

Bioclin

BIOLISA RUBÉOLA IgG

REF **K319**

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Teste para determinação quantitativa e qualitativa de anticorpos IgG para o vírus da Rubéola em amostras humanas de soro e plasma por enzimaímunoensaio em microplaca. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Enzimaímunoensaio ou imunoenzimático
O kit BIOLISA RUBÉOLA IgG é um ensaio imunoenzimático em fase sólida baseado no princípio de detecção qualitativa e quantitativa indireta de anticorpos IgG para Rubéola em soro e plasma. Anticorpos IgG anti-Rubéola, presentes na amostra, se ligam aos antígenos revestidos na microplaca formando complexos antígeno-anticorpos IgG. Após a incubação inicial, a microplaca é lavada para remover os materiais não ligados. Anticorpos anti-IgG humano conjugados à peroxidase são adicionados à microplaca, que é então incubada. Os anticorpos anti-IgG humano conjugados a enzima ligam-se aos anticorpos IgG presentes, ligados aos antígenos. 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 IgG anti-Rubéola presentes nas amostras. A solução de parada é adicionada para interromper a reação havendo uma mudança de cor de azul para amarelo, medida em um leitor de microplacas.

REAGENTES

1- Padrões Referência (A - E) - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Cinco (5) frascos (A - E) de Padrões Referência contendo anticorpos IgG anti-Rubéola em diferentes concentrações em solução de tampão contendo surfactante, estabilizantes, corante e conservante. **Potencialmente infectante.** As concentrações dos Padrões Referência (A-E) variam a cada lote. **Vide rótulos dos frascos.**

2- Conjugado - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução tampão, anticorpo anti-IgG humano ligado à peroxidase, surfactante, estabilizantes, corante e conservante.

3- Placa Sensibilizada - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Placa sensibilizada com antígenos de Rubéola purificados.

4- 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.

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

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

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

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

9- Controle Positivo - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução tampão, anticorpos IgG anti-Rubéola, corante, estabilizantes, surfactante e conservante. **Potencialmente infectante.**

APRESENTAÇÃO

REAGENTES	1	2	3
	96 Cavidades	192 Cavidades	480 Cavidades
1- Padrões Referência (A-E)	1 Frasco x 300 µL	1 Frasco x 300 µL	1 Frasco x 1 mL
2- Conjugado	1 Frasco x 12 mL	1 Frasco x 24 mL	1 Frasco x 60 mL
3- Placa Sensibilizada	1 Unidade	2 Unidades	5 Unidades
4- Lavagem Concentrada	1 Frasco x 50 mL	1 Frasco x 100 mL	1 Frasco x 250 mL
5- Diluente de Amostra	1 Frasco x 25 mL	1 Frasco x 50 mL	1 Frasco x 110 mL
6- Substrato	1 Frasco x 12 mL	1 Frasco x 24 mL	1 Frasco x 60 mL
7- Solução de Parada	1 Frasco x 12 mL	1 Frasco x 24 mL	1 Frasco x 60 mL
8- Controle Negativo	1 Frasco x 300 µL	1 Frasco x 300 µL	1 Frasco x 1 mL
9- 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:

1- Pipetas capazes de dispensar volumes de 5 a 300 µL com coeficiente de variação menor que 1,5%.

2- Repipetador para pipetagens repetitivas de volumes de 300 µL com coeficiente de variação menor que 1,5% ou pipeta multicanal (opcional).

3- Lavadora de microplaca (opcional).

4- Leitora de ELISA com capacidade de absorbância em 450 e 630 nm de comprimento de onda.

5- Papel absorvente para secar as microcavidades.

6- Cronômetro ou relógio.

7- Frasco para estocar a Solução de Lavagem após diluição.

8- Água destilada ou deionizada.

9- Ferramentas de Controle de Qualidade.

10- 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

1- Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.

2- Seguir com rigor a metodologia proposta para a obtenção de resultados exatos.

3- 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.

4- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de contaminantes.

5- Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos, e agentes oxidantes e redutores que podem alterar de forma significativa os resultados.

6- A Solução de Parada contém Ácido Clorídrico que é um ácido forte. Portanto, manuseá-lo com devido cuidado.

7- 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 IgG 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 Nº 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, Padrões Referência (A-E), Controles e Amostras para estabilizarem em temperatura ambiente (15 – 30 °C) por no mínimo 40 minutos.

1- Separar as cavidades a serem utilizadas considerando: Padrões Referência (A-E), 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, Controles e Padrões Referência nas cavidades previamente determinadas. Observar a mudança de cor do diluente 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	< 0,100
Padrão Referência A	< 0,100
Padrão Referência B	> 0,250 e < 0,600
Padrão Referência C	> B e < D
Padrão Referência D	> C e < E
Padrão Referência E	> 1,000
Controle Negativo	< 0,150
Controle Positivo	> 1,000

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

CÁLCULOS

QUALITATIVO

Considerar como Cut Off a absorbância média obtida com o Padrão Referência B.

Exemplo:

ITEM	ABSORBANCIAS
Padrão Referência B	0,417
	0,419
Cut Off = Absorbancia Média do Padrão Referência B	Cut Off = (0,417 + 0,419) / 2 Cut Off = 0,418

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

Exemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Amostra	1,346
Valor de Cut Off	0,418
Índice = Amostra / Valor de Cut Off	1,346 / 0,418 = 3,22

QUANTITATIVO

Uma curva de calibração é usada para determinar a concentração de anticorpos anti-Rubéola em amostras desconhecidas.

Preparo da Curva de Calibração

Registrar as absorbâncias obtidas na leitora de microplaca, como apresentado no exemplo. Calcular as médias das duplicatas (caso sejam realizadas duplicatas). Plotar as absorbâncias médias de cada Padrão Referência (A-E) versus a concentração correspondente em UI/mL (descrita no rótulo) em papel milimetrado e traçar a curva.

Exemplo:

Padrão Referência	Concentração em UI/mL, vide rótulo	Absorbância	Média das duplicatas
A	0	0,029	0,030
		0,031	
B	15	0,417	0,418
		0,419	
C	30	0,822	0,823
		0,824	
D	60	1,420	1,414
		1,408	
E	120	2,142	2,143
		2,144	

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	QUANTITATIVO
	ÍNDICE	CONCENTRAÇÃO
Negativo (Não Reagente)	≤ 0,8	≤ 12
Indeterminado	0,8 – 1,2	12,1 – 17,9
Positivo (Reagente)	≥ 1,2	≥ 18,0

Amostras com índice superior a 1,2 são consideradas como positivas, amostras com índice inferiores 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 1,346 e índice de 3,22, apresenta resultado positivo (índice > 1,2).

O cálculo da concentração das amostras testadas também pode ser realizado utilizando programas adequados de computador, através de regressão linear.

Amostra	Absorbância	Concentração calculada (UI/mL)	Resultado Quantitativo
1	0,011	Abaixo do limite inferior de detecção	< 0,161 UI/mL
2	3,255	Acima do limite superior de detecção	> 120,0 UI/mL
3	2,064	113,6	113,6 UI/mL

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. Todos os resultados devem ser interpretados em conjunto com outras informações clínicas disponíveis, antes do diagnóstico descritivo da doença. Um resultado negativo não exclui a possibilidade de exposição. 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. 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.

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 81 amostras 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 IgG. Dentre elas 10 amostras positivas para HTLV, 10 amostras positivas para Sífilis, 5 amostras positivas para HBsAg, 6 amostras positivas para HCV, 10 amostras positivas para Doença de Chagas, 10 amostras positivas para Zika, 10 amostras positivas para CMV, 10 amostras positivas para Toxoplasmosse e 10 amostras positivas para HIV. Não foi observado reatividade cruzada com amostras positivas para HTLV, Sífilis, HBsAg, HCV, Doença de Chagas, Zika, CMV, Toxoplasmosse 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	1,048	2,092	0,148
Desvio Padrão	0,034	0,086	0,019
Coefficiente de Variação (%)	3,215	4,106	12,560

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	1,049	2,092	0,148
Desvio Padrão	0,007	0,010	0,003
Coefficiente de Variação (%)	0,625	0,454	1,697

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 Analítica

A sensibilidade analítica do kit BIOLISA RUBÉOLA IgG é 0,86 UI/mL.

Sensibilidade e Especificidade Clínica

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

RESULTADO	REFERÊNCIA			
	Positivo	Negativo	Total	
BIOLISA RUBÉOLA IgG	Positivo	195	0	195
	Negativo	0	50	50
	Total	195	50	245

Sensibilidade Clínica: >99,9% (195/195) IC 95% = 98,48 a 100%

Especificidade Clínica: >99,9% (50/50) IC 95% = 94,12 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 intra-uterina causando a morte fetal ou anomalias congênicas. 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

- 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. 4. 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.
- 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.
- 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 IgG na ANVISA:
10269360464

Revisão: Julho/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		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 RUBÉOLA IgG

REF K319

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Prueba para la determinación cuantitativa y cualitativa de anticuerpos IgG contra el virus de la Rubéola en muestras de suero y plasma humanos mediante enzoinmunoensayo en microplaca. Solo para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Enzaimmunoensayo o inmunoenzimático
El kit BIOLISA RUBÉOLA IgG es un ensayo inmunoenzimático en fase sólida basado en el principio de detección indirecta cualitativa y cuantitativa de anticuerpos IgG contra la rubéola en suero y plasma. Los anticuerpos IgG contra la rubéola presentes en la muestra se unen a los antígenos que recubren la microplaca, formando complejos antígeno-anticuerpo IgG. Tras la incubación inicial, se lava la microplaca para eliminar los materiales no unidos. Se añaden anticuerpos anti-IgG humanos conjugados con peroxidasa a la microplaca y se incuban. Los anticuerpos anti-IgG humanos conjugados con enzima se unen a los anticuerpos IgG presentes, unidos a los antígenos. Se realiza un nuevo lavado para eliminar el exceso. Tras este paso, se añade el sustrato y se incuban, produciendo un color azul que indica la cantidad de anticuerpos IgG anti-rubéola presentes en las muestras. Se añade la solución de parada para detener la reacción y se observa un cambio de color de azul a amarillo, medido en un lector de microplacas.

REACTIVOS

1- Estándares de Referencia (A - E) - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Cinco (5) vials (A - E) de Estándares de Referencia que contienen anticuerpos IgG anti-Rubéola en diferentes concentraciones en solución tampón, tensioactivo, estabilizadores, colorante y conservante. **Potencialmente infeccioso.** Las concentraciones de los Estándares de Referencia (A-E) varían con cada lote. **Ver etiqueta del vial.**

2- Conjugado - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución tampón, anticuerpo humano anti-IgG ligado a peroxidasa, tensioactivo, estabilizantes, colorante y conservante.

3- Placa Sensibilizada - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Placa sensibilizada con antígenos Rubéola purificados.

4- 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), surfactante y conservante.

5- Diluyente de Muestra - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución tampón, estabilizantes, surfactante, quelante y conservante.

6- Sustrato - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución tampón con peróxido de urea, tetrametilbencidina (TMB) y conservante.

7- Solución de parada - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Ácido clorhídrico 1 M.

8- Control Negativo - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución tampón, estabilizador, surfactante y conservante. **Potencialmente infeccioso.**

9- Control Positivo - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución tampón, anticuerpos IgG anti-Rubéola, colorante, estabilizantes, surfactante y conservante. **Potencialmente infeccioso.**

PRESENTACIÓN

REACTIVOS	1	2	3
	96 Cavidades	192 Cavidades	480 Cavidades
1- Estándares de Referencia (A-E)	1 Vial x 300 µL	1 Vial x 300 µL	1 Vial x 1 mL
2- Conjugado	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	1 Vial x 60 mL
3- Placa Sensibilizada	1 Unidad	2 Unidades	5 Unidades
4- Lavado Concentrado	1 Vial x 50 mL	1 Vial x 100 mL	1 Vial x 250 mL
5- Diluyente de Muestra	1 Vial x 25 mL	1 Vial x 50 mL	1 Vial x 110 mL
6- Sustrato	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	1 Vial x 60 mL
7- Solución de Parada	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	1 Vial x 60 mL
8- Control Negativo	1 Vial x 300 µL	1 Vial x 300 µL	1 Vial x 1 mL
9- 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:

- Pipetas capaces de dispensar volúmenes de 5 a 300 µL con menor coeficiente de variación que 1,5%.
- Repetidor para pipetajes repetitivos de volúmenes de 300 µL con menor coeficiente de variación que 1,5% o pipeta multicanal (opcional).
- Lavadora de microplaca (opcional).
- Lectora de ELISA con capacidad de absorbancia en 450 y 630 nm de longitud de onda.
- Papel absorbente para secar las microcavidades.
- Cronómetro o reloj.
- Frasco para almacenar la Solución de Lavado después de diluida.
- Agua destilada o deionizada.
- Herramientas de Control de Calidad.
- 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

- Solamente para el uso diagnóstico *in vitro* profesional.**
- Seguir con rigor la metodología propuesta para la obtención de resultados exactos.
- 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.
- El agua utilizada en la limpieza del material debe ser reciente e exenta de contaminantes.
- Columnas deionizadoras saturadas liberan agua alcalina, iones diversos y agentes oxidantes y reductores, que pueden alterar de forma significativa los resultados.
- La Solución de Parada contiene ácido clorhídrico, que es un ácido fuerte. Por lo tanto manosearlo con el debido cuidado.
- 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 IgG 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 Estándares de Referencia (A-E), los Controles y las Muestras para que se establezcan a temperatura ambiente (15-30 °C) durante al menos 40 minutos.

1- Separe los pocillos a utilizar: Estándares de Referencia (A-E), 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, Controles y Estándares de Referencia 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.

PARA OBTENER LAS INSTRUCCIONES DE USO EN FORMATO IMPRESO, SIN COSTO ADICIONAL, CONTACTE CON EL SERVICIO DE ASESORAMIENTO AL CLIENTE:

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

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, los controles y los estándares de referencia son compatibles con los valores que se presentan a continuación:

ITEM	ABSORBÁNCIAS
Blanco	< 0,100
Estándar de Referencia A	< 0,100
Estándar de Referencia B	> 0,250 y < 0,600
Estándar de Referencia C	> B y < D
Estándar de Referencia D	> C y < E
Estándar de Referencia E	> 1,000
Control Negativo	< 0,150
Control Positivo	> 1,000

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

CÁLCULOS

CUALITATIVO

Considerar como Cut Off la absorbancia promedio obtenido con el Estándar de Referencia B.

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIAS
Estándar de Referencia B	0,417
	0,419
Cut Off = Absorbancia promedio del Estándar de Referencia B	Cut Off = (0,417 + 0,419) / 2 Cut Off = 0,418

Calcule el índice dividiendo la absorbancia de la muestra por el valor de corte.

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Muestra	1,346
Valor de Cut Off	0,418
Índice = Muestra / Valor de Cut Off	1,346 / 0,418 = 3,22

CUANTITATIVO

Se utiliza una curva de calibración para determinar la concentración de anticuerpos IgG contra la rubéola en muestras desconocidas.

Preparo da Curva de Calibração

Registre las absorbancias obtenidas en el lector de microplacas, como se muestra en el ejemplo. Calcule los promedios de los duplicados (si se realizan). Trace las absorbancias promedio de cada Estándar de Referencia (A-E) frente a la concentración correspondiente en UI/mL (descrita en la etiqueta) en papel milimetrado y dibuje la curva.

Ejemplo:

Estándar de Referencia	Concentración en UI/mL, ver etiqueta	Absorbancia	Promedio de las duplicatas
A	0	0,029	0,030
		0,031	
B	15	0,417	0,418
		0,419	
C	30	0,822	0,823
		0,824	
D	60	1,420	1,414
		1,408	
E	120	2,142	2,143
		2,144	

Nota: Los datos presentados en los ejemplos son solo ilustrativos y no pueden utilizarse para calcular resultados. Cada laboratorio debe validar el valor de corte según la instrumentación utilizada y la población estudiada.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

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

RESULTADOS	CUALITATIVO	CUANTITATIVO
	ÍNDICE	CONCENTRACIÓN
Negativo (No Reactivo)	≤ 0,8	≤ 12
Indeterminado	0,8 – 1,2	12,1 – 17,9
Positivo (Reactivo)	≥ 1,2	≥ 18,0

Las muestras con un índice superior a 1,2 se consideran positivas, las muestras con un índice inferior 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 1,346 y un índice de 3,22, presenta un resultado positivo (índice > 1,2).

El cálculo de la concentración de las muestras analizadas también puede realizarse mediante programas informáticos adecuados, mediante regresión lineal.

Muestra	Absorbancia	Concentración calculada (UI/mL)	Resultado Cuantitativo
1	0,011	Abaixo do limite inferior de detecção	< 0,161 UI/mL
2	3,255	Acima do limite superior de detecção	> 120,0 UI/mL
3	2,064		113,6 UI/mL

Notas: En caso de un resultado indeterminado, la muestra debe volver a analizarse por duplicado. Las muestras que repetidamente arrojan resultados indeterminados deben volver a analizarse con un método alternativo. Si los resultados persisten, se debe tomar una nueva muestra en dos semanas. El resultado de la última muestra tomada prevalecerá. Todos los resultados deben interpretarse junto con otra información clínica disponible antes de realizar un diagnóstico descriptivo de la enfermedad. Un resultado negativo no descarta la posibilidad de exposición. Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable y no constituyen el único criterio para determinar el diagnóstico o el tratamiento del paciente.

LIMITACIONES DEL PROCESO

La interpretación de una prueba diagnóstica no debe basarse en un solo ensayo. Se deben incluir pruebas confirmatorias adicionales antes de que una muestra se considere positiva. Un resultado negativo no descarta la posibilidad de exposición. Todos los resultados deben interpretarse junto con otra información clínica disponible antes de realizar un diagnóstico descriptivo de la enfermedad.

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 81 muestras negativas para rubéola pero positivas para otras infecciones con el fin de evaluar la posibilidad de reactividad cruzada de estos agentes interferentes en el resultado de BIOLISA RUBELLA IgG. Entre ellas, 10 muestras fueron positivas para HTLV, 10 muestras fueron positivas para sífilis, 5 muestras fueron positivas para HBsAg, 6 muestras fueron positivas para HCV, 10 muestras fueron positivas para enfermedad de Chagas, 10 muestras fueron positivas para Zika, 10 muestras fueron positivas para CMV, 10 muestras fueron positivas para toxoplasmosis y 10 muestras fueron positivas para HIV. No se observó reactividad cruzada con muestras positivas para HTLV, sífilis, HBsAg, HCV, enfermedad de Chagas, Zika, CMV, toxoplasmosis 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 lasificaciones.

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	1,048	2,092	0,148
Desviación Estándar	0,034	0,086	0,019
Coefficiente de Variación (%)	3,215	4,106	12,560

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	1,049	2,092	0,148
Desviación Estándar	0,007	0,010	0,003
Coefficiente de Variación (%)	0,625	0,454	1,697

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

Sensibilidad Analítica

La sensibilidad analítica del kit BIOLISA RUBÉOLA IgG es de 0,86 UI/mL.

Sensibilidad y Especificidad Clínicas

El kit BIOLISA RUBÉOLA IgG se utilizó para el análisis de muestras clínicas previamente caracterizadas y confirmadas mediante otro método de enzimoimmunoensayo de referencia. Los resultados muestran que la sensibilidad clínica del kit BIOLISA RUBÉOLA IgG es >99,9 % y la especificidad clínica es >99,9 %.

RESULTADO	REFERENCIA			
	Positivo	Negativo	Total	
BIOLISA RUBÉOLA IgG	Positivo	195	0	195
	Negativo	0	50	50
	Total	195	50	245

Sensibilidad clínica: >99,9% (195/195) IC 95% = 98,48 a 100%

Especificidad clínica: >99,9% (50/50) IC 95% = 94,12 a 100%

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

La rubéola es un virus RNA pequeño, esférico y envuelto, perteneciente 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 rubéola congénita es una enfermedad que 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. Inicialmente, se producen anticuerpos IgM contra la rubéola, que alcanzan niveles detectables en 2-3 días, alcanzando su nivel máximo entre 14 y 21 días después del inicio de los síntomas y permaneciendo detectables durante las siguientes 4-8 semanas. El diagnóstico de infección activa o reciente se puede realizar mediante la presencia de anticuerpos IgM en una muestra inicial. Después de varios días, aparecen anticuerpos IgG después de los IgM, alcanzando su nivel máximo entre 14 y 21 días, con niveles variables que persisten a lo largo de la vida. La presencia de anticuerpos IgG contra la rubéola es indicativa de infección previa o inmunidad.

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. 4. 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.
- 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.
- 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 - Indústria Brasileira

ATENCIÓN AL CONSUMIDOR

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

Registro del kit BIOLISA RUBÉOLA IgG en la ANVISA:
10269360464

Revisión: Julio/2025



	NUMERO DE CATALOGO		FABRICADO POR
	NUMERO 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		TOXICO
	PROTEGER DE LUZ Y CALOR		NO UTILICE SI EL EMBALAJE ESTA DAÑADA
	NO REUTILIZA		PRODUCTO ESTERILIZADO
	PRECAUCIÓN		PELIGRO

BIOLISA RUBELLA IgG

REF K319

INSTRUCTIONS FOR USE

FUNCTION

Test for quantitative and qualitative determination of IgG antibodies to Rubella virus in human serum and plasma samples by enzyme immunoassay in microplate. For *in vitro* diagnostic use only .

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Enzyme immunoassay or immunoenzymatic assay based on the principle of indirect qualitative and quantitative detection of Rubella IgG antibodies in serum and plasma. Rubella IgG antibodies, present in the sample, bind to the antigens coated on the microplate forming antigen-IgG antibody complexes. After the initial incubation, the microplate is washed to remove unbound materials. Peroxidase-conjugated human anti-IgG antibodies are added to the microplate, which is then incubated. The enzyme-conjugated human anti-IgG antibodies bind to the IgG antibodies present, bound to the antigens. A new wash is performed to remove excess. After this step, the substrate is added and incubated producing a blue color, which indicates the amount of anti-rubella IgG antibodies present in the samples. 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- Reference Standards (A-E) - Store between 2 and 8 °C. Contains: Five (5) vials (A - E) of Reference Standards containing anti-Rubella IgG antibodies in different concentrations in buffer solution containing surfactant, stabilizers, dye and preservative. **Potentially infectious.** The concentrations of the Reference Standards (A-E) vary with each batch. **See vial labels.**

2- Conjugate - Store between 2 and 8 °C. Contains: Buffer solution, anti-human IgG antibody linked to peroxidase, surfactant, stabilizers, dye and preservative.

3- Sensitized Plate - Store between 2 and 8 °C. Contains: Plate sensitized with purified Rubella antigens.

4- 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.

5- Sample Diluent - Store between 2 and 8 °C. Contains: Buffer solution, stabilizers, surfactant, chelator and preservative.

6- Substrate - Store between 2 and 8 °C. Contains: Buffer solution containing urea peroxide, tetramethylbenzidine (TMB) and preservative.

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

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

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

PRESENTATION

REAGENTS	1	2	3
	96 Cavities	192 Cavities	480 Cavities
1- Reference Standards (A-E)	1 Vial x 300 µL	1 Vial x 300 µL	1 Vial x 1 mL
2- Conjugate	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	1 Vial x 60 mL
3- Sensitized Plate	1 Unit	2 Units	5 Units
4- Concentrated Wash	1 Vial x 50 mL	1 Vial x 100 mL	1 Vial x 250 mL
5- Sample Diluent	1 Vial x 25 mL	1 Vial x 50 mL	1 Vial x 110 mL
6- Substrate	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	1 Vial x 60 mL
7- Stop Solution	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	1 Vial x 60 mL
8- Negative Control	1 Vial x 300 µL	1 Vial x 300 µL	1 Vial x 1 mL
9- 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:

- Pipettes capable of dispensing volumes from 5 to 300 µL with a coefficient of variation lower than 1.5%.
- Repipette for repetitive pipetting of volumes of 300 µL with a coefficient of variation lower than 1.5% or multichannel pipette (optional).
- Microplate washer (optional).
- ELISA reader with absorbance capacity at 450 and 630 nm wavelength.
- Absorbent paper to dry the microwells.
- Stopwatch or clock.
- Vial to store the Wash Solution after dilution.
- Distilled or deionized water.
- Quality Control Tools.
- 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

- For professional *in vitro* diagnostic use only.
- Strictly follow the proposed methodology to obtain accurate results.
- 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.
- The water used to clean the material must be fresh and free of contaminants.
- Saturated deionizing columns release alkaline water, various ions, and oxidizing and reducing agents that can significantly alter the results.
- The Stop Solution contains Hydrochloric Acid, which is a strong acid. Therefore, handle it with due care.
- 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.

- Always pipette the reagents in the same order to minimize the difference in reaction time between the microwells.
- As a protective measure, the plate must be covered during the reaction.
- 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.
- Do not expose the reagents, especially the Substrate, to strong light or hypochlorite vapors during the storage or incubation stages.
- 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.
- 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).
- 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

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 IgG 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, Reference Standards (A - E), Controls and Samples to stabilize at room temperature (15 - 30 °C) for at least 40 minutes.

- Separate the wells to be used considering: Reference Standards (A - E), Controls and Samples (it is recommended to test in duplicate). Return the unused strips of the microplate to the original sealed packaging.
- Separate the first well for the Blank (OPTIONAL).
- Pipette 100 µL of Sample Diluent, including in the well for the Blank.
- Pipette 5 µL of Sample, Controls and Reference Standards 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.
- Gently mix for ± 30 seconds, cover the wells with plate sealer.
- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37 °C ± 2 °C.
- Remove the sealer from the wells.
- 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.

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

Note: Inadequate washing/drying may cause inadequate results.

- Pipette 100 µL of Conjugate into all wells, including the Blank well.
- Gently mix for ± 30 seconds. Cover the wells with the plate sealer.
- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37 °C ± 2 °C.
- Remove the plate sealer from the wells.
- Repeat item 8.
- Pipette 100 µL of Substrate into all wells, including the Blank well.
- Gently mix for ± 30 seconds. Cover the wells with the plate sealer.
- Incubate for 10 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37 °C ± 2 °C.
- Remove the plate sealer from the wells.
- Pipette 100 µL of Stop Solution into all wells, including the Blank well.
- Gently mix 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, Controls and Reference Standards are compatible with the values presented below:

ITEM	ABSORBANCES
Blank	< 0.100
Reference Standard A	< 0.100
Reference Standard B	> 0.250 and < 0.600
Reference Standard C	> B and < D
Reference Standard D	> C and < E
Reference Standard E	> 1.000
Negative Control	< 0.150
Positive Control	> 1.000

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

CALCULATIONS

QUALITATIVE

Consider the average absorbance obtained with Reference Standard B as the Cut Off.

Example:

ITEM	ABSORBANCE
Reference Standard	0.417
	0.419
Cut Off = Average Absorbance from Reference Standard B	Cut Off = (0.417 + 0.419) / 2 Cut Off = 0.418

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

Example:

ITEM	ABSORBANCIA
Sample	1.346
Cut Off Value	0.418
Index = Sample / Cut Off Value	1.346 / 0.418 = 3.22

QUANTITATIVE

A calibration curve is used to determine the concentration of IgG antibodies to Rubella in unknown samples.

Preparation of the Calibration Curve

Record the absorbances obtained in the microplate reader, as shown in example. Calculate the averages of the duplicates (if duplicates are performed). Plot the average absorbances of each Reference Standard (A-E) versus the corresponding Concentration in IU/mL (described on the label) on graph paper and draw the curve.

Example

Reference Standard	Concentration in UI/mL, see labor	Absorbance	Average of duplicates
A	0	0.029	0.030
		0.031	
B	15	0.417	0.418
		0.419	
C	30	0.822	0.823
		0.824	
D	60	1.420	1.414
		1.408	
E	120	2.142	2.143
		2.144	

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.

RESULTADOS	QUALITATIVE	QUANTITATIVE
	INDEX	CONCENTRATION
Negative (Non Reactive)	< 0.8	≤ 12
Indeterminate	0.8 – 1.2	12.1 – 17.9
Positive (Reactive)	> 1.2	≥ 18.0

Samples with an index greater than 1.2 are considered positive, samples with an index less than 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 1.346 and index of 3.22, presents a positive result (index > 1.2). The calculation of the concentration of the tested samples can also be performed using appropriate computer programs, through linear regression.

Sample	Absorbance	Calculated concentration (UI/mL)	Quantitative result
1	0.011	Below the lower limit of detection	< 0.161 IU/mL
2	3.255	Above the upper limit of detection	> 120.0 IU/mL
3	2.064	113.6	113.6 IU/mL

Notes: In the case of an indeterminate result, the sample should be retested in duplicate. Samples that repeatedly yield indeterminate results should be retested using an alternative method. If the results remain indeterminate, a new sample should be collected in two weeks. The result of the last sample collected should prevail. All results should be interpreted in conjunction with other available clinical information,

before a descriptive diagnosis of the disease is made. A negative result does not exclude the possibility of exposure. 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.

PROCESS LIMITATIONS

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 a descriptive diagnosis of the disease is made.

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 conducted with 81 samples negative for Rubella but positive for other infections in order to evaluate the possibility of cross-reactivity of these interfering agents in the BIOLISA RUBELLA IgG result. Among them, 10 samples were positive for HTLV, 10 samples were positive for Syphilis, 5 samples were positive for HBsAg, 6 samples were positive for HCV, 10 samples were positive for Chagas disease, 10 samples were positive for Zika, 10 samples were positive for CMV, 10 samples were positive for Toxoplasmosis and 10 samples were positive for HIV. No cross-reactivity was observed with samples positive for HTLV, 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 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
Average	1.048	2.092	0.148
Standard Deviation	0.034	0.086	0.019
Coefficient of Variation (%)	3.215	4.106	12.560

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	1,049	2,092	0.148
Standard Deviation	0.007	0.010	0.003
Coefficient of Variation (%)	0.625	0.454	1,697

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%.

Analytical Sensitivity

The analytical sensitivity of the BIOLISA RUBELLA IgG kit is 0.86 IU/mL.

Clinical Sensitivity and Specificity

The BIOLISA RUBELLA IgG 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 IgG kit is >99.9% and the clinical specificity is >99.9%.

RESULT	REFERENCE			
	Positive	Negative	Total	
BIOLISA RUBELLA IgG	Positive	195	0	195
	Negative	0	50	50
	Total	195	50	245

Clinical Sensitivity: 98.5% (65/66) IC 95% = 95.5 a 99.99%
Clinical Specificity 98.8% (79/80) IC 95% = 96.3 a 99.99%

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

Rubella is a small, spherical, enveloped RNA virus belonging to the Togaviridae family. 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 benign, self-limiting disease characterized by low-grade fever, headache, lymphadenopathy, arthralgia, and conjunctivitis. However, infection during pregnancy, especially in the first trimester, may lead to spontaneous abortion, intrauterine infection causing fetal death, or congenital anomalies.

Congenital rubella is a disease that depends on the period at which infection occurs and can result in serious complications, including deafness, eye problems including cataracts and glaucoma, congenital heart disease and mental retardation. IgM antibodies to rubella are produced initially, reaching detectable levels within 2 - 3 days and peaking 14 - 21 days after the onset of symptoms and remaining detectable for the next 4 - 8 weeks. The diagnosis of active or recent infection can be made by the presence of IgM antibodies in an initial sample. After several days, IgG antibodies appear after IgM, peaking 14 - 21 days, with varying levels persisting throughout life. The presence of IgG antibodies to rubella is indicative of previous infection and/or immunity.

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. 4. 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.
- 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.
- 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 IgG kit: 10269360464

Review: July/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