

Bioclin

BIOLISA RUBÉOLA IgM DBS

REF **K275**

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Teste imunoenzimático captura (ELISA) para determinação de anticorpos da classe IgM para o vírus da Rubéola em amostras de biológicas de **sangue seco coletadas em papel filtro (DBS)**, para triagem em adultos e neonatal, através de teste enzimmunoensaio. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Enzimmunoensaio ou imunoenzimático
O kit BIOLISA RUBÉOLA IgM DBS é um ensaio imunoenzimático em fase sólida baseado no princípio de detecção qualitativa por captura de Anticorpos IgM para o vírus da Rubéola em amostras humanas de sangue seco coletadas em papel filtro. Anticorpos IgM para o vírus da Rubéola, presentes na amostra de sangue seco são eluídas e se ligam aos Anticorpos 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. A intensidade da cor é medida em 450/620 nm.

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, Antígeno de Rubéola conjugado 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- Substrato** – Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução Tampão contendo Peróxido de Uréia, Tetrametilbenzidina (TMB) e conservante.
- 5- Solução de Parada** – Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Ácido Clorídrico 1 M.
- 6- Tampão de Eluição** – Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução Tampão, surfactante, estabilizante e conservante.
- Controle Negativo DBS – Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Amostra não reativa para Anticorpos IgM anti-Rubéola impregnada em Papel de Filtro. **Potencialmente infectante.**
- 8- Controle Positivo DBS** – Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Amostra reativa para Anticorpos IgM Anti-Rubéola impregnada em Papel de Filtro. **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- Substrato	1 Frasco x 12 mL	1 Frasco x 24 mL	1 Frasco x 60 mL
5- Solução de Parada	1 Frasco x 12 mL	1 Frasco x 24 mL	1 Frasco x 60 mL
6- Tampão de Eluição	1 Frasco x 20 mL	1 Frasco x 40 mL	1 Frasco x 100 mL
7- Controle Negativo DBS	1 Unidade	2 Unidades	3 Unidades
8- Controle Positivo DBS	1 Unidade	2 Unidades	3 Unidades

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 500 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 para técnica em papel filtro.
- 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.
- Picotador de papel (diâmetro de 3 ± 0,2 mm).

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 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

Sangue Seco coletado em papel filtro (DBS) – EDTA, Punção ou Calcanhar (para neonatos)

O papel filtro utilizado deve ser específico para coleta de amostras de sangue seco, a exemplo dos modelos S&S 903 e Ahlstrom 226. O laboratório deve certificar da qualidade das amostras antes da sua utilização. Os estudos de estabilidade, realizados pelo departamento de Pesquisa e Desenvolvimento da Bioclin, mostram que as amostras de sangue seco em papel filtro podem ser armazenadas por até 35 dias à temperatura ambiente, 2 anos a 2-8 °C ou a -20°C. O Manual "Coleta de sangue: Diagnóstico e monitoramento das DST, Aids e Hepatites Virais: Brasília, Ministério da Saúde, Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. 2010, 98 p. (Série TELELAB)"⁸, relata que as amostras de sangue seco em papel filtro podem ser armazenadas à temperatura ambiente, desde que fiquem protegidas de fonte de luz solar direta e em baixa umidade. Para armazenamento de até 2 anos, as amostras devem permanecer sob refrigeração, entre 2 e 8 °C. O armazenamento por tempo superior a 2 anos deve ser realizado à temperatura de -20 °C.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

Estabilidade Após Aberto

Os resultados do teste de estabilidade comprovam que o kit BIOLISA RUBÉOLA IgM DBS é estável, após aberto, durante 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 Nº 3 (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 todos os reagentes, amostras e controles para estabelecerem em temperatura ambiente (15 – 30 °C) por no mínimo 40 minutos.

1- Separar as cavidades a serem utilizadas considerando: Controle Positivo DBS, Controle Negativo DBS e amostras de sangue seco coletadas em papel de filtro (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- Adicionar um disco de 3 mm de Controle Positivo DBS, Controle Negativo DBS e amostras de sangue seco coletadas em papel filtro, previamente picotados, nas cavidades determinadas.

4- Pipetar 100 µL do Tampão de Eluição, em todas as cavidades, inclusive na cavidade para o Branco.

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- Após incubação descartar o conteúdo das cavidades por aspiração (Lavadora para técnica de papel filtro). 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.

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

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

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

11- Retirar o selador de placa das cavidades.

12- Repetir o item 7.

13- Pipetar 100 µL de Substrato em todas as cavidades. Inclusive na cavidade do Branco.

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

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

16- Retirar o selador de placa das cavidades.

17- Pipetar 100 µL de Solução de Parada em todas as cavidades.

18- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos.

19- 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 e dos controles estão compatíveis com os valores apresentados abaixo:

ITEM	ABSORVÂNCIA
Branco	< 0,150
Controle Negativo DBS	< 0,150
Controle Positivo DBS	> 0,500

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

CÁLCULOS QUALITATIVOS

Calcular Cut Off de acordo com a seguinte fórmula:
Cut Off = Absorbância Média do Controle Negativo DBS + 0,200.

Exemplo:

ITEM	ABSORBANCIAS
Controle Negativo DBS	0,020
	0,022
Cut Off = Absorbância Média do Controle Negativo DBS + 0,200	$(0,020 + 0,022) / 2 + 0,200 = 0,221$

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

Exemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Amostra	1,254
Valor de Cut-Off	0,221
Índice = Amostra / Valor de Cut-Off	$1,254 / 0,221 = 5,67$

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 DE 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

Assim, 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 1,254 e índice de 5,67, apresenta resultado positivo (índice > 1,2).

Cada laboratório deverá validar o cut-off conforme instrumentação utilizada e população pesquisada.

Observações: No caso de resultado indeterminado, a amostra deve ser reanalisada em duplicata. 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

A interpretação de um teste diagnóstico, não deve ser estabelecida com base em um único ensaio. Todos os resultados devem ser interpretados em conjunto com outras informações

clínicas disponíveis antes do diagnóstico definitivo. 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.

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 10 g/dL, Hemoglobina 1000 mg/dL, Ácido Oxálico 60 mg/dL, Fator Reumatóide 980 UI/mL, Proteína C Reativa 41,2 mg/dL e Anti-Estreptolisina O 1023 UI/mL.

REATIVIDADE CRUZADA

Foi realizado um estudo com 69 amostras de sangue seco coletadas em papel de filtro negativas para Rubéola, mas positivas para outras infecções, a fim de se avaliar a possibilidade de reatividade cruzada destes interferentes no resultado do BIOLISA RUBÉOLA IgM DBS. Dentre elas, 5 amostras para HTLV, 10 amostras positivas para Sífilis, 5 amostras positivas para HBsAg, 5 amostras positivas para HCV, 10 amostras positivas para Doença de Chagas, 4 amostras positivas para Zika, 10 amostras positivas para CMV, 10 amostras positivas para Toxoplasmose e 10 amostras positivas para HIV. Não foi observado reatividade cruzada com amostras positivas para Sífilis, HBsAg, HCV, Doença de Chagas, Zika, CMV, Toxoplasmose 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	1,504	0,882	0,013
Desvio Padrão	0,028	0,099	0,002
Coefficiente de Variação (%)	1,856	11,209	15,008

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	1,513	0,907	0,013
Desvio Padrão	0,014	0,032	0,001
Coefficiente de Variação (%)	0,895	3,517	2,670

Considerando a variação de todas as amostras testadas no estudo de precisão, foi observado que o kit apresentou um coeficiente de variação inferior a 20%.

Sensibilidade e Especificidade Clínica

O kit BIOLISA RUBÉOLA IgM DBS analisou amostras clínicas e em comparação com outros métodos de EIA. Os resultados mostram que a sensibilidade clínica do kit BIOLISA Rubéola IgM é > 99,99% e a especificidade clínica é > 99,99%.

RESULTADO	REFERÊNCIA			
	Positivo	Negativo	Total	
BIOLISA RUBÉOLA IgM DBS	Positivo	53	0	53
	Negativo	0	67	67
	Total	53	67	120

Sensibilidade Clínica: > 99,99% (53/53) - IC 95% = 95,60 a 100%
Especificidade Clínica: > 99,99% (67/67) - IC 95% = 94,45 a 100%

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.

Sendo assim, o kit Biolisa Rubéola IgM DBS, é uma valiosa ferramenta no acompanhamento da triagem Pré-Natal e Neonatal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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.
- 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.
- Coleta de sangue: Diagnóstico e monitoramento das DST, Aids e Hepatites Virais: Brasília, Ministério da Saúde, Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. 2010, 98 p. (Série TELELAB).
- 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.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 DBS na ANVISA: 10269360459

Revisão: Janeiro/2025

SIMBOLOGIA UNIVERSAL

	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		INFLAMÁVEL
	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 ESTERILIZADO
	CUIDADO		PERIGO

BIOLISA RUBEOLO IgM DBS

REF **K275**

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Prueba de captura por inmunoensayo enzimático (ELISA) para la determinación de anticuerpos IgM contra el virus de la rubéola en muestras biológicas de **sangre seca recogidas en papel de filtro (DBS)**, para detección en adultos y recién nacidos, mediante una prueba de inmunoensayo enzimático. Sólo para uso de diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Enzimainmunoensayo o inmunoenzimático
El kit BIOLISA RUBELLA IgM DBS es un inmunoensayo enzimático en fase sólida basado en el principio de detección cualitativa mediante captura de anticuerpos IgM contra el virus de la rubéola en muestras de sangre humana seca recogidas en papel de filtro. Los anticuerpos IgM contra el virus de la rubéola, presentes en la muestra de sangre seca, se eluyen y se unen a los anticuerpos recubiertos en la microplaca, formando inmunocomplejos. Después de la incubación inicial, la microplaca se lava para eliminar los materiales no unidos. Se añaden antígenos de rubéola conjugados con peroxidasa a la microplaca, que luego se incuban. Los Antígenos conjugados enzimáticamente se unen a los Anticuerpos IgM Anti-Rubéola presentes, adheridos a la placa recubierta con Anticuerpos IgM Anti-Rubéola. Se realiza un nuevo lavado para eliminar el exceso. Luego de este paso, se agrega el Sustrato y se incuban, produciendo un color azul que indica la cantidad de Anticuerpos IgM Anti-Rubéola presentes en la muestra. Se agrega la solución de parada para detener la reacción y se produce un cambio de color de azul a amarillo. La intensidad del color se mide a 450/620 nm.

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, Antígeno de Rubéola conjugado con tensioactivo Peroxidasa, estabilizantes, colorante y conservante.
- 3- Lavado Concentrado** – Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: solución tampón (fosfato < 0,5 mol/l, cloruro de potasio < 100 mmol/l, cloruro de sodio < 5 mol/l), tensioactivo y conservante.
- 4- Sustrato** – Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución tampón que contiene peróxido de urea, tetrametilbencidina (TMB) y conservante.
- 5- Solución de parada** – Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Ácido Clorhídrico 1 M.
- 6- Tampón de Elución** – Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución tampón, tensioactivo, estabilizador y conservante.
- 7- Control negativo DBS** – Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Muestra no reactiva para Anticuerpos IgM anti-Rubéola impregnados en Papel Filtro. **Potencialmente infeccioso.**
- 8- Control Positivo DBS** – Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Muestra reactiva para Anticuerpos IgM Anti-Rubéola impregnada en Papel Filtro. **Potencialmente infeccioso.**

PRESENTACIÓN

REACTIVOS	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 Viales x 24 mL	1 Viales x 60 mL
3- Lavado Concentrado	1 Vial x 50 mL	1 Viales x 100 mL	1 Viales x 500 mL
4- Sustrato	1 Vial x 12 mL	1 Viales x 24 mL	1 Viales x 60 mL
5- Solución de Parada	1 Vial x 12 mL	1 Viales x 24 mL	1 Viales x 60 mL
6- Tampón de Elución	1 Vial x 20 mL	1 Viales x 40 mL	1 Viales x 100 mL
7- Control Negativo DBS	1 Unidad	2 Unidades	3 Unidades
8- Control Positivo DBS	1 Unidad	2 Unidades	3 Unidades

EQUIPOS E INSUMOS OPERACIONALES

Materiales contenidos en el kit:

- Reactivos descritos en el cuadro anterior

Materiales necesarios, no contenidos en los kit:

- Pipetas capaces de dispensar volúmenes de 5 a 500 µL con un coeficiente de variación inferior al 1,5%.
- Repipetador para pipeteo repetitivo de volúmenes de 300 µL con un coeficiente de variación inferior al 1,5% o pipeta multicanal (opcional).
- Lavador de microplacas para técnica de papel de filtro.
- Lector ELISA con capacidad de absorbancia a 450 y 630 nm de longitud de onda.
- Papel absorbente para secar las microcavidades.
- Cronómetro o reloj.
- Botella para almacenar la solución de lavado después de la dilución.
- Agua destilada o desionizada.
- Instrumentos de control de calidad.
- Incubadora 37 °C ± 2 °C.
- Picotadora de papel (diámetro 3 ± 0,2 mm).

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

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

CUIDADOS ESPECIALES

- Sólo para uso profesional en diagnóstico *in vitro*.**
- Seguir estrictamente la metodología propuesta para obtener resultados precisos.
- El sobre que contiene la microplaca sólo debe abrirse cuando haya alcanzado la temperatura ambiente. Colocar las tiras de microcavidades no utilizadas de nuevo en el sobre, cerrar y almacenar entre 2 y 8 °C.
- El agua utilizada para limpiar el material debe ser fresca y libre de contaminantes.
- Las columnas desionizadoras saturadas liberan agua alcalina, varios iones, agentes oxidantes y reductores que pueden alterar significativamente los resultados.
- La solución de parada contiene ácido clorhídrico, que es un

ácido fuerte. Por lo tanto, manipúlela con el debido cuidado.
7- Todas las materias primas del producto están testadas como no reactivas para HBsAg y Anti-HCV. Sin embargo, estas pruebas no garantizan completamente la ausencia de agentes infecciosos. La manipulación de cualquier producto que contenga una muestra biológica es potencialmente capaz de transmitir enfermedades. Por lo tanto, deben tomarse precauciones de bioseguridad al manipular estos productos.

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

9- Como medida de protección, cubra la placa durante la reacción.

10- Asegúrese de que el fondo de la cavidad está limpio y seco y de que no hay burbujas en la superficie del líquido antes de leer la placa. No permita que los pocillos se sequen durante la prueba.

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

12- Recomendamos aplicar las normas locales, estatales y federales de protección del medio ambiente para que los reactivos y el material biológico sean eliminados de acuerdo con la legislación vigente.

13- Para información sobre bioseguridad o en caso de accidentes con el producto, consulte la FDS (Ficha de Datos de Seguridad) disponible en www.bioclin.com.br o contactando con el Centro de Atención al Cliente de Quibasa.

14- No utilice el producto si el embalaje está dañado.

15- Es imprescindible que los instrumentos y equipos utilizados estén debidamente calibrados y se sometan a un mantenimiento periódico.

MUESTRAS

Sangre seca recogida en papel de filtro (DBS) - EDTA, Punción o Heel Stick (para neonatos)

El papel de filtro utilizado debe ser específico para la recolección de muestras de sangre seca, como los modelos S&S 903 y Ahlstrom 226. El laboratorio debe certificar la calidad de las muestras antes de su uso. Los estudios de estabilidad, realizados por el departamento de Investigación y Desarrollo de Bioclin, muestran que las muestras de sangre seca en papel de filtro se pueden almacenar hasta 35 días a temperatura ambiente, 2 años a 2-8 °C o -20°C. El Manual "Colección de Sangre: Diagnóstico y seguimiento de las ETS, SIDA y Hepatitis Virales: Brasilia, Ministerio de Salud, Departamento de ETS, SIDA y Hepatitis Virales. 2010, 98 págs. (Serie TELELAB)"[®], informa que las muestras de sangre seca en papel de filtro se pueden almacenar a temperatura ambiente, siempre que estén protegidas de la luz solar directa y en condiciones de baja humedad. Para almacenamiento de hasta 2 años, las muestras deben permanecer refrigeradas, entre 2 y 8 °C. El almacenamiento durante más de 2 años debe realizarse a una temperatura de -20 °C.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

Estabilidad Después de la Apertura

Los resultados de la prueba de estabilidad demuestran que el kit BIOLISA RUBELLA IgM DBS es estable, una vez abierto, durante 30 días. Esta estabilidad puede variar según la prueba y las condiciones ambientales. Por lo tanto, se sugiere monitorear el desempeño del producto utilizando los controles internos del kit y los criterios de validación de la técnica.

PREPARO DE LOS REACTIVOS DE TRABAJO

Solución de Lavado

Diluir el contenido de la botella N° 3 (Lavado Concentrado) en una proporción 1:20 de agua destilada o desionizada; por ejemplo: 50 mL de solución de Lavado Concentrado en 1000 mL de agua destilada o desionizada. Después de la preparación, la solución se puede almacenar entre 2 y 30 °C hasta por 30 días. Si se produce cristalización, calentar a 37 °C hasta que

se disuelva.

Todos los demás reactivos están listos para usar

TÉCNICA

Para su uso en equipos automáticos, póngase en contacto con nuestro Servicio de Atención al Cliente.

Antes de iniciar el ensayo, dejar estabilizar todos los reactivos, muestras y controles a temperatura ambiente (15 - 30 °C) durante al menos 40 minutos.

Antes de comenzar el ensayo, coloque todos los reactivos, muestras y controles para que se establezcan a temperatura ambiente (15 - 30 °C) durante al menos 40 minutos.

1- Separar las cavidades a utilizar considerando: Control Positivo DBS, Control Negativo DBS y muestras de sangre seca recolectadas en papel de filtro (se recomienda realizar la prueba por duplicado). Devuelva las tiras de microplacas no utilizadas al embalaje sellado original.

2- Separar la primera cavidad para el Blanco (OPCIONAL).

3- Agregar en las cavidades determinadas un disco de 3 mm de Control Positivo DBS, Control Negativo DBS y muestras de sangre seca recolectadas en papel de filtro, previamente perforado.

4- Pipetee 100 µL de tampón de elución en todos los pocillos, incluido el pocillo blanco.

5- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos, cubrir las cavidades con sellador de placas.

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

7- Después de la incubación, desechar el contenido de las cavidades mediante aspiración (Arandela para técnica de papel de filtro). Utilice aproximadamente 300 µL de Solución de Lavado, previamente preparada, y realice un total de cinco (5) ciclos de lavado con agitación de 5 segundos. Para asegurar que el plato se seque, al final del lavado, golpee el plato durante unos segundos sobre papel absorbente.

Nota: Un lavado/secado deficiente puede provocar resultados inadecuados.

8- Pipetee 100 µL de conjugado en todos los pocillos, incluido el pocillo blanco.

9- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos. Cubra las cavidades con sellador de placas.

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

11- Retirar el sellador de placas de las cavidades.

12- Repetir el punto 7.

13- Pipetear 100 µL de Sustrato en todos los pocillos. Incluso en la cavidad blanca.

14- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos. Cubra las cavidades con sellador de placas.

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

16- Retirar el sellador de placas de las cavidades.

17- Pipetee 100 µL de solución de parada en todos los pocillos.

18- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos.

19- Leer usando doble filtro: 450 nm / 630 nm en hasta 15 minutos (máximo).

VERIFICACIÓN DE LA TÉCNICA

Comprobar si los resultados obtenidos en la lectura del Blanco y controles son comparables con los valores que se presentan a continuación:

ITEM	ABSORBANCE
Blanco	< 0,150
Control Negativo DBS (R8)	< 0,150
Control Positivo DBS (R9)	> 0,500

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

CÁLCULOS QUALITATIVO

Calcular el Cut Off según la siguiente fórmula:
Cut Off = Absorbancia Media del Control Negativo DBS + 0,200.

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Control Negativo DBS	0,020
	0,022
Cut Off = Absorbancia Media del Control Negativo DBS + 0,200	$(0,020 + 0,022) / 2 + 0,200 = 0,221$

Calcular el Índice dividiendo la absorbancia de la muestra por el valor de Cut Off.

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Muestra	1,254
Valor de Cut-Off	0,221
Índice = Muestra / Valor de Cut-Off	$1,254 / 0,221 = 5,67$

Nota: Los datos presentados en los ejemplos son meramente ilustrativos y no pueden utilizarse para calcular resultados.

Cada laboratorio debe validar el punto de corte en función de la instrumentación utilizada y de la población encuestada.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

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

RESULTADOS	INDICE
Negativo (No Reactivo)	≤ 0,8
Indeterminado	0,8 - 1,2
Positivo (Reactivo)	≥ 1,2

Así, 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 tanto, la muestra mencionada en el ejemplo, cuya absorbancia fue de 1,254 y índice de 5,67, presenta un resultado positivo (índice > 1,2).

Cada laboratorio debe validar el corte según la instrumentación utilizada y la población investigada.

Observaciones: En caso de resultado indeterminado, la muestra deberá volver a analizarse por duplicado. Las muestras que produzcan resultados repetidamente indeterminados se deben volver a analizar utilizando un método alternativo. Si los resultados siguen siendo indeterminados, se debe recolectar una nueva muestra dentro de dos semanas. Debe prevalecer el resultado de la última muestra recogida. La interpretación de una prueba diagnóstica no debe establecerse basándose en un único ensayo. Se deben incluir otras pruebas de confirmación antes de que una muestra se considere positiva. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición. Todos los resultados deben interpretarse junto con otra información clínica disponible, antes del diagnóstico descriptivo de la enfermedad. Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable y no son el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

LIMITACIONES DEL PROCESO

La interpretación de una prueba diagnóstica no debe establecerse en base a una única prueba. Todos los resultados deben interpretarse junto con otra información clínica disponible antes del diagnóstico definitivo. Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable y no son el único criterio para determinar 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. 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 69 muestras de sangre seca recolectadas en papel de filtro que resultaron negativas para Rubéola, pero positivas para otras infecciones, con el fin de evaluar la posibilidad de reactividad cruzada de estas interferencias en el resultado de BIOLISA RUBELLA IgM DBS. Entre ellas, 5 muestras positivas para HTLV, 10 muestras positivas para Sífilis, 5 muestras positivas para HBsAg, 5 muestras positivas para VHC, 10 muestras positivas para Enfermedad de Chagas, 4 muestras positivas para Zika, 10 muestras positivas para CMV, 10 muestras positivas para Toxoplasmosis, y 10 muestras positivas para VIH. No se observó reactividad cruzada con muestras positivas para Sífilis, HBsAg, VHC, Enfermedad de Chagas, Zika, CMV, Toxoplasmosis y VIH. A pesar de los resultados encontrados, no se puede descartar por completo la posibilidad de reactividad cruzada. 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 estén claramente establecidos los procedimientos, estándares, límites y tolerancia a variaciones. Es importante resaltar 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 fue calculada a partir de 20 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

Repetibilidad	MUESTRA		
	1	2	3
Promedio	1,504	0,882	0,013
Desvío Patrón	0,028	0,099	0,002
Coefficiente de Variación (%)	1,856	11,209	15,008

Reproductibilidad

La reproductibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

Reproductibilidad	MUESTRA		
	1	2	3
Promedio	1,513	0,907	0,013
Desvío Patrón	0,014	0,032	0,001
Coefficiente de Variación (%)	0,895	3,517	2,670

Considerando la variación de todas las muestras analizadas en el estudio de precisión, se observó que el kit tenía un coeficiente de variación inferior al 20%.

Sensibilidad y Especificidad Clínicas

El kit BIOLISA RUBELLA IgM analizó muestras clínicas y las comparó con otros métodos de EIA. Los resultados muestran que la sensibilidad clínica del kit BIOLISA Rubella IgM es > 99,99% y la especificidad clínica es > 99,99%.

RESULTADO	REFERENCIA			
	Positivo	Negativo	Total	
BIOLISA RUBEOOLA IgM DBS	Positivo	53	0	53
	Negativo	0	67	67
	Total	53	67	120

Sensibilidad Clínica: > 99,99% (53/53) - IC 95% = 95,60 a 100%
Especificidad Clínica: > 99,99% (67/67) - IC 95% = 94,45 a 100%

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

La rubéola es un virus de ARN pequeño y esférico que pertenece a la familia Togaviridae. Se le conoce comúnmente como sarampión alemán o de 3 días. La infección por el virus de la rubéola se transmite a través de gotitas de saliva, lo que provoca una erupción cutánea contagiosa leve en niños o adultos jóvenes. En la infancia, la infección es una enfermedad benigna y autolimitada, caracterizada por fiebre baja, dolor de cabeza, linfadenopatía, artralgia y conjuntivitis. Sin embargo, la infección durante el embarazo, especialmente en el primer trimestre, puede provocar un aborto espontáneo, una infección intrauterina que provoque la muerte del feto o anomalías congénitas. La rubéola congénita depende del período en el que se produce la infección y puede provocar complicaciones graves, como sordera, problemas oculares como cataratas y glaucoma, cardiopatías congénitas y retraso mental. Los anticuerpos IgM contra la rubéola se producen inicialmente, alcanzando niveles detectables dentro de 2 a 3 días y alcanzando su punto máximo entre 14 y 21 días después del inicio de los síntomas, que permanecen detectables durante las siguientes 4 a 8 semanas. El diagnóstico de infección activa o reciente se puede obtener por la presencia de anticuerpos IgM en la muestra inicial. Después de varios días, los anticuerpos IgG aparecen después de los IgM, alcanzando un máximo entre los 14 y 21 días y persistiendo en niveles variables durante toda la vida. La presencia de anticuerpos IgG anti-rubéola es indicativa de infección y/o inmunidad previa. Por lo tanto, el kit Biolisa Rubella IgM DBS es una herramienta valiosa en el seguimiento del cribado prenatal y neonatal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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
- 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.
- Coleta de sangue: Diagnóstico e monitoramento das DST, Aids e Hepatites Virais: Brasília, Ministério da Saúde, Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. 2010, 98 p. (Série TELELAB).
- Bioclin – Dados de arquivos.

GARANTÍA DE CALIDAD

Antes de ser liberado para el consumo, todos los reactivos **Bioclin** son testados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos es asegurada hasta la fecha de validez mencionada en el embalaje de presentación, desde que sean almacenados y transportados en las 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 - Indústria Brasileira

ATENCIÓN AL CONSUMIDOR

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

Número de Registro del kit BIOLISA RUBEOOLA IgM DBS en la ANVISA: 10269360459

Revisión: Enero/2025

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL

	NÚMERO DE CATALOGO		FABRICADO POR
	NÚMERO DE LOTE		CONTROLAR
	FECHA DE FABRICACION		CONTROL POSITIVO
	FECHA DE VALIDEZ (último día del mes)		CONTROL NEGATIVO
	LÍMITE DE TEMPERATURA (tienda)		RIESGO BIOLÓGICO
	EL CONTENIDO ES SUFICIENTE PARA <N> PRUEBA		INFLAMABLE
	VER INSTRUCCIONES DE USO		CORROSIVO
	PRODUCTO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	PROTEGER DE LUZ Y CALOR		NO UTILICE SI EL EMBALAJE ESTA DAÑADA
	NO REUTILIZA		PRODUCTO ESTERILIZADO
	PRECAUCIÓN		PELIGRO

BIOLISA RUBELLA IgM DBS

REF K275

INSTRUCTIONS FOR USE

FUNCTION

Enzymatic immunoassay capture test (ELISA) for determining IgM antibodies to the Rubella virus in biological samples of **dried blood collected on filter paper (DBS)**, for screening in adults and newborns, using an enzyme immunoassay test. For *in vitro* diagnostic use only.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Enzyme immunoassay or immunoenzymatic immunoassay based on the principle of qualitative detection by capture of IgM Antibodies to the Rubella virus in human dried blood samples collected on filter paper. IgM antibodies to the Rubella virus, present in the dried blood sample, are eluted and bind to the antibodies coated on the microplate, forming immunocomplexes. After the initial incubation, the microplate is washed to remove unbound materials. Peroxidase-conjugated Rubella antigens are added to the microplate, which is then incubated. The enzyme-conjugated Antigens bind to the Anti-Rubella IgM Antibodies present, attached to the plate coated with Anti-IgM Antibodies. New washing is carried out to remove 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. The Stop Solution is added to stop the reaction and there is a color change from blue to yellow. Color intensity is measured at 450/620 nm.

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 Antigen conjugated to Peroxidase surfactant, stabilizers, coloring and preservative.
- 3- Concentrated Washing** – 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- Substrate** – Store between 2 and 8 °C. Contains: Buffer Solution containing Urea Peroxide, Tetramethylbenzidine (TMB) and preservative.
- 5- Stopping Solution** – Store between 2 and 8 °C. Contains: 1 M Hydrochloric Acid.
- 6- Elution Buffer** – Store between 2 and 8 °C. Contains: Buffer solution, surfactant, stabilizer and preservative.
- 7- DBS Negative Control** – Store between 2 and 8 °C. Contains: Non-reactive sample for anti-Rubella IgM Antibodies impregnated on Filter Paper. **Potentially infectious.**
- 8- DBS Positive Control** – Store between 2 and 8 °C. Contains: Reactive sample for IgM Anti-Rubella Antibodies impregnated on Filter Paper. **Potentially infectious.**

PRESENTATION

REAGENTS	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 Vials x 24 mL	1 Vials x 60 mL
3- Concentrated Wash	1 Vial x 50 mL	1 Vials x 100 mL	1 Vials x 500 mL
4- Substrate	1 Vial x 12 mL	1 Vials x 24 mL	1 Vials x 60 mL
5- Stop Solution	1 Vial x 12 mL	1 Vials x 24 mL	1 Vials x 60 mL
6- Elution Buffer	1 Vial x 20 mL	1 Vials x 40 mL	1 Vials x 100 mL
7- DBS Negative Control	1 Unit	2 Units	3 Units
8- DBS Positive Control	1 Unit	2 Units	3 Units

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Materials in the kit:

- Reagents described in the above table

Required materials not contained in the kit:

- Pipettes capable of dispensing volumes of 5 to 500 µL with a coefficient of variation of less than 1.5%.
- Repipettor for repetitive pipetting of volumes of 300 µL with a coefficient of variation of less than 1.5% or multichannel pipette (optional).
- Microplate washer for filter paper technique.
- ELISA reader with absorbance capacity at 450 and 630 nm wavelength.
- Absorbent paper to dry the microcavities.
- Stopwatch or clock.
- Bottle to store the washing solution after dilution.
- Distilled or deionized water.
- Quality control tools.
- Incubator 37 °C ± 2 °C.
- Paper mincer (diameter 3 ± 0.2 mm).

TRANSPORTATION AND STORAGE 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 moisture. **Do not freeze.**

SPECIAL CARE

- For professional *in vitro* diagnostic use only.**
- Strictly follow the proposed methodology in order to obtain accurate results.
- The sachet containing the microplate should only be opened after it has reached room temperature. Place the unused microcavity strips back in the sachet, seal and store between 2 and 8 °C.
- The water used to clean the material must be fresh and free of contaminants.
- Saturated deionizing columns release alkaline water, various ions, oxidizing and reducing agents which can significantly alter the results.
- The Stop Solution contains hydrochloric acid, which is a strong acid. Therefore, handle it with due care.

- All the product's raw materials are tested as non-reactive for HBsAg and Anti-HCV. However, these tests do not provide complete assurance of the absence of infectious agents. The handling of any product containing a biological sample is potentially capable of transmitting diseases. Biosafety precautions must therefore be taken when handling these products.
- Always pipette the reagents in the same order to minimize the difference in reaction time between the microcavities.
- As a protective measure, cover the plate during the reaction.
- Ensure that the bottom of the cavity 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.
- Do not expose reagents, especially the Substrate, to strong light or hypochlorite vapors during storage or incubation steps.
- We recommend applying local, state and federal environmental protection regulations so that reagents and biological material are disposed of in accordance with current legislation.
- For information related to biosafety or in the event of accidents with the product, consult the SDS (Safety Data Sheet) available at www.bioclin.com.br or by contacting Quibasa's Customer Service Center.
- Do not use the product if the packaging is damaged.
- It is essential that the instruments and equipment used are properly calibrated and undergo periodic maintenance.

SAMPLES

Dried blood collected on filter paper (DBS) - EDTA, Puncture or Heel stick (for neonates)

The filter paper used must be specific for collecting dried blood samples, such as the S&S 903 and Ahlstrom 226 models. The laboratory must certify the quality of the samples before use. Stability studies, carried out by Bioclin's Research and Development department, show that dried blood samples on filter paper can be stored for up to 35 days at room temperature, 2 years at 2-8 °C or -20°C. The Manual "Blood Collection: Diagnosis and monitoring of STDs, AIDS and Viral Hepatitis: Brasília, Ministry of Health, Department of STD, AIDS and Viral Hepatitis. 2010, 98 p. (TELELAB Series)[®], reports that dried blood samples on filter paper can be stored at room temperature, as long as they are protected from direct sunlight and in low humidity. For storage of up to 2 years, samples must remain refrigerated, between 2 and 8 °C. Storage for more than 2 years must be carried out at a temperature of -20 °C.

PROCESS DESCRIPTION

Stability After Opening

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

PREPARATION OF WORKING REAGENT

Washing Solution

Dilute the contents of bottle No. 3 (Concentrated Wash) in a 1:20 ratio of distilled or deionized water; for example: 50 mL of Concentrated Wash solution in 1000 mL of distilled or deionized water. After preparation, the solution can be stored between 2 and 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 the Customer Service Department (SAC).

Before starting the assay, place all reagents, samples and controls to stabilize at room temperature (15 – 30 °C) for at least 40 minutes.

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

- Separate the cavities to be used considering: DBS Positive Control, DBS Negative Control and dried blood samples collected on filter paper (it is recommended to test in duplicate). Return unused microplate strips to the original sealed packaging.
- Separate the first cavity for the White (OPTIONAL).
- Add a 3 mm disc of DBS Positive Control, DBS Negative Control and dried blood samples collected on filter paper, previously perforated, into the determined cavities.
- Pipette 100 µL of Elution Buffer into all wells, including the blank well.
- Homogenize gently for ± 30 seconds, cover the cavities with plate sealer.
- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37 °C ± 2 °C.
- After incubation, discard the contents of the cavities by aspiration (Washer for filter paper technique). Use approximately 300 µL of Washing Solution, previously prepared, and perform a total of five (5) washing cycles with 5-second shaking. To ensure the plate dries, at the end of washing, tap the plate for a few seconds on absorbent paper.
- Poor washing/drying may cause inadequate results.
- Pipette 100 µL of Conjugate into all wells, including the White well.
- Gently homogenize for ± 30 seconds. Cover the cavities with plate sealer.
- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37 °C ± 2 °C.
- Remove the plate sealer from the cavities.
- Repeat item 7.
- Pipette 100 µL of Substrate into all wells. Including in the White cavity.
- Gently homogenize for ± 30 seconds. Cover the cavities with plate sealer.
- Incubate for 10 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37 °C ± 2 °C.
- Remove the plate sealer from the cavities.
- Pipette 100 µL of Stopping Solution into all wells.
- Gently homogenize for ± 30 seconds.
- 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	ABSORBANCE
Blank	< 0.150
DBS Negative Control	< 0.150
DBS Positive Control	> 0.500

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

CALCULATIONS

QUALITATIVE

Calculate the Cut-Off according to the following formula:
Cut Off = Average Absorbance of Negative Control DBS + 0.200.

Example:

ITEM	ABSORBANCE
DBS Negative Control	0.020
	0.022
Cut Off = Average Absorbance of Negative Control DBS + 0.200	$(0.020 + 0.022) / 2 + 0.200 = 0.221$

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

Example:

ITEM	ABSORBANCIA
Sample	1.254
Cut-Off Value	0.221
Index = Sample / Cut-Off Value	$1.254 / 0.221 = 5.67$

Note: The data presented in the examples is for illustrative purposes only and cannot be used to calculate results.

Each laboratory must validate the cut-off according to the instrumentation used and the population surveyed.

INTERPRETATION OF RESULTS

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

RESULTS	INDEX
Negative (No Reactive)	≤ 0.8
Indeterminate	0.8 - 1.2
Positive (Reactive)	≥ 1.2

Thus, 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. Therefore, the sample mentioned in the example, whose absorbance was 1.254 and index of 5.67, presents a positive result (index > 1.2).

Each laboratory must validate the cut according to the instrumentation used and the population researched.

Observations: In case of an indeterminate result, the sample must be re-analyzed in duplicate. Samples that yield repeatedly indeterminate results should be retested using an alternative method. If results remain indeterminate, a new sample should be collected within 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. Other confirmatory tests must be included before a sample is considered positive. A negative result does not exclude the possibility of exposure. All results must be interpreted in conjunction with other available clinical information, before descriptive diagnosis of the disease. The results provided by this kit must be interpreted by the responsible medical professional, and are not the only criteria for determining the patient's diagnosis and/or treatment.

LIMITATIONS OF THE PROCESS

The interpretation of a diagnostic test should not be established on the basis of a single assay. All results must be interpreted in conjunction with other available clinical information before a definitive diagnosis can be made. The results provided by this kit must be interpreted by the medical professional responsible and are not the sole criterion for determining the diagnosis and/or treatment of the patient.

INTERFERENTS

No interference was observed for 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 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 carried out with 69 dried blood samples collected on filter paper that were negative for Rubella, but positive for other infections, in order to evaluate the possibility of cross-reactivity of these interferences in the BIOLISA RUBELLA IgM DBS result. Among them, 5 samples for HTLV, 10 positive samples for Syphilis, 5 positive samples for HBsAg, 5 positive samples for HCV, 10 positive samples for Chagas Disease, 4 positive samples for Zika, 10 positive samples for CMV, 10 positive samples for Toxoplasmosis and 10 positive samples for HIV. No cross-reactivity was observed with samples positive for Syphilis, HBsAg, HCV, Chagas Disease, Zika, CMV, Toxoplasmosis and HIV. Despite the results found, the possibility of cross-reactivity cannot be completely ruled out. The final diagnosis must 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 note that all measurement systems have a characteristic analytical variability, which must be monitored by the laboratories themselves. To this end, it is advisable to use controls to assess the precision and accuracy of 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
Average	1.5004	0.882	0.013
Standard Deviation	0.028	0.099	0.002
Coefficient of Variation (%)	1,856	11,209	15,008

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
Average	1.513	0.907	0.013
Standard Deviation	0.014	0.032	0.001
Coefficient of Variation (%)	0.895	3.517	2.670

Considering the variation of all samples tested in the precision study, it was observed that the kit presented a coefficient of variation of less than 20%.

Clinical Sensitivity and Specificity

The BIOLISA RUBELLA IgM kit analyzed clinical samples and compared it to other EIA methods. The results show that the clinical sensitivity of the BIOLISA Rubella IgM kit is > 99.99% and the clinical specificity is > 99.99%.

RESULT	REFERENCE			
	Positive	Negative	Total	
BIOLISA RUBELLA IgM DBS	Positive	53	0	53
	Negative	0	67	67
	Total	53	67	120

Clinical Sensitivity: > 99.99% (53/53) - IC 95% = 95.60 a 100%

Clinical Specificity: > 99.99% (67/67) – IC 95% = 94.45 a 100 %

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

Rubella is a spherical, small enveloped RNA virus belonging to the Togaviridae family. It is commonly known as German or 3-day measles. Rubella virus infection is transmitted through droplets of saliva, resulting in a mild contagious rash in children or young adults. In childhood, the infection is a self-limiting, benign disease, characterized by low fever, headache, lymphadenopathy, arthralgia and conjunctivitis. However, infection during pregnancy, especially in the first trimester, can lead to miscarriage, intrauterine infection causing fetal death, or congenital anomalies. Congenital Rubella depends on the period in 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, reaching detectable levels within 2 - 3 days and peaking 14 - 21 days after the onset of symptoms that remain detectable for the next 4 - 8 weeks. The diagnosis of active or recent infection can be obtained by the presence of IgM antibodies in the initial sample. After several days, IgG antibodies appear after IgM, peaking at 14 - 21 days, persisting at varying levels for life. The presence of anti-Rubella IgG antibodies is indicative of previous infection and/or immunity. Therefore, the Biolisa Rubella IgM DBS kit is a valuable tool in monitoring prenatal and neonatal screening.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

- 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.
- 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.
- Coleta de sangue: Diagnóstico e monitoramento das DST, Aids e Hepatites Virais: Brasília, Ministério da Saúde, Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. 2010, 98 p. (Série TELELAB).
- Bioclin – Dados de arquivos.

QUALITY ASSURANCE

Before being released for consumption, all **Bioclin** reagents are tested by the Department of Quality Control. The quality of reagents is assured until expiration date stated on the presentation packaging, when 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 RUBELLA IgM DBS kit: 10269360459

Review: January/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