1 mL
8- Controle Positivo	1 Frasco x 300 µL	1 Frasco x 300 µL	1 Frasco x 1 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Materiais contidos no kit:

- Reagentes descritos no quadro anterior.

Materiais necessários, não contidos nos kit:

- Pipetas capazes de dispensar volumes de 5 a 300 µL com coeficiente de variação menor que 1,5%.
- Repipetador para pipetagens repetitivas de volumes de 300 µL com coeficiente de variação menor que 1,5% ou pipeta multicanal (opcional).
- Lavadora de microplaca (opcional).
- Leitora de ELISA com capacidade de absorvância em 450 e 630 nm de comprimento de onda.
- Papel absorvente para secar as microcavidades.
- Cronômetro ou relógio.
- Frasco para estocar a Solução de Lavagem após diluição.
- Água destilada ou deionizada.
- Ferramentas de Controle de Qualidade.
- Incubadora 37 °C ± 2 °C.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8 °C. O transporte em temperaturas até 30 °C não deverá exceder 5 dias. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade. **Não congelar.**

CUIDADOS ESPECIAIS

- Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.**
- Seguir com rigor a metodologia proposta para a obtenção de resultados exatos.
- O sachê contendo a microplaca deve ser aberto somente após atingir a temperatura ambiente. Recolocar as tiras de microcavidades não utilizadas no sachê, vedar e conservar entre 2 e 8 °C.
- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de contaminantes.
- Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, ions diversos, e agentes oxidantes e redutores que podem alterar de forma significativa os resultados.
- A Solução de Parada contém Ácido Clorídrico que é um ácido forte. Portanto, manuseá-lo com devido cuidado.
- Toda matéria-prima do produto é testada sendo não reagente para HBsAg, Anti-HIV e Anti-HCV. Entretanto, esses testes não

oferecem total segurança da ausência de agentes infecciosos. A manipulação de todo produto que contém amostra biológica é potencialmente capaz de transmitir doenças. Portanto, é preciso tomar os devidos cuidados de biossegurança na manipulação desses produtos.

8- Pipetar os reagentes sempre na mesma ordem para minimizar a diferença de tempo de reação entre as microcavidades.

9- Por medida de proteção, deve-se cobrir a placa durante a reação.

10- Deve-se assegurar que o fundo da cavidade esteja limpo e seco e que não haja bolhas na superfície do líquido antes de ler a placa. Não permitir que as cavidades sequem durante o ensaio.

11- Não exponha os reagentes, especialmente o Substrato, à luz forte ou vapores de hipoclorito durante o armazenamento ou etapas de incubação.

12- Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.

13- Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FDS (Ficha com Dados de Segurança) disponibilizadas no site www.bioclin.com.br ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

14- Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.

15- É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

AMOSTRAS

Soro ou Plasma (EDTA ou Heparina)

Amostras hemolisadas ou altamente lipêmicas não devem ser usadas. As amostras podem ser conservadas sob refrigeração, entre 2 e 8°C, pelo período máximo de 5 dias. Se as amostras não puderem ser analisadas dentro de 5 dias, podem ser estocadas por até 30 dias a temperatura de -20°C. Amostras de plasma armazenadas por períodos superiores ao preconizado (30 dias) e amostras coletadas com outros anticoagulantes diferentes dos citados, não devem ser utilizadas.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

Estabilidade Após Aberto

Os resultados do teste de estabilidade comprovam que o kit BIOLISA RUBÉOLA IgM é estável após aberto por até 30 dias. Esta estabilidade pode variar de acordo com as condições do teste e do ambiente. Portanto, sugere-se acompanhar o desempenho do produto utilizando controles internos do kit e os critérios de validação da técnica.

PREPARO DOS REAGENTES DE TRABALHO

Solução de Lavagem

Diluir o conteúdo do frasco N° 4 (Lavagem Concentrada) na proporção 1:20 de água destilada ou deionizada; por exemplo: 50 mL de solução de Lavagem Concentrada em 1000 mL de água destilada ou deionizada. Após o preparo, a solução pode ser estocada entre 2 e 30 °C por até 30 dias. Caso ocorra cristalização, aquecer a 37 °C até dissolução.

Todos os demais reagentes são prontos para uso.

TÉCNICA

Para uso em equipamentos automáticos, consulte ao SAC (Serviço de Assessoria de Cliente).

Antes de iniciar o ensaio, colocar reagentes, Controles e Amostras para estabilizarem em temperatura ambiente (15 – 30 °C) por no mínimo 40 minutos.

1- Separar as cavidades a serem utilizadas considerando: Controles e Amostras (recomenda-se testar em duplicata). Retornar as tiras não utilizadas da microplaca para a embalagem original selada.

2- Separar a primeira cavidade para o Branco (OPCIONAL).

3- Pipetar 100 µL de Diluente de Amostra, inclusive na cavidade

para o Branco.

4- Pipetar 5 µL de Amostra e Controles nas cavidades previamente determinadas. Observar a mudança de cor do líquido no momento da adição da amostra. A mudança de cor indica que a amostra foi adicionada ao poço corretamente.

5- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos, cobrir as cavidades com selador de placas.

6- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37 °C ± 2 °C.

7- Retirar o selador das cavidades.

8- Descartar o conteúdo das cavidades por aspiração (Lavadora) ou por decantação (Manual). Usar 300 µL aproximadamente de Solução de Lavagem, **previamente preparada**, e efetuar um total de cinco (5) ciclos de lavagem com agitação (shake) de 5 segundos. Para a garantia da secagem da placa, ao final da lavagem, bater a placa por alguns segundos em papel absorvente.

Nota: Lavagem/secagem deficiente pode causar resultados inadequados.

9- Pipetar 100 µL de Conjugado em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco.

10- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.

11- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37 °C ± 2 °C.

12- Retirar o selador de placa das cavidades.

13- Repetir o item 8.

14- Pipetar 100 µL de Substrato em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco.

15- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.

16- Incubar por 10 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37 °C ± 2 °C.

17- Retirar o selador de placa das cavidades.

18- Pipetar 100 µL de Solução de Parada em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco.

19- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos.

20- Ler utilizando filtro duplo: 450 nm / 630 nm em até 15 minutos (no máximo).

VERIFICAÇÃO DA TÉCNICA

Verifique se os resultados obtidos para leitura do Branco, Controles e Padrões Referência estão compatíveis com os valores apresentados abaixo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Branco	< 0,150
Controle Negativo	< 0,150
Controle Positivo	> 1,000

Caso os valores se encontrem fora dos valores esperados, deve-se repetir a técnica.

CÁLCULOS

QUALITATIVO

Calcular Cut Off de acordo com a seguinte fórmula:

Cut Off = (Absorbância Média do Controle Positivo x 0,1) + 0,200.

Exemplo:

ITEM	ABSORBANCIAS
Controle Positivo	2,125
	2,120
Cut Off = (Absorbância Média do Controle Positivo x 0,1) + 0,200	Cut Off = ((2,125 + 2,120) / 2 x 0,100) + 0,200 Cut Off = 0,412

Calcular o Índice dividindo a absorbância da amostra pelo valor de Cut Off.

Exemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Amostra	1,421
Valor de Cut Off	0,412
Índice = Amostra / Valor de Cut Off	1,421/ 0,412 = 3,45

Nota: Os dados apresentados nos exemplos são apenas para ilustração e não podem ser usadas para cálculo dos resultados. Cada laboratório deverá validar o cut off conforme instrumentação utilizada e população pesquisada.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Após o cálculo do índice das amostras, considerar os índices abaixo para determinação dos resultados.

RESULTADOS	QUALITATIVO
	ÍNDICE
Negativo (Não Reagente)	≤ 0,8
Indeterminado	0,8 – 1,2
Positivo (Reagente)	≥ 1,2

Amostras com índice superior ou igual a 1,2 são consideradas como positivas, amostras com índice inferiores ou igual a 0,8 são consideradas como negativas e amostras que apresentam índice entre 0,8 e 1,2 são consideradas indeterminadas. Dessa forma, temos que a amostra citada no exemplo, cuja absorbância foi 1,421 e índice de 3,45, apresenta resultado positivo (índice ≥ 1,2).

Observações: No caso de resultado indeterminado, a amostra deve ser reanalisada. As amostras que obtiverem resultados repetidamente indeterminados devem ser retestadas utilizando um método alternativo. Se os resultados permanecerem indeterminados, deve-se coletar uma nova amostra em duas semanas. Deve prevalecer o resultado da última amostra coletada. A interpretação de um teste diagnóstico não deve ser estabelecida com base em um único ensaio. Devem-se incluir outros testes de confirmação antes que uma amostra seja considerada positiva. Um resultado negativo não exclui a possibilidade de exposição. Todos os resultados devem ser interpretados em conjunto com outras informações clínicas disponíveis, antes do diagnóstico descritivo da doença. Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

Os anticorpos IgM ficam presentes no soro, plasma e sangue total por período curto de tempo, desaparecendo até seis meses após a infecção, enquanto os anticorpos IgG permanecem presentes por longo período de tempo. Entretanto, a alta sensibilidade das novas metodologias de diagnóstico, em alguns casos, permite encontrar níveis muito baixos de anticorpos IgM, denominados IgM residuais, por um maior período de tempo. A detecção destes anticorpos IgM residuais dificulta a interpretação clínica sobre o período de infecção. Nestes casos, para confirmação do resultado, é recomendado a realização de

teste de avidéz de IgG. A interpretação de um teste diagnóstico, não deve ser estabelecida com base em um único ensaio. Devem-se incluir outros testes de confirmação, antes que uma amostra seja considerada positiva. Um resultado negativo não exclui a possibilidade de exposição. Todos os resultados devem ser interpretados em conjunto com outras informações clínicas disponíveis antes do diagnóstico definitivo da doença.

INTERFERENTES

Nenhuma interferência foi observada para as concentrações de Triglicérides 1200 mg/dL, Ácido Acetilsalicílico 20 mg/dL, Ácido Ascórbico 2 g/dL, Creatina 200 mg/dL, Bilirrubina 1 g/dL, Albumina 2 g/dL, Hemoglobina 1000 mg/dL, Ácido Oxálico 60 mg/dL, Fator Reumatoide 980 UI/mL, Proteína C Reativa 41,2 mg/dL e Anti-Estreptolisina O 1023 UI/mL.

REATIVIDADE CRUZADA

Foi realizado um estudo com 49 amostras de soro/plasma negativas para Rubéola IgM, mas positivas para outras infecções, a fim de se avaliar a possibilidade de reatividade cruzada destes interferentes no resultado do kit BIOLISA RUBÉOLA IgM. Dentre elas 5 amostras positivas para HTLV, 6 amostras positivas para Sífilis, 6 amostras positivas para HBsAg, 5 amostras positivas para HCV, 6 amostras positivas para Doença de Chagas, 6 amostras positivas para Zika, 5 amostras positivas para Toxoplasmose, 5 amostras positivas para CMV e 5 amostras positivas para HIV. Não foi observado reatividade cruzada com amostras positivas para HTLV, Sífilis, HBsAg, HCV, Doença de Chagas, Zika, Toxoplasmose, CMV e HIV. Apesar dos resultados encontrados, não se pode descartar completamente a possibilidade de reatividade cruzada. O diagnóstico final deve considerar os dados clínicos do paciente juntamente com outros dados laboratoriais.

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

O Laboratório Clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, onde procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente estabelecidos. É importante ressaltar que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica característica, que deve ser monitorada pelos próprios laboratórios. Para tanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens.

DESEMPENHO DO PRODUTO

PRECISÃO Repetibilidade

A repetibilidade foi calculada a partir de 10 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com valores diferentes, obtendo-se os seguintes resultados de absorbância:

Repetibilidade	AMOSTRA		
	1	2	3
Média	1,791	0,085	0,053
Desvio Padrão	0,049	0,005	0,003
Coefficiente de Variação (%)	2,76	6,29	5,69

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 10 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com valores diferentes, obtendo-se os seguintes resultados de absorbância:

Reprodutibilidade	AMOSTRA		
	1	2	3
Média	0,069	0,053	1,582
Desvio Padrão	0,004	0,002	0,060
Coefficiente de Variação (%)	5,80	3,77	3,79

Sensibilidade e Especificidade Clínica

O kit BIOLISA RUBÉOLA IgM foi utilizado para a análise de amostras clínicas previamente caracterizadas e confirmadas através de outro método de enzimaímunoenensaio de referência. Os resultados mostram que a sensibilidade clínica do kit BIOLISA RUBÉOLA IgM é 99,9% e a especificidade clínica é 98,2%.

RESULTADO	REFERÊNCIA			
	Positivo	Negativo	Total	
BIOLISA RUBÉOLA IgM	Positivo	52	2	54
	Negativo	0	112	112
	Total	52	114	166

Sensibilidade Clínica: 99,9% (52/52) IC 95% = 93,2 a 99,9 %
Especificidade Clínica: 98,2% (112/114) IC 95% = 93,8 a 99,8%

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

A Rubéola é um vírus de RNA, esférico, envelope pequeno, pertencente à família Togaviridae. É vulgarmente conhecido como alemão ou sarampo de 3 dias. A infecção pelo vírus de Rubéola é transmitida através de gotículas de saliva, resultando em erupção contagiosa leve em crianças ou jovens adultos. Na infância, a infecção é uma doença auto-limitante, benigna, caracterizada por febre baixa, dor de cabeça, linfadenopatia, artralgia e conjuntivite. No entanto, a infecção durante a gravidez, especialmente no primeiro trimestre, pode levar ao aborto espontâneo, infecção intrauterina causando a morte fetal, ou anomalias congênitas. A Rubéola congênita depende do período em que a infecção ocorre e pode resultar em complicações graves, incluindo a surdez, problemas oculares, incluindo cataratas e glaucoma, cardiopatia congênita e retardo mental. Os anticorpos IgM contra a Rubéola são produzidos inicialmente, podendo atingir níveis detectáveis dentro de 2-3 dias e pico de 14 - 21 dias após o início dos sintomas que permanecem detectáveis durante as próximas 4 - 8 semanas. O diagnóstico de infecção ativa ou recente pode ser obtido pela presença de anticorpos IgM em amostra inicial. Depois de vários dias, os anticorpos IgG aparecem depois da IgM, com pico de 14 - 21 dias, persistindo níveis variados para toda a vida. A presença de anticorpos IgG anti-Rubéola é indicativo de infecção prévia e/ou imunidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cancer Epidemiol Biomarkers Prev; 26(8); 1337–44.2017 AACR
- WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
- Herrmann, KL. Rubella Virus. In: Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology 4th Edition (1985) 779-784.
- Turgeon, ML. Rubella Infection. In: Immunology and Serology in Laboratory Medicine. 2nd Edition (1996). 275-286.
- Chernesky, MA, Mahony JB. Rubella Virus. In: Manual of Clinical Microbiology. 6th Edition (1995) 968-973.
- Voller, A, Bidwell, DE. A simple Method for Detecting Antibodies to Rubella. Brit. J. Exp. Pathol. (1975) 56:338-339.
- Rawls WE, Chernesky MA. Rubella Virus. Manual Clinical Immunology (1976) 452-455.
- Millian, SJ, Wegman D. Rubella Serology: Applications, Limitations, and Interpretations. Amer. J. Pub. Health (1972) 170-176.
- Bioclin – Dados de arquivos.

GARANTIA DE QUALIDADE

Antes de serem liberados para consumo, todos os reagentes Bioclin são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.

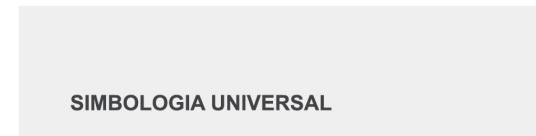
QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rua Teles de Menezes, 92 – Santa Branca
CEP 31565-130 – Belo Horizonte – MG – Brasil
Tel.: (31) 3439.5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 – Indústria Brasileira

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente
Tel.: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de Registro do kit BIOLISA RUBÉOLA IgM na ANVISA: 10269360465

Revisão: Agosto/2025



	NÚMERO DE CATÁLOGO		FABRICADO POR
	NÚMERO DO LOTE		CONTROLE
	DATA DE FABRICAÇÃO		CONTROLE POSITIVO
	DATA DE VALIDADE (último dia do mês)		CONTROLE NEGATIVO
	LIMITE DE TEMPERATURA (conservar a)		RISCO BIOLÓGICO
	O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <-N> TESTE		INFLÂMÁVEL
	CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO		CORROSIVO
	PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO		TOXICO
	PROTEGER DA LUZ E CALOR		NÃO UTILIZAR SE A EMBALAGEM ESTIVER DANIFICADA
	NÃO REUTILIZE		PRODUTO ESTERELIZADO
	CUIDADO		PERIGO

BIOLISA RUBÉOLA IgM

REF K320

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Prueba inmunoenzimática de captura (ELISA) para determinación de anticuerpos de clase IgM anti-Rubéola en muestras de suero o plasma. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Enzaimunoenzaimoensayo o inmunoenzimático. El kit BIOLISA Rubéola IgM es un ensayo inmunoenzimático en fase sólida basado en el principio de detección cualitativa por captura de anticuerpos IgM de Rubella en muestras de suero o plasma humano. Los anticuerpos IgM presentes en la muestra se unen a los anticuerpos anti-IgM recubiertos en la microplaca formando inmunocomplejos. Después de la incubación inicial, la microplaca se lava para eliminar los materiales no unidos. Los antígenos de Rubella conjugados con peroxidasa se agregan a la microplaca que luego se incuba. Los antígenos conjugados con enzima se unen a los anticuerpos IgM anti-Rubella presentes, unidos a la placa recubierta con anticuerpos IgM. Se realiza un nuevo lavado para eliminar el exceso. Después de este paso, se agrega el sustrato y se incuba, produciendo un color azul que indica la cantidad de anticuerpos IgM anti-rubella presentes en la muestra. Se agrega la solución de parada para detener la reacción y hay un cambio de color de azul a amarillo, medido en un lector de microplacas.

REACTIVOS

1- Placa Sensibilizada - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Placa sensibilizada con anticuerpos anti-IgM.

2- Conjugado - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución tampón, antígenos de Rubéola conjugados a peroxidasa, surfactante, estabilizantes, corante y conservante.

3- Lavado Concentrado - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución tampón (fosfato < 0,5 mol/L, cloreto de potássio < 100 mmol/L, cloreto de sódio < 5 mol/L), surfactante y conservante.

4- Diluyente de Muestra - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución Tampón, estabilizantes, surfactante e conservante.

5- Sustrato - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución tampón conteniendo peróxido de uréia, tetrametilbencidina (TMB) y conservante.

6- Solución de Parada - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Ácido Clorídrico 1M.

7- Control Negativo - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución tampón, estabilizante, surfactante e conservante.

Potencialmente infectante.

8- Control Positivo - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Anticorpos IgM anti-Rubéola, solução tampão, corante, estabilizantes, surfactante y conservante. **Potencialmente infectante.**

PRESENTACIÓN

REAGENTES	1	2	3
	96 Cavidades	192 Cavidades	480 Cavidades
1- Placa Sensibilizada	1 Unidad	2 Unidades	5 Unidades
2- Conjugado	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	1 Vial x 60 mL
3- Lavado Concentrado	1 Vial x 50 mL	1 Vial x 100 mL	1 Vial x 250 mL
4 - Diluyente de Muestra	1 Vial x 25 mL	1 Vial x 50 mL	1 Vial x 110 mL
5- Sustrato	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	1 Vial x 60 mL
6- Solución de Parada	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	1 Vial x 60 mL
7- Control Negativo	1 Vial x 300 µL	1 Vial x 300 µL	1 Vial x 1 mL
8- Control Positivo	1 Vial x 300 µL	1 Vial x 300 µL	1 Vial x 1 mL

EQUIPOS E INSUMOS OPERACIONALES

Materiales contenidos en el kit:

- Reactivos descritos en el cuadro anterior.

Materiales necesarios, no contenidos en los kit:

1- Pipetas capaces de dispensar volúmenes de 5 a 300 µL con menor coeficiente de variación que 1,5%.

2- Repipetador para pipetajes repetitivos de volúmenes de 300 µL con menor coeficiente de variación que 1,5% o pipeta multicanal (opcional).

3- Lavadora de microplaca (opcional).

4- Lectora de ELISA con capacidad de absorbancia en 450 y 630 nm de longitud de onda.

5- Papel absorbente para secar las microcavidades.

6- Cronómetro o reloj.

7- Frasco para almacenar la Solución de Lavado después de diluida.

8- Agua destilada o deionizada.

9- Herramientas de Control de Calidad.

10- Incubadora de 37 °C ± 2 °C.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento debe ser de 2 a 8 °C. El transporte a temperaturas de hasta 30 °C no debe exceder los 5 días. Mantener alejado de la luz y evitar la humedad. **No congelar.**

CUIDADOS ESPECIALES

1- Solamente para el uso diagnóstico *in vitro* profesional.

2- Seguir con rigor la metodología propuesta para la obtención de resultados exactos.

3- El sobre de aluminio conteniendo la microplaca debe ser abierto solamente después de alcanzar la temperatura ambiente. Recolocar las tiras de microcavidades no utilizadas en el sobre de aluminio, sellar y almacenar entre 2 y 8 °C.

4- El agua utilizada en la limpieza del material debe ser reciente e exenta de contaminantes.

5- Columnas deionizadoras saturadas liberan agua alcalina, iones diversos y agentes oxidantes y reductores, que pueden alterar de forma significativa los resultados.

6- La Solución de Parada contiene ácido clorhídrico, que es un

ácido fuerte. Por lo tanto manosearlo con el debido cuidado.

7- Toda materia prima del producto es probada y debe ser no reactiva para HBsAg, Anti-HIV y Anti-HCV. Sin embargo esos tests no ofrecen total seguridad de la ausencia de agentes infecciosos. La manipulación de todo producto que contiene suero es potencialmente capaz de transmitir dolencias. Por lo tanto, es necesario tomar los debidos cuidados de bioseguridad en la manipulación de esos productos.

8- Pipetear los reactivos siempre en el mismo orden para minimizar la diferencia de tiempo de reacción entre las microcavidades.

9- Por medida de protección, se debe cubrir la placa durante la reacción.

10- Asegurar que el fondo de la cavidad este limpio y seco y que no haya burbujas en la superficie del líquido antes de leer la placa. No permitir que las cavidades sequen durante el ensayo.

11- No exponga los reactivos, especialmente el Sustrato, a la luz fuerte o vapores de hipoclorito durante almacenamiento o etapas de incubación.

12- Se recomienda la aplicación de la ley local, estatal y federal de protección ambiental para la eliminación de reactivos y material biológico se hace de acuerdo con la legislación vigente.

13- Para obtener información relacionada con la seguridad biológica o en caso de accidentes con el producto, consultar la FDS (Ficha de Datos de Seguridad) disponibles en el site www.bioclin.com.br o solicitando a través del SAC (Servicio de Asesoría al Cliente) de Quibasa.

14- No utilice el producto en caso de daños en su embalaje.

15- Es esencial que los instrumentos y equipos utilizados estén adecuadamente calibrados y sometidos a mantenimientos periódicos.

MUESTRAS

Suero o Plasma (EDTA o Heparina)

No se deben utilizar muestras hemolizadas o altamente lipémicas. Las muestras pueden conservarse refrigeradas, entre 2 y 8 °C, durante un máximo de 5 días. Si no se pueden analizar en 5 días, pueden conservarse hasta 30 días a una temperatura de -20 °C. No se deben utilizar muestras de plasma conservadas durante periodos superiores al recomendado (30 días) ni muestras obtenidas con anticoagulantes distintos a los mencionados.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

Estabilidad Después de la Apertura

Los resultados de la prueba de estabilidad muestran que el kit BIOLISA RUBÉOLA IgM es estable hasta 30 días tras su apertura. Esta estabilidad puede variar según la prueba y las condiciones ambientales. Por lo tanto, se recomienda supervisar el rendimiento del producto utilizando los controles internos del kit y los criterios de validación técnica.

PREPARO DE LOS REACTIVOS DE TRABAJO

Solución de Lavado

Diluya el contenido del vial N.º 4 (Lavado Concentrado) en una proporción de 1:20 con agua destilada o desionizada; por ejemplo: 50 ml de solución de Lavado Concentrado en 1000 ml de agua destilada o desionizada. Tras su preparación, la solución puede conservarse entre 2 y 30 °C hasta 30 días. Si se produce cristalización, caliente a 37 °C hasta su disolución.

Todos los demás reactivos están listos para usar

TÉCNICA

Para uso en equipos automáticos, consultar al SAC (Servicio de Atención al Cliente).

Antes de comenzar la prueba, coloque los reactivos, los Controles y las Muestras para que se estabilicen a temperatura ambiente (15-30 °C) durante al menos 40 minutos.

1- Separe los pocillos a utilizar: Controles y Muestras (se recomienda realizar la prueba por duplicado). Devuelva las tiras no utilizadas de la microplaca a su envase original sellado.

2- Separe el primer pocillo para el Blanco (OPCIONAL).

3- Pipetee 100 µL de Diluyente de Muestra, incluyéndolo en el pocillo para el Blanco.

4- Pipetee 5 µL de Muestra y Controles en los pocillos previamente seleccionados. Observe el cambio de color del diluyente al agregar la muestra. Este cambio de color indica que la muestra se agregó correctamente al pocillo.

5- Mezcle suavemente durante ± 30 segundos y cubra los pocillos con sellador de placas.

6- Incubar durante 30 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37 °C ± 2 °C.

7- Retirar el sellador de los pocillos.

8- Desechar el contenido de los pocillos mediante aspiración (lavadora) o decantación (manual). Utilizar aproximadamente 300 µL de solución de lavado, **previamente preparada**, y realizar un total de cinco (5) ciclos de lavado con agitación durante 5 segundos. Para asegurar que la placa esté seca, al finalizar el lavado, golpearla ligeramente sobre papel absorbente durante unos segundos.

Nota: Un lavado o secado inadecuado puede causar resultados inadecuados.

9- Pipetear 100 µL de Conjugado en todos los pocillos, incluido el pocillo del blanco.

10- Mezclar suavemente durante ± 30 segundos. Cubrir los pocillos con el sellador de placas.

11- Incubar durante 30 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37 °C ± 2 °C.

12- Retirar el sellador de placas de los pocillos.

13- Repetir el paso 8.

14- Pipetear 100 µL de Sustrato en todos los pocillos, incluido el pocillo del blanco.

15- Mezclar suavemente durante ± 30 segundos. Cubrir los pocillos con el sellador de placas.

16- Incubar durante 10 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37 °C ± 2 °C.

17- Retirar el sellador de placas de los pocillos.

18- Pipetear 100 µL de Solución de Parada en todos los pocillos, incluido el pocillo del blanco.

19- Mezclar suavemente durante ± 30 segundos.

20- Lectura utilizando doble filtro: 450 nm / 630 nm en hasta 15 minutos (máximo).

VERIFICACIÓN DE LA TÉCNICA

Verifique si los resultados obtenidos en la lectura del blanco y los controles son compatibles con los valores que se presentan a continuación:

ITEM	ABSORBÁNCIAS
Blanco	< 0,150
Control Negativo	< 0,150
Control Positivo	> 1,000

Si los valores están fuera de los esperados, debe repetirse la técnica.

CÁLCULOS

CUALITATIVO

Calcular el Cut Off de acuerdo con la siguiente fórmula:

Cut Off = (Absorbancia Promedio del Control Positivo x 0,1) + 0,200

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIAS
Control Positivo	2,125
	2,120
Cut Off = (Absorbancia Promedio del Control Positivo x 0,1) + 0,200	Cut Off = ((2,125 + 2,120) / 2 x 0,100) + 0,200 Cut Off = 0,412

Calcule el índice dividiendo la absorbancia de la muestra por el valor de cut off.

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Muestra	1,421
Valor de Cut Off	0,412
Índice = Muestra / Valor de Cut Off	1,421/ 0,412 = 3,45

Nota: Los datos presentados en los ejemplos son solo para fines ilustrativos y no deben utilizarse para el cálculo de los resultados. Cada laboratorio deberá validar el cut-off de acuerdo con la instrumentación utilizada y la población analizada.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Después del cálculo del índice de las muestras, considerar los índices abajo para la determinación de los resultados.

RESULTADOS	CUALITATIVO
	ÍNDICE
Negativo (No Reactivo)	≤ 0,8
Indeterminado	0,8 – 1,2
Positivo (Reactivo)	≥ 1,2

Las muestras con un índice mayor o igual a 1,2 se consideran positivas, las muestras con un índice menor o igual a 0,8 se consideran negativas y las muestras con un índice entre 0,8 y 1,2 se consideran indeterminadas. Por lo tanto, la muestra mencionada en el ejemplo, cuya absorbancia fue de 1,421 y un índice de 3,45, presenta un resultado positivo (Índice ≥ 1,2).

Observaciones: En caso de resultado indeterminado, la muestra debe ser reanalizada por duplicado. Las muestras que presenten resultados repetidamente indeterminados deben ser reanalizadas utilizando un método alternativo. Si los resultados continúan siendo indeterminados, se debe recolectar una nueva muestra en un plazo de dos semanas. Deberá prevalecer el resultado de la última muestra recolectada. La interpretación de un test diagnóstico no debe basarse únicamente en un único ensayo. Se deben incluir otras pruebas de confirmación antes de considerar una muestra como positiva. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición. Todos los resultados deben ser interpretados junto con la información clínica disponible, antes de establecer un diagnóstico definitivo de la enfermedad. Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el médico responsable, y no deben considerarse como el único criterio para la determinación del diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

LIMITACIONES DEL PROCESO

Los anticuerpos IgM están presentes en suero y plasma por un período corto de tiempo, desapareciendo hasta seis meses después de la infección, mientras que los anticuerpos IgG permanecen presentes por un período prolongado. Sin embargo, la alta sensibilidad de las nuevas metodologías diagnósticas permite, en algunos casos, detectar niveles muy bajos de anticuerpos IgM, denominados IgM residuales, durante un período más prolongado. La detección de estos anticuerpos IgM residuales dificulta la interpretación clínica del momento de la infección. En estos casos, para confirmar el resultado, se

recomienda la realización de una prueba de avidéz de IgG. La interpretación de un test diagnóstico no debe basarse únicamente en un único ensayo. Se deben incluir otras pruebas de confirmación antes de considerar una muestra como positiva. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición. Todos los resultados deben ser interpretados junto con otra información clínica disponible, antes de establecer un diagnóstico definitivo de la enfermedad. Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable, y no deben utilizarse como único criterio para el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

INTEFERENTES

No se observaron interferencias para las concentraciones de Triglicéridos 1200 mg/dL, Ácido Acetilsalicílico 20 mg/dL, Ácido Ascórbico 2 g/dL, Creatina 200 mg/dL, Bilirrubina 1 g/dL, Albúmina 10 g/dL, Hemoglobina 1000 mg/dL, Ácido Oxálico 60 mg/dL, Factor Reumatoide 980 UI/mL, Proteína C Reactiva 41,2 mg/dL y Antiestreptolisina O 1023 UI/mL.

REACTIVIDAD CRUZADA

Se realizó un estudio con 49 muestras de suero/plasma negativas para Rubéola IgM pero positivas para otras infecciones con el fin de evaluar la posibilidad de reactividad cruzada de estos interferentes en el resultado del kit BIOLISA RUBÉOLA IgM. Entre ellas, 5 muestras fueron positivas para HTLV, 6 muestras fueron positivas para Sífilis, 6 muestras fueron positivas para HBsAg, 5 muestras fueron positivas para HCV, 6 muestras fueron positivas para Enfermedad de Chagas, 6 muestras fueron positivas para Zika, 5 muestras fueron positivas para Toxoplasmosis, 5 muestras fueron positivas para CMV y 5 muestras fueron positivas para HIV. No se observó reactividad cruzada con muestras positivas para HTLV, Sífilis, HBsAg, HCV, Enfermedad de Chagas, Zika, Toxoplasmosis, CMV y HIV. A pesar de los resultados encontrados, la posibilidad de reactividad cruzada no puede descartarse por completo. El diagnóstico final debe considerar los datos clínicos del paciente junto con otros datos de laboratorio.

CONTROL INTERNO DE CALIDAD

El Laboratorio Clínico debe contar con un programa de control de calidad interno, donde se establezcan claramente los procedimientos, estándares, límites y tolerancias de variación. Es importante destacar que todos los sistemas de medición presentan una variabilidad analítica característica, la cual debe ser monitoreada por los propios laboratorios. Para ello, se recomienda utilizar controles que permitan evaluar la precisión y exactitud de las dosificaciones.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

PRECISIÓN

Repetibilidad

La repetibilidad se calculó a partir de 10 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con diferentes valores, obteniendo los siguientes resultados de absorbancia.

Repetibilidad	MUESTRA		
	1	2	3
Promedio	1,791	0,085	0,053
Desviación Estándar	0,049	0,005	0,003
Coefficiente de Variación (%)	2,76	6,29	5,69

Reproducibilidad

La reproducibilidad se calculó a partir de 10 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con diferentes valores, obteniendo los siguientes resultados de absorbancia:

Reproducibilidad	MUESTRA		
	1	2	3
Promedio	0,069	0,053	1,582
Desviación Estándar	0,004	0,002	0,060
Coefficiente de Variación (%)	5,80	3,77	3,79

Sensibilidad y Especificidad Clínicas

El kit BIOLISA RUBÉOLA IgM se utilizó para el análisis de muestras clínicas previamente caracterizadas y confirmadas mediante otro método de inmunoensayo enzimático de referencia. Los resultados muestran una sensibilidad clínica del kit BIOLISA RUBÉOLA IgM del 99,9% y una especificidad clínica del 98,2%.

RESULTADO	REFERENCIA			
	Positivo	Negativo	Total	
BIOLISA RUBÉOLA IgM	Positivo	52	2	54
	Negativo	0	112	112
	Total	52	114	166

Sensibilidad Clínica: 99,9% (52/52) IC 95% = 93,2 a 99,9%

Especificidad Clínica: 98,2% (112/114) IC 95% = 93,8 a 99,8%

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

La Rubella es un virus RNA pequeño, envuelto y esférico que pertenece a pertenece a la familia Togaviridae. Se conoce comúnmente como sarampión alemán o sarampión de tres días. La infección por el virus de la Rubéola se transmite a través de gotitas salivales, lo que provoca una erupción cutánea contagiosa leve en niños o adultos jóvenes. En la infancia, la infección es una enfermedad benigna y autolimitada que se caracteriza por febrícula, cefalea, linfadenopatía, artralgia y conjuntivitis. Sin embargo, la infección durante el embarazo, especialmente en el primer trimestre, puede provocar aborto espontáneo, infección intrauterina que causa muerte fetal o anomalías congénitas. La Rubella congénita depende del período en el que se produce la infección y puede causar complicaciones graves, como sordera, problemas oculares como cataratas y glaucoma, cardiopatías congénitas y retraso mental. Los anticuerpos IgM contra la Rubella se producen inicialmente, pueden alcanzar niveles detectables en 2-3 días y alcanzar su punto máximo entre 14 y 21 días después de la aparición de los síntomas persistentes, detectable durante las siguientes 4 a 8 semanas. El diagnóstico de infección activa o reciente se puede obtener mediante la presencia de anticuerpos IgM en una muestra inicial. Después de varios días, aparecen anticuerpos IgG después de los IgM, alcanzando un máximo entre los 14 y 21 días, con niveles variables que persisten a lo largo de la vida. La presencia de anticuerpos IgG anti-Rubella es indicativo de infección previa y/o inmunidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cancer Epidemiol Biomarkers Prev; 26(8); 1337–44.2017 AACR
- WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2. 2002:31.
- Herrmann, KL. Rubella Virus. In: Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology 4th Edition (1985) 779-784.
- Turgeon, ML. Rubella Infection. In: Immunology and Serology in Laboratory Medicine. 2nd Edition (1996). 275-286.
- Chernesky, MA, Mahony JB. Rubella Virus. In: Manual of Clinical Microbiology. 6th Edition (1995) 968-973.
- Voller, A, Bidwell, DE. A simple Method for Detecting Antibodies to Rubella. Brit. J. Exp. Pathol. (1975) 56:338-339.
- Rawls WE, Chernesky MA. Rubella Virus. Manual Clinical Immunology (1976) 452-455.
- Millian, SJ, Wegman D. Rubella Serology: Applications, Limitations, and Interpretations. Amer. J. Pub. Health (1972) 170-176.

9. Bioclin – Datos de archivos.

GARANTÍA DE CALIDAD

Antes de su comercialización, todos los reactivos Bioclin son analizados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos está garantizada hasta la fecha de caducidad indicada en el envase, siempre que se almacenen y transporten en condiciones adecuadas.

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

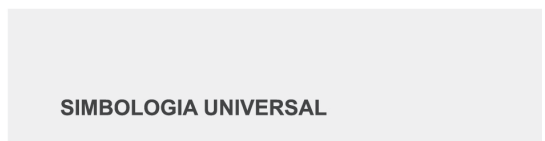
Rua Teles de Menezes, 92 – Santa Branca
CEP 31565-130 – Belo Horizonte – MG – Brasil
Tel.: +55 (31) 3439-5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Industria Brasileira

ATENCIÓN AL CONSUMIDOR

Servicio de Asesoría al Cliente
Tel.: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

Registro del kit BIOLISA Rubéola IgM en la ANVISA: 10269360465

Revisión: Agosto/2025



	NÚMERO DE CATÁLOGO		FABRICADO POR
	NÚMERO DO LOTE		CONTROLE
	DATA DE FABRICAÇÃO		CONTROLE POSITIVO
	DATA DE VALIDADE (último día do mês)		CONTROLE NEGATIVO
	LIMITE DE TEMPERATURA (conservar a)		RISCO BIOLÓGICO
	O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <N> TESTE		INFLÁMVEL
	CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO		CORROSIVO
	PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	PROTEGER DA LUZ E CALOR		NÃO UTILIZAR SE A EMBALAGEM ESTIVER DANIFICADA
	NÃO REUTILIZE		PRODUTO ESTERELIZADO
	CUIDADO		PERIGO

BIOLISA RUBELLA IgM

K320

INSTRUCTIONS FOR USE

TO OBTAIN THE INSTRUCTIONS FOR USE IN PRINTED FORMAT, AT NO ADDITIONAL COST, CONTACT CUSTOMER ADVISORY SERVICE:

SAC: +55 (31) 3439 5454 / 0800 031 5454 / sac@bioclin.com.br

FUNCTION

Capture enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the determination of IgM antibodies to Rubella in human serum or plasma samples. For *in vitro* diagnostic use only.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Enzyme immunoassay or immunoenzymatic assay based on the principle of qualitative detection by capture of Rubella IgM antibodies in human serum or plasma samples. IgM antibodies present in the sample bind to the anti-IgM antibodies coated on the microplate forming immunocomplexes. After the initial incubation, the microplate is washed to remove unbound materials. Rubella antigens conjugated to peroxidase are added to the microplate which is then incubated. The enzyme-conjugated antigens bind to the anti-Rubella IgM antibodies present, bound to the plate coated with anti-IgM antibodies. A new wash is performed to remove the excess. After this step, the substrate is added and incubated, producing a blue color that indicates the amount of anti-Rubella IgM antibodies present in the sample. Stop solution is added to stop the reaction and there is a color change from blue to yellow, measured on a microplate reader.

REAGENTS

1- Sensitized Plate - Store between 2 and 8 °C. Contains: Plate sensitized with anti-IgM antibodies.

2- Conjugate - Store between 2 and 8 °C. Contains: Buffer solution, Rubella antigens conjugated to peroxidase, surfactant, stabilizers, dye and preservative.

3- Concentrated Wash - Store between 2 and 8 °C. Contains: Buffer solution (phosphate < 0.5 mol/L, potassium chloride < 100 mmol/L, sodium chloride < 5 mol/L), surfactant and preservative.

4- Sample Diluent - Store between 2 and 8 °C. Contains: Buffer Solution, stabilizers, surfactant and preservative.

5- Substrate - Store between 2 and 8 °C. Contains: Buffer Solution containing Urea Peroxide, Tetramethylbenzidine (TMB) and preservative.

6- Stop Solution - Store between 2 and 8 °C. Contains: 1 M Hydrochloric Acid.

7- Negative Control - Store between 2 and 8 °C. Contains: Buffer solution, stabilizer, surfactant and preservative. **Potentially infectious.**

8- Positive Control - Store between 2 and 8 °C. Contains: IgM anti-Rubella antibodies, buffer solution, dye, stabilizers, surfactant and preservative. **Potentially infectious.**

PRESENTATION

REACTIVES	1	2	3
	96 Cavities	192 Cavities	480 Cavities
1- Sensitized Plate	1 Unit	2 Units	5 Units
2- Conjugate	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	1 Vial x 60 mL
3- Concentrated Wash	1 Vial x 50 mL	1 Vial x 100 mL	1 Vial x 250 mL
4- Sample Diluent	1 Vial x 25 mL	1 Vial x 50 mL	1 Vial x 110 mL
5- Substrate	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	1 Vial x 60 mL
6- Stop Solution	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	1 Vial x 60 mL
7- Negative Control	1 Vial x 300 µL	1 Vial x 300 µL	1 Vial x 1 mL
8- Positive Control	1 Vial x 300 µL	1 Vial x 300 µL	1 Vial x 1 mL

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Materials in the kit:

- Reagents described in the table above.

Required materials not contained in the kit:

1- Pipettes capable of dispensing volumes from 5 to 300 µL with a coefficient of variation lower than 1.5%.

2- Repipette for repetitive pipetting of volumes of 300 µL with a coefficient of variation lower than 1.5% or multichannel pipette (optional).

3- Microplate washer (optional).

4- ELISA reader with absorbance capacity at 450 and 630 nm wavelength.

5- Absorbent paper to dry the microwells.

6- Stopwatch or clock.

7- Vial to store the Wash Solution after dilution.

8- Distilled or deionized water.

9- Quality Control Tools.

10- Incubator 37 °C ± 2 °C.

STORAGE AND TRANSPORTATION CONDITIONS

The storage temperature should be between 2 and 8 °C. Transportation at temperatures up to 30 °C should not exceed 5 days. Keep away from light and avoid humidity. **Do not freeze.**

SPECIAL CARE

1- For professional *in vitro* diagnostic use only.

2- Strictly follow the proposed methodology to obtain accurate results.

3- The sachet containing the microplate should only be opened after it has reached room temperature. Replace the unused microwell strips in the sachet, seal and store at 2 to 8 °C.

4- The water used to clean the material must be fresh and free of contaminants.

5- Saturated deionizing columns release alkaline water, various ions, and oxidizing and reducing agents that can significantly alter the results.

6- The Stop Solution contains Hydrochloric Acid, which is a strong acid. Therefore, handle it with due care.

7- All raw materials of the product are tested and found to be

non-reactive for HBsAg, Anti-HIV and Anti-HCV. However, these tests do not offer complete assurance of the absence of infectious agents. Handling any product that contains a biological sample is potentially capable of transmitting diseases. Therefore, it is necessary to take the appropriate biosafety precautions when handling these products.

8- Always pipette the reagents in the same order to minimize the difference in reaction time between the microwells.

9- As a protective measure, the plate must be covered during the reaction.

10- Ensure that the bottom of the well is clean and dry and that there are no bubbles on the surface of the liquid before reading the plate. Do not allow the wells to dry out during the test.

11- Do not expose the reagents, especially the Substrate, to strong light or hypochlorite vapors during the storage or incubation stages.

12- We recommend applying local, state and federal environmental protection standards so that the disposal of reagents and biological material is done in accordance with current legislation.

13- To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the SDS (Safety Data Sheet) available on the website www.bioclin.com.br or by requesting it through Quibasa's SAC (Customer Advisory Service).

14- Do not use the product if the packaging is damaged.

15- It is essential that the instruments and equipment used are properly calibrated and undergo periodic maintenance.

SAMPLES

Serum or Plasma (EDTA or Heparin)

Hemolyzed or highly lipemic samples should not be used. Samples can be stored under refrigeration, between 2 and 8 °C, for a maximum period of 5 days. If the samples cannot be analyzed within 5 days, they can be stored for up to 30 days at a temperature of -20 °C. Plasma samples stored for periods longer than the recommended period (30 days) and samples collected with anticoagulants other than those mentioned should not be used.

PROCESS DESCRIPTION

Stability After Opening

The results of the stability test show that the BIOLISA RUBELLA IgM kit is stable after opening for up to 30 days. This stability may vary depending on the test and environmental conditions. Therefore, it is suggested to monitor the performance of the product using the kit's internal controls and the technique validation criteria.

PREPARATION OF WORKING REAGENT

Washing Solution

Dilute the contents of Vial No. 4 (Concentrated Wash) in a ratio of 1:20 with distilled or deionized water; for example: 50 mL of Concentrated Washing Solution in 1000 mL of distilled or deionized water. After preparation, the solution can be stored at 2 to 30 °C for up to 30 days. If crystallization occurs, heat to 37 °C until dissolved.

All other reagents are ready for use.

TECHNIQUE

For use in automatic equipment, consult SAC (Customer Advisory Service).

Before starting the test, place reagents, Controls and Samples to stabilize at room temperature (15 - 30 °C) for at least 40 minutes.

1- Separate the wells to be used considering: Controls and Samples (it is recommended to test in duplicate). Return the unused strips of the microplate to the original sealed packaging.

2- Separate the first well for the Blank (OPTIONAL).

3- Pipette 100 µL of Sample Diluent, including in the well for the Blank.

4- Pipette 5 µL of Sample and Controls in the previously determined wells. Observe the color change of the diluent when adding the sample. The color change indicates that the sample was added to the well correctly.

5- Gently mix for ± 30 seconds, cover the wells with plate sealer.

6- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37 °C ± 2 °C.

7- Remove the sealer from the wells.

8- Discard the contents of the wells by aspiration (Washer) or by decantation (Manual). Use approximately 300 µL of Washing Solution, **previously prepared**, and perform a total of five (5) washing cycles with shaking for 5 seconds. To ensure that the plate is dry, at the end of the washing, tap the plate for a few seconds on absorbent paper.

Note: Inadequate washing/drying may cause inadequate results.

9- Pipette 100 µL of Conjugate into all wells, including the Blank well.

10- Gently mix for ± 30 seconds. Cover the wells with the plate sealer.

11- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37 °C ± 2 °C.

12- Remove the plate sealer from the wells.

13- Repeat item 8.

14- Pipette 100 µL of Substrate into all wells, including the Blank well.

15- Gently mix for ± 30 seconds. Cover the wells with the plate sealer.

16- Incubate for 10 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37 °C ± 2 °C.

17- Remove the plate sealer from the wells.

18- Pipette 100 µL of Stop Solution into all wells, including the Blank well.

19- Gently mix for ± 30 seconds.

20- Read using double filter: 450 nm / 630 nm in up to 15 minutes (maximum).

TECHNIQUE VERIFICATION

Check whether the results obtained for reading the Blank and Controls are compatible with the values presented below:

ITEM	ABSORBANCES
Blank	< 0.150
Negative Control	< 0.150
Positive Control	> 1.000

If the values are outside the expected values, the technique should be repeated.

CALCULATIONS

QUALITATIVE

Calculate Cut Off according to the following formula:

Cut Off = (Average Absorbance of Positive Control x 0.1) + 0.200.

Example:

ITEM	ABSORBANCIAS
Positive Control	2.125
	2.120
Cut Off = (Average Absorbance of Positive Control x 0.1) + 0.200	Cut Off = ((2.125 + 2.120) / 2 x 0.1) + 0.200 Cut Off = 0.412

Calculate the Index by dividing the absorbance of the sample by the Cut Off value.

Example:

ITEM	ABSORBANCIA
Sample	1.421
Cut Off Value	0.412
Index = Sample / Cut Off Value	1.421/ 0.412 = 3.45

Note: The data presented in the examples are for illustration purposes only and cannot be used to calculate results. Each laboratory must validate the cutoff according to the instrumentation used and the population studied.

INTERPRETATION OF RESULTS

After calculating the sample index, consider the indexes below to determine the results.

RESULTS	QUALITATIVE
	INDEX
Negative (Non Reactive)	≤ 0,8
Indeterminate	0,8 – 1,2
Positive (Reactive)	≥ 1,2

Samples with an index greater than or equal to 1.2 are considered positive, samples with an index less than or equal to 0.8 are considered negative and samples with an index between 0.8 and 1.2 are considered indeterminate. Thus, we have that the sample mentioned in the example, whose absorbance was 1.421 and index of 3.45, presents a positive result (index ≥ 1.2).

Notes: In the case of an indeterminate result, the sample must be reanalyzed in duplicate. Samples that repeatedly obtain indeterminate results must be retested using an alternative method. If the results remain indeterminate, a new sample must be collected in two weeks. The result of the last sample collected must prevail. The interpretation of a diagnostic test should not be established based on a single assay. Further confirmatory tests must be included before a sample is considered positive. A negative result does not rule out the possibility of exposure. All results must be interpreted in conjunction with other available clinical information before a descriptive diagnosis of the disease is made. The results provided by this kit must be interpreted by the responsible medical professional and are not the sole criterion for determining the diagnosis and/or treatment of the patient.

PROCESS LIMITATIONS

IgM antibodies are present in serum and plasma for a short period of time, disappearing up to six months after infection, while IgG antibodies remain present for a long period of time. However, the high sensitivity of new diagnostic methodologies, in some cases, allows very low levels of IgM antibodies, called residual IgM, to be found for a longer period of time. The detection of these residual IgM antibodies makes clinical interpretation of the period of infection difficult. In these cases, to confirm the result, it is recommended to perform an IgG avidity test. The interpretation of a diagnostic test should not be established based on a single assay. Other confirmatory tests should be included before a sample is considered positive. A negative result does not exclude the possibility of exposure. All results should be interpreted in conjunction with other available clinical information before definitive diagnosis of the disease. The results provided by this kit should be interpreted by the responsible medical professional and are not the sole criterion for determining the diagnosis and/or treatment of the patient.

INTERFERENTS

No interference was observed for the concentrations of Triglycerides 1200 mg/dL, Acetylsalicylic Acid 20 mg/dL, Ascorbic Acid 2 g/dL, Creatine 200 mg/dL, Bilirubin 1 g/dL, Albumin 10 g/dL, Hemoglobin 1000 mg/dL, Oxalic Acid 60 mg/dL, Rheumatoid Factor 980 IU/mL, C-Reactive Protein 41.2 mg/dL and Anti-Streptolysin O 1023 IU/mL.

CROSS-REACTIVITY

A study was performed with 49 serum/plasma samples negative for Rubella IgM but positive for other infections in order to evaluate the possibility of cross-reactivity of these interferents in the result of the BIOLISA RUBELLA IgM kit. Among them, 5 samples were positive for HTLV, 6 samples were positive for Syphilis, 6 samples were positive for HBsAg, 5 samples were positive for HCV, 6 samples were positive for Chagas disease, 6 samples were positive for Zika, 5 samples were positive for Toxoplasmosis, 5 samples were positive for CMV and 5 samples were positive for HIV. No cross-reactivity was observed with samples positive for HTLV, Syphilis, HBsAg, HCV, Chagas disease, Zika, Toxoplasmosis, CMV and HIV. Despite the results found, the possibility of cross-reactivity cannot be completely ruled out. The final diagnosis should consider the patient's clinical data together with other laboratory data.

INTERNAL QUALITY CONTROL

The Clinical Laboratory must have an internal quality control program, where procedures, standards, limits and tolerance for variations are clearly established. It is important to emphasize that all measurement systems present a characteristic analytical variability, which must be monitored by the laboratories themselves. To this end, it is recommended to use controls, which allow the assessment of the precision and accuracy of the dosages.

PRODUCT PERFORMANCE

PRECISION

Repeatability

Repeatability was calculated from 10 successive determinations, using 3 samples with different values, obtaining the following absorbance results.

Repeatability	SAMPLE		
	1	2	3
Mean	1.791	0.085	0.053
Standard Deviation	0.049	0.005	0.003
Coefficient of Variation (%)	2.76	6.29	5.69

Reproducibility

Reproducibility was calculated from 10 successive determinations over 3 consecutive days, using 3 samples with different values, obtaining the following absorbance results:

Reproducibility	SAMPLE		
	1	2	3
Mean	0.069	0.053	1.582
Standard Deviation	0.004	0.002	0.060
Coefficient of Variation (%)	5.80	3.77	3.79

Clinical Sensitivity and Specificity

The BIOLISA RUBELLA IgM kit was used for the analysis of clinical samples previously characterized and confirmed by another reference enzyme immunoassay method. The results show that the clinical sensitivity of the BIOLISA RUBELLA IgM kit is 99.9% and the clinical specificity is 98.2%.

RESULT	REFERENCE			
	Positive	Negative	Total	
BIOLISA RUBELLA IgM	Positive	52	2	54
	Negative	0	112	112
	Total	52	114	166

Clinical Sensitivity: 99.9% (52/52) 95% CI = 93.2 to 99.9 %
Clinical Specificity: 98.2% (112/114) 95% CI = 93.8 to 99.8%

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

Rubella is a small, enveloped, spherical RNA virus belonging to the family Togaviridae. It is commonly known as German or 3-day measles. Rubella virus infection is transmitted through salivary droplets, resulting in a mild contagious rash in children or young adults. In childhood, the infection is a self-limiting, benign disease characterized by low-grade fever, headache, lymphadenopathy, arthralgia, and conjunctivitis. However, infection during pregnancy, especially in the first trimester, can lead to spontaneous abortion, intrauterine infection causing fetal death, or congenital anomalies. Congenital rubella depends on the period at which the infection occurs and can result in serious complications, including deafness, eye problems including cataracts and glaucoma, congenital heart disease, and mental retardation. IgM antibodies against rubella are produced initially, may reach detectable levels within 2-3 days and peak 14-21 days after the onset of symptoms that remain detectable during the next 4 - 8 weeks. The diagnosis of active or recent infection can be obtained by the presence of IgM antibodies in an initial sample. After several days, IgG antibodies appear after IgM, peaking at 14 - 21 days, with varying levels persisting throughout life. The presence of IgG anti-Rubella antibodies is indicative of previous infection and/or immunity.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

1. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev; 26(8); 1337–44.2017 AACR
2. WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
3. Herrmann, KL. Rubella Virus. In: Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology 4th Edition (1985) 779-784.
4. Turgeon, ML. Rubella Infection. In: Immunology and Serology in Laboratory Medicine. 2nd Edition (1996). 275-286.
5. Chernesky, MA, Mahony JB. Rubella Virus. In: Manual of Clinical Microbiology. 6th Edition (1995) 968-973.
6. Voller, A, Bidwell, DE. A simple Method for Detecting Antibodies to Rubella. Brit. J. Exp. Pathol. (1975) 56:338-339.
7. Rawls WE, Chernesky MA. Rubella Virus. Manual Clinical Immunology (1976) 452-455.
8. Millian, SJ, Wegman D. Rubella Serology: Applications, Limitations, and Interpretations. Amer. J. Pub. Health (1972) 170-176.
9. Bioclin – Dados de arquivos.

QUALITY ASSURANCE

Before being released for consumption, all Bioclin reagents are tested by the Quality Control Department. The quality of the reagents is assured until the expiration date indicated on the packaging, provided they are stored and transported under appropriate conditions.

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Phone: +55 (31) 3439.5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Made in Brazil







CUSTOMER SERVICE

Customer Advisory Service
Phone.: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

ANVISA registration for BIOLISA Rubella IgM kit:
10269360465

Review: August/2025

UNIVERSAL SYMBOLOGY

	CATALOG NUMBER		MADE BY
	LOT NUMBER		CONTROL
	MANUFACTURING DATE		POSITIVE CONTROL
	VALIDITY DATE (last day of the month)		NEGATIVE CONTROL
	TEMPERATURE LIMIT (store)		BIOLOGICAL RISK
	CONTENT IS SUFFICIENT FOR <N>-TEST		FLAMMABLE
	SEE INSTRUCTIONS FOR USE		CORROSIVE
	IN VITRO DIAGNOSTIC PRODUCT		TOXIC
	KEEP AWAY FROM SUNLIGHT		DO NOT USE IF PACKAGE IS DAMAGED
	DO NOT REUSE		PRODUCT STERILIZED
	CAUTION		DANGER