

BIOLISA RUBÉOLA IgG

REF K125

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Teste para determinação quantitativa e qualitativa de Anticorpos IgG para o vírus da Rubéola em amostras humanas de soro, plasma e sangue total em papel de filtro por enzimaimunoensaio em microplaca. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Enzimaimunoensaio ou imunoenzimático
O kit BIOLISA Rubéola IgG é um ensaio imunoenzimático em fase sólida baseada no princípio de detecção qualitativa e quantitativa indireta de Anticorpos IgG para o vírus da Rubéola no soro, plasma e sangue total em papel de filtro. Anticorpos IgG Anti-Rubéola vírus presentes na amostra ligam-se 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 e então incubados. Os Anticorpos Enzima-Conjugado Anti-IgG humano se ligam aos Anticorpos IgG imobilizados pelos Antígenos presentes. É realizada nova Lavagem para remover os excedentes. Após esta etapa, o Substrato é adicionado e incubado produzindo uma cor azul que indica a quantidade de Anticorpos IgG presentes nas amostras. A Solução de Parada é adicionada para interromper a reação havendo uma mudança de cor 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 para Anti-Rubéola em diferentes concentrações em Solução de Tampão, 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 contendo Anticorpo Anti-IgG humano ligado à Peroxidase, Surfactante, Estabilizantes, Corante e conservante.
- 3-Placa Sensibilizada** - Conservar entre 2 e 8°C.
- 4-Lavagem Concentrada** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão, 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- Controle Negativo** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão, estabilizante, surfactante e conservante. **Potencialmente infectante.**
- 8- Controle Positivo** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão, Anticorpos IgG Anti-Rubéola, corante, estabilizantes, surfactante e conservante. **Potencialmente infectante.**
- 9- Solução de Parada** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Ácido Clorídrico 1 M.
- 10- Seladores de Placa**
- 11- Tampão de Eluição de Papel de Filtro** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão, surfactante, estabilizante e conservante.
- 12- Controle Negativo de Extração** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Amostra não reativa para Anticorpos IgG Anti-Rubéola impregnada em Papel de Filtro. **Potencialmente infectante.**
- 13- Controle Positivo de Extração** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Amostra reativa para Anticorpos IgG Anti-Rubéola impregnada em Papel de Filtro. **Potencialmente infectante.**

APRESENTAÇÃO

REAGENTES	1	2	3
	96 CAVIDADES	192 CAVIDADES	480 CAVIDADES
1- Padrões Referência (A - E)	1 Frasco (A - E) x 300 µL	2 Frascos (A - E) x 300 µL	5 Frascos (A - E) x 300 µL
2- Conjugado	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
3- Placa Sensibilizada	1 Unidade (96 Cavidades)	2 Unidades (192 Cavidades)	5 Unidades (480 Cavidades)
4- Lavagem Concentrada	1 Frasco x 50 mL	2 Frascos x 50 mL	5 Frascos x 50 mL
5- Diluente de Amostra	1 Frasco x 42 mL	2 Frascos x 42 mL	5 Frascos x 42 mL
6- Substrato	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
7- Controle Negativo	1 Frasco x 300 µL	2 Frascos x 300 µL	5 Frascos x 300 µL
8- Controle Positivo	1 Frasco x 300 µL	2 Frascos x 300 µL	5 Frascos x 300 µL
9- Solução de Parada	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
10- Seladores de Placa	3 Unidades	6 Unidades	15 Unidades
11- Tampão de Eluição de Papel de Filtro	1 Frasco x 20 mL	2 Frascos x 20 mL	5 Frascos x 20 mL
12- Controle Negativo de Extração	1 Unidade	2 Unidades	5 Unidades
13- Controle Positivo de Extração	1 Unidade	2 Unidades	5 Unidades

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Materiais contidos no kit:

- Reagentes descritos no quadro anterior.
- Instruções de uso (manual).

Materiais necessários não contidos no 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 diluída.
- 8- Água destilada ou deionizada.
- 9- Ferramentas de Controle de Qualidade.
- 10- Incubadora de 37°C ± 2°C.
- 11- Picotador de papel (diâmetro de 3 mm) para técnica de papel de filtro.

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*.**
- 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 e deve ser não reagente para HBsAg, Anti-HIV 1&2 e Anti-HCV. Entretanto, esses testes não oferecem total segurança da ausência de agentes infecciosos. A manipulação de todo produto que contém soro 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.

Sangue Total em Papel de Filtro

Sangue Total (Punção ou EDTA).

As amostras secas em papel de filtro podem ser armazenadas a temperatura ambiente desde que, fiquem protegidas de fonte de luz solar direta e baixa umidade. Para armazenamento de até 2 anos, as amostras devem permanecer sob refrigeração, entre 2 a 8°C. Para armazenamento superior a 2 anos, as amostras devem permanecer a -20°C.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

Estabilidade Após Aberto

Os resultados do teste de estabilidade comprovam que o kit BIOLISA Rubéola IgG 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 N°4 (Lavagem Concentrada) em 1000 mL de água destilada ou deionizada. Após o preparo a solução pode ser estocada entre 2 a 30°C até a data de validade impressa no frasco original. Caso ocorra cristalização, aquecer a 37°C até dissolução.

Substrato

O Substrato é pronto para o uso.

TÉCNICA

Amostra de Soro e Plasma

- Antes de iniciar o ensaio, colocar todos os 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 Padrões Referência (A - E), Controles e Amostras 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. 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).

Amostra de Sangue Total em Papel de Filtro

- Antes de iniciar o ensaio, colocar todos os 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- Adicionar um disco de 3 mm do Controle Positivo de Extração, Controle Negativo de Extração e Amostras de Sangue Total em Papel de Filtro, previamente picotados, nas cavidades determinadas.
 - 4 - Pipetar 100 µL do Tampão de Eluição de Papel de Filtro, inclusive na cavidade para o Branco.
 - 5- Pipetar 5 µL de Controles e Padrões Referência (A - E) nas cavidades previamente determinadas.
 - 6- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos, cobrir as cavidades com selador de placas.
 - 7- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37°C ± 2°C.
 - 8- Retirar o selador das cavidades.
 - 9- Descartar o conteúdo das cavidades por aspiração (Lavadora) ou por decantação (Manual). Retirar os discos de papel, caso necessário, com auxílio de uma agulha ou ponteira. Usar 300 µL aproximadamente de Solução de Lavagem, **previamente preparada**, e efetuar um total de cinco (5) ciclos de lavagem. 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.
 - 10- Pipetar 100 µL de Conjugado em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco.
 - 11- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
 - 12- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37°C ± 2°C.
 - 13- Retirar o selador de placa das cavidades.
 - 14- Repetir o item 9.
 - 15- Pipetar 100 µL de Substrato em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco.
 - 16- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
 - 17- Incubar por 10 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37°C ± 2°C.
 - 18- Retirar o selador de placa das cavidades.
 - 19- Pipetar 100 µL de Solução de Parada em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco.
 - 20- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos.
 - 21- Ler utilizando filtro duplo: 450 nm / 630 nm em até 15 minutos (no máximo).

VERIFICAÇÃO DA TÉCNICA

Para amostras de Soro, Plasma e Sangue Total em Papel de Filtro Verifique se os resultados obtidos para leitura do Branco, Padrões Referência (A-E) e Controles 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	> 1,400
Controle Negativo	< 0,100
Controle Positivo	> 1,000
Controle Negativo de Extração	< 0,300
Controle Positivo de Extração	> 1,000

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

CÁLCULOS

QUALITATIVO

Para Amostras de Soro, Plasma e Sangue Total em Papel de Filtro Considerar como Cut Off a absorbância média obtida com o Padrão Referência B.

Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Padrão Referência B	0,451
	0,449
Cut Off = Absorbância Média do Padrão Referência B	Cut Off = (0,451 + 0,449) / 2 Cut Off = 0,450

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

Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIA
Amostra	1,346
Valor do Cut off	0,450
Índice = Amostra / Valor de Cut Off	Índice = 1,346 / 0,450 Índice = 2,99

QUANTITATIVO

Uma curva de calibração é usada para determinar a concentração de Anticorpos Anti-Rubéola vírus em amostras desconhecidas.

Preparo da Curva de Calibração

Técnica de Soro e Plasma

Registrar as absorbâncias obtidas na leitora de microplaca, como apresentado no exemplo 1. Calcular as médias das duplicatas (caso sejam realizadas duplicatas).

Plotar as absorbâncias médias de cada Padrão Referência versus a concentração correspondente em UI/mL (descrita no rótulo) em papel milimetrado (antes de plotá-las no gráfico) traçar a curva.

Técnica de Sangue Total em Papel de Filtro

Registrar as absorbâncias obtidas na leitora de microplaca, como apresentado no exemplo 1. Calcular as médias das duplicatas (caso sejam realizadas duplicatas).

Definir os novos valores de concentrações para técnica de papel de filtro multiplicando a concentração de cada Padrão Referência (descrita no rótulo) pelo fator de 2,5.

Plotar as absorbâncias médias de cada Padrão Referência versus a concentração correspondente em UI/mL em papel milimetrado (antes de plotá-las no gráfico) traçar a curva.

Exemplo 1

PADRÕES	ABSORBÂNCIA	ABSORBÂNCIA MÉDIA	CONCENTRAÇÃO PARA TÉCNICA DE SORO OU PLASMA	CONCENTRAÇÃO PARA TÉCNICA DE SANGUE TOTAL EM PAPEL DE FILTRO
A	0,007	0,009	0	0 x 2,5 = 0
	0,011			
B	0,451	0,450	15	15 x 2,5 = 37,5
	0,449			
C	0,848	0,850	30	30 x 2,5 = 75
	0,852			
D	1,490	1,491	60	60 x 2,5 = 150
	1,493			
E	2,006	2,100	120	120 x 2,5 = 300
	2,195			

As amostras que tenham absorbância acima do Padrão Referência E, devem ser pré-diluídas utilizando Diluente de Amostra e devem ser testadas novamente. A concentração deve ser multiplicada pelo fator de diluição. Leitura automática e cálculo podem ser realizados através da função de regressão linear em programas adequados de computador.

Nota: Os dados apresentados nos exemplos são apenas para ilustração e não podem ser usados em substituição à curva de calibração, que deve ser construída no laboratório.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Amostra de Soro, Plasma e Sangue Total em Papel de Filtro

RESULTADOS	QUALITATIVO PARA AMOSTRA DE SORO, PLASMA E SANGUE TOTAL EM PAPEL DE FILTRO	QUANTITATIVO PARA AMOSTRA DE SORO OU PLASMA	QUANTITATIVO PARA AMOSTRAS DE SANGUE TOTAL EM PAPEL DE FILTRO
	ÍNDICE	CONCENTRAÇÃO	CONCENTRAÇÃO
Negativo	≤ 0,80	≤ 12	≤ 30
Positivo	≥ 1,20	≥ 18	≥ 45
Indeterminado	0,81 – 1,19	12,1 – 17,9	30,1 – 44,9

Observação: No caso de resultado indeterminado, a amostra deve ser reanalisada. As amostras que obtiverem resultados repetidamente indeterminados devem ser retestadas utilizando um método alternativo. Se os resultados permanecerem indeterminados, deve-se coletar uma nova amostra em duas semanas. Deve prevalecer o resultado da última amostra coletada. 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 estabelecido com base em um único ensaio. Deve-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.

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

SENSIBILIDADE ANALÍTICA

A sensibilidade analítica foi calculada a partir da dosagem de duas amostras diluídas sucessivamente até a última concentração detectada. A sensibilidade analítica encontrada foi de 0,161 UI/mL.

SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE CLÍNICA

Amostra de Soro e Plasma

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

SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE CLÍNICA	Resultado Esperado	Biolisa Rubéola IgG
Amostra Positiva	195	195
Amostra Negativa	50	50
Total de Amostras Testadas	245	

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

Especificidade Clínica: > 99,99% (50/50) IC 95% = 94,12 a 100%

Amostra de Sangue Total em Papel de Filtro

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

SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE CLÍNICA	Resultado Esperado	Biolisa Rubéola IgG
Amostra Positiva	95	95
Amostra Negativa	51	51
Total de Amostras Testadas	146	

Sensibilidade Clínica: >99,99% (95/95) IC 95% = 96,90 a 100%

Especificidade Clínica: >99,99% (51/51) IC 95% = 94,23 a 100%

LINEARIDADE

A reação é capaz de detectar concentrações até a concentração do ponto mais alto da curva de calibração. Para amostras com valores superiores, diluir a mesma com Diluente de Amostra, repetir a dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

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 congêntas.

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.
- 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.
- QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

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: 10269360191

Revisão: Setembro/2024

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		INFLÂMVEL
	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 RUBÉOLA IgG

REF K125

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD
La determinación cuantitativa y cualitativa de Anticuerpos IgG contra el virus de la Rubéola en muestras humanas de suero, plasma y sangre total en papel de filtro de inmunoensayo enzimático de microplacas. Solo para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN
Metodología: Enzimaimmunoensayo 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 el virus de la Rubéola en suero, plasma y sangre total en papel de filtro. Los Anticuerpos Anti-virus de la Rubéola IgG presentes en la muestra se unen a los Antígenos recubiertos en la microplaca, formando complejos de Antígeno-Anticuerpo IgG. Después de la incubación inicial, la microplaca se lava para eliminar materiales no unidos. Los Anticuerpos Anti-IgG humana conjugados con Peroxidasa se añaden a la microplaca y luego se incuban. Anticuerpos enzimáticos: el conjugado Anti-IgG humano se une a los Anticuerpos IgG inmovilizados por los Antígenos presentes. Se realiza un nuevo lavado para eliminar el excedente. Después de esta etapa, el Sustrato se agrega y se incuba produciendo un color azul que indica la cantidad de Anticuerpos IgG presentes en las muestras. La Solución de Parada se agrega para detener la reacción con un cambio de color a amarillo, medido en un lector de microplacas.

REACTIVOS
1- Patrones Referencia (A - E) - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: cinco (5) viales (A - E) de Patrones 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 Patrones 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.
4- Lavado Concentrado - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón, tensioactivo y conservante.
5- Diluyente de Muestra - Almacenar de 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón, estabilizadores, tensioactivo, quelante y conservante.
6- Sustrato - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón que contiene Peróxido de Urea, Tetrametilbencidina (TMB) y conservante.
7- Control Negativo - Almacenar a una temperatura de 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón, estabilizador, tensioactivo y conservante. **Potencialmente infeccioso.**
8- Control Positivo - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón, Anticuerpos IgG Anti-Rubéola, colorante, estabilizadores, tensioactivo y conservante. **Potencialmente infeccioso.**
9- Solución de Parada - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Ácido Clorhídrico 1 M.
10- Selladores de Placas.
11- Tampón de Elución de Papel de Filtro - Almacenar a una temperatura de 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón, tensioactivo, estabilizante y conservante.
12- Control de Extracción Negativa - Almacenar a una temperatura de 2 a 8°C. Contiene: Muestra no reactiva para Anticuerpos Anti-Rubéola IgG impregnados en Papel de Filtro. **Potencialmente infeccioso.**
13- Control de Extracción Positiva - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Muestra reactiva para Anticuerpos Anti-Rubéola IgG impregnados en Papel de Filtro. **Potencialmente infeccioso.**

REACTIVOS	1	2	3
	96 CAVIDADES	192 CAVIDADES	480 CAVIDADES
1- Patrones Referencia (A - E)	1 Vial (A – E) x 300 µL	2 Viales (A – E) x 300 µL	5 Viales (A – E) x 300 µL
2- Conjugado	1 Vial x 12mL	2 Viales x 12mL	5 Viales x 12mL
3- Placa Sensibilizada	1 Unidad (96 Cavidades)	2 Unidades (192 Cavidades)	5 Unidades (480 Cavidades)
4- Lavado Concentrado	1 Vial x 50mL	2 Viales x 50mL	5 Viales x 50mL
5- Diluyente de Muestra	1 Vial x 42mL	2 Viales x 42mL	5 Viales x 42mL
6- Sustrato	1 Vial x 12mL	2 Viales x 12mL	5 Viales x 12mL
7- Control Negativo	1 Vial x 300 µL	2 Viales x 300 µL	5 Viales x 300 µL
8- Control Positivo	1 Vial x 300 µL	2 Viales x 300 µL	5 Viales x 300 µL
9- Solución de Parada	1 Vial x 12mL	2 Viales x 12mL	5 Viales x 12mL
10 - Selladores de Placa	3 Unidades	6 Unidades	15 Unidades
11- Tampón de Elución en Papel de Filtro	1 Vial x 20 mL	2 Viales x 20 mL	5 Viales x 20 mL
12 – Control de Extracción Negativo	1 Unidad	2 Unidades	5 Unidades
13 – Control de Extracción Positivo	1 Unidad	2 Unidades	5 Unidades

EQUIPOS E INSUMOS OPERACIONALES
Materiales contenidos en el kit:
- Reactivos descritos en el ítem anterior
- Instrucciones de uso (manual)

Materiais necesarios, mas no contenidos en el kit:
1- Pipetas capaces de dispensar volúmenes de 5 a 300 µL con menor coeficiente de variación que 1,5%.
2- Repipetador para pipetajes repetitivos de volúmenes de 300 µL com menor coeficiente de variación que 1,5% o pipeta multicanal (opcional).
3- Lavadora de microplaca (opcional).
4- Lectora de ELISA con capacidad de absorbencia en 450 y 630 nm de longitud de onda.
5- Papel absorbente para secar las microcavidades.
6- Cronómetro o reloj.
7- Vial para almacenar la Solución de Lavado después de diluida.
8- Agua destilada o deionizada.
9- Herramientas de Control de Calidad.
10- Incubadora de 37°C ± 2°C.
11- Picotador de papel (diámetro de 3 mm) para la técnica de papel de filtro.

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

CUIDADOS ESPECIALES
1- Solamente para el uso diagnóstico *in vitro*.
2- Seguir con rigor la metodología propuesta para la obtención de resultados exactos.
3- El sobre de aluminio conteniendo las microplacas debe ser abierto solamente después de alcanzar la temperatura ambiente. Recolectar las tiras de microcavidades no utilizadas en el sobre de aluminio, sellar y almacenar a de 2 y 8°C.
4- El agua utilizada en la limpieza del material debe ser reciente e exenta de contaminantes.
5- Columnas deionizadoras saturadas liberan agua alcalina, iones diversos y agentes oxidantes y reductores que pueden alterar de forma significativa los resultados.
6- La Solución de Parada contiene Ácido Clorídrico que es un ácido fuerte. Por lo tanto, manosearlo con el debido cuidado.

7- Toda materia prima del producto es probada y debe ser no reactiva para HBsAg, Anti-HIV 1&2 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, 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 superfi cie 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 el 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 HDS (Hoja 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 mantenerse refrigeradas, entre 2 y 8°C, durante um período máximo de 5 días. Si las muestras no se pueden analizar en 5 días, se pueden almacenar hasta 30 días a -20°C.

Sangre Total en Papel de Filtro
Sangre Total (Punción o EDTA).
Las muestras secadas en papel de filtro se pueden almacenar a temperatura ambiente siempre que estén protegidas de la luz solar directa y de baja humedad. Para el almacenamiento de hasta 2 años, las muestras deben permanecer refrigeradas, entre 2 y 8°C.
Para almacenamiento de más de 2 años, las muestras deben permanecer a -20°C.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO
Estabilidad Después de Abierto
Los resultados de la prueba de estabilidad muestran que el kit BIOLISA Rubéola IgG es estable después de haber sido abierto durante 30 días. Esta estabilidad puede variar según las condiciones de prueba y el entorno. Por lo tanto, se sugiere monitorear el desempeño del producto utilizando controles internos del kit y los criterios para validar la técnica.

PREPARO DE LOS REACTIVOS DE TRABAJO
Solución de Lavado
Diluir el contenido del Reactivo N°4 (Lavado Concentrado) em 1000 mL de agua destilada o deionizada. Después de la preparación de la solución se puede almacenar a 2 y 30°C hasta la fecha de validad impresa en el vial original. Caso ocurra cristalización, calentar a 37°C hasta su disolución.

Sustrato
El Sustrato está listo para su uso.

TÉCNICA
Muestras de Suero o Plasma
Antes de comenzar el ensayo, colocar todos los reactivos, Patrones Referencia (A - E), Controles y Muestras para estabilizarse a temperatura ambiente (15 - 30°C) durante al menos 40 minutos.
1- Separar las cavidades a ser utilizadas considerando: Patrones Referência (A – E), Controles y Muestras (recomiendo testar en duplicado). Retornar las tiras de la microplaca que no serán utilizadas para el embalaje original sellado.
2- Separar la primera cavidad para el Blanco (OPCIONAL).
3- Pipetear 100 µL de Diluyente de Muestra. Incluso en la cavidad para el Blanco.
4- Pipetear 5 µL de Patrones Referência (A – E), Controles y Muestras en las cavidades previamente determinadas. Observar el cambio de color del diluyente en el momento de la adición de la muestra. La el cambio de color indica que la muestra se ha agregado al pocillo correctamente.
5- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos y cubrir los pozos con placas de sellador.
6- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37°C ± 2°C.

7- Retirar el sellador de placa de las cavidades.
8- Desechar el contenido de las cavidades por aspiración (Lavadora) o por decantación (Manual).
Usar 300 µL aproximadamente de Solución de Lavado, previamente preparada, para un total de cinco (5) ciclos de lavado. Para la garantía del secado de la placa, al final del lavado, batir la placa por algunos segundos en papel absorbente.
Nota: Lavado/secado deficiente puede causar resultados inadecuados.
9- Pipetear 100 µL de Conjugado en cada cavidade, incluso en la cavidad para el Blanco.
10- Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir las cavidades con el sellador de placa.
11- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos en una incubadora 37°C ± 2°C.
12- Retirar el sellador de placa de las cavidades.
13- Repetir el ítem 8.
14- Pipetear 100 µL Sustrato en todas las cavidades, incluso en la cavidad para el Blanco.
15- Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cubrir las cavidades con el sellador de placa.
16- Incubar durante 10 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37°C ± 2°C.
17- Retirar el sellador de placa de las cavidades.
18- Pipetear 100 µL de Solución de Parada a todos los pocillos, incluso en la cavidad para el Blanco.
19- Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos.
20- Leer utilizando filtro doble: 450nm / 630nm en hasta 15 minutos (máximo).

Muestras de Sangre Total en Papel de Filtro
Antes de comenzar el ensayo, colocar todos los reactivos, Patrones Referencia (A - E), Controles y Muestras para estabilizarse a temperatura ambiente (15 - 30°C) durante al menos 40 minutos.
1- Separar las cavidades a ser utilizadas considerando: Patrones Referência (A – E), Controles y Muestras (recomiendo testar en duplicado). Retornar las tiras de la microplaca que no serán utilizadas para el embalaje original sellado.
2- Separar la primera cavidad para el Blanco (OPCIONAL).
3- Agregar un círculo de 3 mm de Control de Extracción Positiva, Control de Extracción Negativa y Muestras en Papel Filtro previamente pictados, en las cavidades determinadas.
4- Pipetear 100 µL de Tampón de Elución en Papel de Filtro, incluso en la cavidad para el Blanco.
5- Pipetear 5 µL de los Patrones Referência (A – E) y Controles en las cavidades previamente determinadas.
6- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos y cubrir los pozos con placas de sellador.
7- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37°C ± 2°C.
8- Retirar el sellador de placa de las cavidades.
9- Desechar el contenido de las cavidades por aspiración (Lavadora) o por decantación (Manual).
Usar 300 µL aproximadamente de Solución de Lavado, previamente preparada, para un total de cinco (5) ciclos de lavado. Para la garantía del secado de la placa, al final del lavado, batir la placa por algunos segundos en papel absorbente.
Nota: Lavado/secado deficiente puede causar resultados inadecuados.
10- Pipetear 100 µL de Conjugado en cada cavidade, incluso en la cavidad para el Blanco.
11- Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir las cavidades con el sellador de placa.
12- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos en una incubadora 37°C ± 2°C.
13- Retirar el sellador de placa de las cavidades.
14- Repetir el ítem 9.
15- Pipetear 100 µL Sustrato en todas las cavidades, incluso en la cavidad para el Blanco.
16- Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cubrir las cavidades con el sellador de placa.
17- Incubar durante 10 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37°C ± 2°C.
18- Retirar el sellador de placa de las cavidades.
19- Pipetear 100 µL de Solución de Parada a todos los pocillos, incluso en la cavidad para el Blanco.
20- Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos.
21- Leer utilizando filtro doble: 450nm / 630nm en hasta 15 minutos (máximo).

VERIFICACIÓN DE LA TÉCNICA

Para muestras de Suero, Plasma y Sangre Total en Papel de Filtro

Verifique si los resultados obtenidos para lectura do Blanco, Patrones Referencia (A - E) y dos Controles son compatibles con los valores presentados abajo:

ITEM	ABSORBANCIA
Blanco	< 0,100
Patrone Referencia A	< 0,100
Patrone Referencia B	> 0,250 e < 0,600
Patrone Referencia C	> B e < D
Patrone Referencia D	> C e < E
Patrone Referencia E	> 1,400
Control Negativo	< 0,100
Control Positivo	> 1,000
Control Negativo de Extracción	< 0,300
Control Positivo de Extracción	> 1,000

Caso los valores se encuentren fuera de los valores esperados, se debe repetir la técnica.

CÁLCULOS

CUALITATIVO

Muestras de Suero, Plasma y Sangre Total en Papel de Filtro

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

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Patrón Referencia B	0,451
	0,449
Cut Off = (Absorbância Promédio del Patrón Referencia)	Cut Off = (0,451 + 0,449) / 2 Cut Off = 0,450

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

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Muestra	1,346
Valor del Cut Off	0,450
Índice = Muestra / Valor de Cut Off	Índice = 1,346 / 0,450 Índice = 2,99

QUANTITATIVE

Se utiliza una curva de calibración para determinar la concentración de Anticuerpos contra el virus de la Rubéola en muestras desconocidas.

Preparación de la Curva de Calibración

Técnica de Suero y Plasma

Registre las absorbancias obtenidas en el lector de microplacas, como se muestra en el ejemplo 1. Calcule los promedios de los duplicados (si se realizan duplicados).

Grafique las absorbancias promedio de cada Patrón de Referencia versus la concentración correspondiente en UI/mL (descrita en la etiqueta) en papel cuadrículado (antes de graficarlos en el gráfico) grafique la curva.

Técnica de Sangre Total en Papel de Filtro

Registre las absorbancias obtenidas en el lector de microplacas, como se muestra en el ejemplo 1. Calcule los promedios de los duplicados (si se realizan duplicados).

Defina los nuevos valores de concentración para la técnica de papel de filtro multiplicando la concentración de cada Patrón de Referencia (descrito en la etiqueta) por un factor de 2,5.

Grafique las absorbancias promedio de cada Patrón de Referencia versus la concentración correspondiente en UI/mL en papel cuadrículado (antes de graficarlos en el gráfico) grafique la curva.

Ejemplo 1

PATRONES	ABSORBANCIA	ABSORBANCIA PROMEDIO	CONCENTRACIÓN PARA LA TÉCNICA DE SUERO Y PLASMA	CONCENTRACIÓN PARA LA TÉCNICA DE SANGRE TOTAL EN PAPEL DE FILTRO
A	0,007	0,009	0	0 x 2,5 = 0
	0,011			
B	0,451	0,450	15	15 x 2,5 = 37,5
	0,449			
C	0,848	0,850	30	30 x 2,5 = 75
	0,852			
D	1,490	1,491	60	60 x 2,5 = 150
	1,493			
E	2,006	2,100	120	120 x 2,5 = 300
	2,195			

Muestras que tienen una absorbancia por encima del Patrón de Referencia E, debe diluirse previamente con diluyente de muestra y debe volver a analizarse. La concentración debe multiplicarse por el factor de dilución. La lectura y el cálculo automáticos se pueden realizar utilizando la función de regresión lineal en programas informáticos adecuados.

Nota: Los datos presentados en los ejemplos son solo ilustrativos y no pueden utilizarse para reemplazar la curva de calibración, que debe construirse en el laboratorio.

RESULTADOS

Muestras de Suero, Plasma y Sangre Total em Papel de Filtro

RESULTADOS	CUALITATIVO PARA MUESTRAS DE SUERO, PLASMA E SANGRE TOTAL EN PAPEL DE FILTRO	CUANTITATIVO PARA MUESTRAS DE SUERO O PLASMA	CUANTITATIVO PARA MUESTRAS DE SANGRE TOTAL EN PAPEL DE FILTRO
	ÍNDICE	CONCENTRACIÓN	CONCENTRACIÓN
Negativo	≤ 0,80	≤ 12	≤ 30
Positivo	≥ 1,20	≥ 18	≥ 45
Indeterminado	0,81 – 1,19	12,1 – 17,9	30,1 – 44,9

Observación: En el caso de resultado indeterminado, la muestra debe ser reanalizada. Las muestras que obtuvieran resultados repetidamente indeterminados deben ser reanalizados utilizando un método alternativo. Si los resultados permanecieran indeterminados, se debe coleccionar una nueva muestra en dos semanas. Debe prevalecer el resultado de la última muestra recogida. Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable, no siendo el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

LIMITACIONES DEL PROCESO

La interpretación de un test diagnóstico no debe ser establecida con base a un sólo ensayo. Se deben incluir otros tests de confirmación antes que una muestra sea considerada positiva. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición. Todos los resultados deben ser interpretados em conjunto con otras informaciones clínicas disponibles antes del diagnóstico descriptivo de la enfermedad.

CONTROL INTERNO DE CALIDAD

El Laboratorio Clínico debe poseer un programa interno de control de calidad, donde procedimientos, normas, límites y tolerancia para variaciones sean claramente establecidos. Es importante resaltar que todos los sistemas de medición presentan una variabilidad analítica característica, que debe ser vigilada por los propios laboratorios. Por lo tanto, es recomendable la utilización de controles, que permiten la evaluación, la precisión y la exactitud de las dosificaciones.

DESEMPEÑO DEL PRODUCTO

PRECISIÓN

Repetibilidad

La repetibilidad fue calculada a partir de 10 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con valores diferentes, obteniéndose los siguientes resultados de absorbancia:

REPETIBILIDAD	MUESTRA		
	1	2	3
Promedio	1,048	2,092	0,148
Desvio Patrón	0,034	0,086	0,019
Coefficiente de Variación (%)	3,215	4,106	12,560

Reproductibilidad

La reproductibilidad fue calculada a partir de 10 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con valores diferentes, obteniéndose los siguientes resultados de absorbancia:

REPRODUCTIBILIDAD	MUESTRA		
	1	2	3
Promedio	1,049	2,092	0,148
Desvio Patrón	0,007	0,010	0,003
Coefficiente de Variación (%)	0,625	0,454	1,697

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

La sensibilidad analítica se calculó a partir de la dosificación de dos muestras diluidas sucesivamente hasta la última concentración detectada. La sensibilidad analítica encontrada fue de 0,161 UI/mL.

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD CLÍNICA

Muestras de Suero y Plasma

El kit BIOLISA Rubéola IgG analizó muestras clínicas en comparación con otro kit de EIA. Los resultados muestran que la sensibilidad clínica del kit BIOLISA Rubéola IgG es > 99,99% y la especificidad clínica > 99,99%.

SENSIBILIDAD E ESPECIFICIDAD CLÍNICA	Resultado Esperado	Biolisa Rubéola IgG
Muestra Positiva	195	195
Muestra Negativa	50	50
Total de Muestras Testadas	245	

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

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

Muestras de Sangre Total en Papel de Filtro

El kit BIOLISA Rubéola IgG analizó muestras clínicas en comparación con otro kit de EIA. Los resultados muestran que la sensibilidad clínica del kit BIOLISA Rubéola IgG es > 99,99% y la especificidad clínica de > 99,99%.

SENSIBILIDAD E ESPECIFICIDAD CLÍNICA	Resultado Esperado	Biolisa Rubéola IgG
Muestra Positiva	95	95
Muestra Negativa	51	51
Total de Muestras Testadas	146	

Sensibilidad Clínica: > 99,99% (95/95) IC 95% = 96,90 a 100%

Especificidad Clínica: > 99,99% (51/51) IC 95% = 94,23 a 100%

LINEARIDAD

La reacción es capaz de detectar concentraciones hasta la concentración del punto más alto de la curva de calibración. Para muestras con valores superiores, diluir la misma con Diluyente de Muestra, repetir la dosis y multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

La Rubéola es un virus de RNA, esférico, de sobre pequeño, perteneciente a la familia Togaviridae. Se 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 resulta en una erupción cutánea contagiosa leve en niños o adultos jóvenes.

En la infancia, la infección es una enfermedad benigna 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 conducir a aborto espontáneo, infección intrauterina que causa muerte fetal o anomalías congénitas.

La Rubéola congénita depende del período en que se produce la infección y puede dar lugar a complicaciones graves, como sordera, problemas oculares, como cataratas y glaucoma, cardiopatía congénita y retraso mental. Los Anticuerpos IgM contra la Rubéola se producen inicialmente, alcanzando niveles detectables dentro de 2 a 3 días y alcanzando un máximo en 14 a 21 días después del inicio de los síntomas que permanecen detectables durante las próximas 4 a 8 semanas.

El diagnóstico de infección activa o reciente se puede obtener mediante la presencia de Anticuerpos IgM en una muestra inicial. Después de varios días, los Anticuerpos IgG aparecen después de IgM, alcanzando un máximo a los 14-21 días, con niveles variables que persisten durante toda la vida. La presencia de Anticuerpos IgG Anti-Rubéola es indicativa de infección previa y/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.
- 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.
- QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTIA 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 validad 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 - Industria Brasileira

ASESORÍA AL CLIENTE

Servicio de Asesoría al Cliente

Tel.: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

Registro del kit BIOLISA Rubéola IgG en la ANVISA: 10269360191

Revisión: Septiembre/2024

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL

	NUMERO DE CATALOGO		FABRICADO POR
	NUMERO DE LOTE		CONTROLAR
	FECHA DE FABRICACIÓN		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 ESTÁ DAÑADA
	NO REUTILIZA		PRODUCTO ESTERILIZADO
	PRECAUCIÓN		PELIGRO

BIOLISA RUBELLA IgG

REF K125

INSTRUCTIONS FOR USE

FUNCTION

Test for quantitative and qualitative determination of IgG antibodies to Rubella virus in human samples of serum, plasma and whole blood on microplate enzyme immunoassay filter paper. Only for *in vitro* diagnostic use.

Methodology: Enzyme immunoassay or immunoenzyme
The BIOLISA Rubella IgG kit is an immunoenzymatic assay in solid phase based on the principle of indirect qualitative and quantitative detection of IgG Antibodies to Rubella virus in serum, plasma and whole blood on filter paper. IgG Anti-Rubella virus Antibodies present in the sample bind to the coated Antigens on the microplate, forming IgG Antigen-Antibody complexes. After the initial incubation, the microplate is washed to remove unbound materials. Peroxidase-conjugated Anti-Human IgG Antibodies are added to the microplate and then incubated. Enzyme Antibodies-Human Anti-IgG Conjugate bind to IgG Antibodies immobilized by Antigens present. A new Wash is performed to remove the surplus. After this stage, the Substrate is added and incubated producing a blue color that indicates the amount of IgG Antibodies present in the samples. The Stop Solution is added to stop the reaction with a color change to yellow, measured in 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 IgG Antibodies for Anti-Rubella in different concentrations in Buffer Solution, surfactant, stabilizers, dye and preservative.
Potentially infective.
The concentrations of the Reference Standards (A - E) vary with each batch. See vial label.
2- Conjugate - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution, Human Anti-IgG Antibody linked to Peroxidase, surfactant, stabilizers, dye and preservative.
3- Sensitized Plate - Store at 2 and 8°C.
4- Concentrated Washing - Store at 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution, surfactant and preservative.
5- Sample Diluent - Store at 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution, stabilizers, surfactant, chelator and preservative.
6- Substrate - Store at 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution containing Urea Peroxide, Tetramethylbenzidine (TMB) and preservative.
7- Negative Control - Store at 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution, stabilizer, surfactant and preservative. Potentially infective.
8- Positive Control - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution, IgG Anti-Rubella Antibodies, dye, stabilizers, surfactant and preservative. **Potentially infective.**
9- Stop Solution - Store at 2 and 8°C. Contains: Hydrochloric Acid 1 M.
10- Plate Sealers.
11- Filter Paper Elution Buffer - Store at 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution, surfactant, stabilizer and preservative.
12- Negative Extraction Control - Store at 2 and 8°C. Contains: Non-reactive sample for Anti-Rubella IgG antibodies impregnated on Filter Paper. **Potentially infective.**
13- Positive Extraction Control - Store at 2 and 8°C. Contains: Reactive sample for Anti-Rubella IgG antibodies impregnated in Filter Paper. **Potentially infective.**

PRESENTATION

REAGENTS	1	2	3
	96 CAVITIES	192 CAVITIES	480 CAVITIES
1 - Reference Standards (A - E)	1 Vial (A - E) x 300 µL	2 Vials (A - E) x 300 µL	5 Vials (A - E) x 300 µL
2 - Conjugate	1 Vial x 12 mL	2 Vials x 12 mL	5 Vials x 12 mL
3 - Sensitized Plate	1 Unit (96 Cavities)	2 Units (192 Cavities)	5 Units (480 Cavities)
4 - Concentrated Washing	1 Vial x 50 mL	2 Vials x 50 mL	5 Vials x 50 mL
5 - Sample Diluent	1 Vial x 42 mL	2 Vials x 42 mL	5 Vials x 42 mL
6 - Substrate	1 Vial x 12 mL	2 Vials x 12 mL	5 Vials x 12 mL
7 - Negative Control	1 Vial x 300 µL	2 Vials x 300 µL	5 Vials x 300 µL
8 - Positive Control	1 Vial x 300 µL	2 Vials x 300 µL	5 Vials x 300 µL
9 - Stop Solution	1 Vial x 12 mL	2 Vials x 12 mL	5 Vials x 12 mL
10 - Plate Sealers	3 Units	6 Units	15 Units
11- Filter Paper Elution Buffer	1 Vial x 20 mL	2 Vials x 20 mL	5 Vials x 20 mL
12- Negative Extration Control	1 Unit	2 Units	5 Units
13- Positive Extration Control	1 Unit	2 Units	5 Units

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Materials in the kit:

- Reagents described in the above table.
- Operating instructions (manual).

Required materials not contained in the kit:

1- Pipette capable of dispensing volumes of 5 to 300 µL with lower coefficient of variation than 1.5%.
2- Re-pipettor for repetitive pipetting volumes of 300 µL, with lower coefficient of variation than 1.5% or multichannel pipette (optional).
3- Microplate washer (optional).
4- ELISA reader capable of absorbance at 450 and 630 nm wavelength.
5- Paper towel to dry cavities
6- Stopwatch or watch.
7- Vial to store the washing solution after diluted.
8- Distilled water.
9- Tools of Quality Control.
10- Incubator 37°C ± 2°C.
11- Paper shredder (3 mm diameter) for filter paper technique.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

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

SPECIAL CARE

1- For in vitro diagnostic use only.
2- Strictly follow the methodology proposed to obtain accurate results.
3- The sachet containing the microplate should be opened only after it reaches room temperature. Place the strip with unused cavities in the sachet, seal and store be 2 to 8°C.
4- The water used in material cleaning must to be recent and free of contaminants.
5- Deionized and saturated columns release alkaline water, several ions and oxidizing and reducing agents that can significantly alter the results.
6- Stop Solution contains Hydrochloric Acid which is a strong acid. Handle it with care.

7- All the raw material of product is tested and should be nonreactive for HBsAg, Anti-HIV 1&2 and Anti-HCV. However, these tests do not provide total assurance of the absence of infectious agents. The manipulation of any product containing human serum is potentially capable of transmitting diseases. Therefore, we must take due care in handling the bio safety of these products.
8- Always add reagents in the same order to minimize the difference in reaction time between the cavities.
9- As a safety measure, you should cover the plate during the reaction.
10- You must ensure that the bottom of the cavity is clean and dry, and there are no bubbles on the surface fluid before reading the plate. Do not let the cavities run dry during the test.
11- Do not expose reagents, especially the Substrate, to strong light or Hypochlorite fumes during storage or incubation steps.
12- We recommend applying the local, state and federal rules for environmental protection, so that disposal of reagents and biological material can be made in accordance with current legislation.
13- To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the SDS (Safety Data Sheet) available on the website www.bioclin.com.br or upon request by the SAC (Customer Advisory Service) of Quibasa.
14- Do not use the product in case of damaged packaging.
15- It is essential that the instruments and equipments used are properly calibrated and subjected to periodic maintenance.

SAMPLES

Serum or Plasma (EDTA or Heparin).

Hemolysed or highly lipemic samples should not be used. The samples can be kept refrigerated, between 2 and 8°C, for a maximum period of 5 days. If samples cannot be analyzed within 5 days, they can be stored for up to 30 days at -20°C.

Whole Blood on Filter Paper

Whole Blood (Puncture or EDTA).

Samples dried on filter paper can be stored at room temperature as long as they are protected from direct sunlight and low humidity. For storage of up to 2 years, the samples must remain refrigerated, between 2 and 8°C. Storage for more than 2 years must be carried out the temperature of -20°C.

PROCESS DESCRIPTION

Stability After Open

The results of the stability test show that the BIOLISA Rubella IgG kit is stable after being opened for 30 days. This stability may vary according to the test conditions and the environment. Therefore, it is suggested to monitor the performance of the product using internal controls of the kit and the criteria for validating the technique.

PREPARATION OF WORKING REAGENTS

Washing Solution

Dilute the contents of the Reagent N°4 (Concentrated Washing) in 1000 mL of distilled or deionized water. After preparation the solution may be stored at 2 to 30°C until expiration date printed on the original bottle. In case of crystallization, heat it at 37°C until dissolution.

Substrate

The Substrate is ready for use.

TECHNIQUE

Sample of Serum or Plasma

Before starting the assay, place all reagents, Reference Standards (A - E), Controls and Samples to stabilize at room temperature (15 – 30°C) for at least 40 minutes.
1- Select the wells to be used considering: Reference Standards (A - E), Controls and Samples (it is recommended to test in duplicate). Return the strips of the microplate that will not be used for the original sealed packaging.
2- Select the first cavity for Blank (OPTIONAL).
3- Pipette 100 µL of Sample Diluent. Even in the cavity for Blank.
4- Pipette 5 µL of Reference Standards (A – E), Controls and Samples into previously determined wells. Observe the color change of the diluent at the time of sample addition. The color change indicates that the sample was added to the well correctly.
5- Homogenize gently for ± 30 seconds, cover the wells with plate sealer.
6- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37°C ± 2°C.

7- Remove the sealing of wells.

8- Discard the contents of the wells by aspiration (Washer) or by decanting (Manual).

Use approximately 300 µL of Washing Solution, previously prepared to perform a total of five (5) washing cycles. To ensure drying of the plate, at the end of the wash, hit the board for a few seconds on absorbent paper.

Note: Poor washing and drying can cause inadequate results.

9- Pipette 100 µL of Conjugate into each well, included in the Blank cavity.

10- Mix gently for ± 30 seconds. Cover cavities with plate sealer.

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

12- Remove the sealer from plate cavities.

13- Repeat item 8.

14- Pipette 100 µL of Substrate into all wells, even in the cavity for Blank.

15- Shake gently for ± 30 seconds. Cover wells with plate sealer.

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

17- Remove the sealer from plate cavities.

18- Pipette 100 µL of Stop Solution into all wells, even in the cavity for Blank.

19- Mix gently for ± 30 seconds.

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

Whole Blood Sample on Filter Paper

Before starting the assay, place all reagents, Reference Standards (A - E), Controls and Samples to stabilize at room temperature (15 – 30°C) for at least 40 minutes.

1- Select the wells to be used considering: Reference Standards (A – E), Controls and Samples (it is recommended to test in duplicate). Return the strips of the microplate will not be used for the original sealed packaging.
2- Select the first cavity for Blank (OPTIONAL).

3- Add a 3 mm disk of Positive Extraction Control, Negative Extraction Control and Whole Blood Samples on Filter Paper, previously perforated, in the determined wells.

4- Pipette 100 µL of Filter Paper Elution Buffer. Even in the cavity for Blank.

5- Pipette 5 µL of Reference Standards (A – E) and Controls into previously determined wells.

6- Homogenize gently for ± 30 seconds, cover the wells with plate sealer.

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

8- Remove the sealing of wells.

9- Discard the contents of the wells by aspiration (Washer) or by decanting (Manual).

Use approximately 300 µL of Washing Solution, **previously prepared** to perform a total of five (5) washing cycles. To ensure drying of the plate, at the end of the wash, hit the board for a few seconds on absorbent paper.

Note: Poor washing and drying can cause inadequate results.

10- Pipette 100 µL of Conjugate into each well, included in the Blank cavity.

11- Mix gently for ± 30 seconds. Cover cavities with plate sealer.

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

13- Remove the sealer from plate cavities.

14- Repeat item 9.

15- Pipette 100 µL of Substrate into all wells, even in the cavity for Blank.

16- Shake gently for ± 30 seconds. Cover wells with plate sealer.

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

18- Remove the sealer from plate cavities.

19- Pipette 100 µL of Stop Solution into all wells, even in the cavity for Blank.

20- Mix gently for ± 30 seconds.

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

TECHNIQUE VERIFICATION
Samples of Serum, Plasma and Whole Blood Sample on Filter Paper
Verify if the results obtained by the reading of the Blank, Reference Standards (A - E) and Controls are compatible to the values below:

ITEM	ABSORBANCE
Blank	< 0.100
Reference Standard A	< 0.100
Reference Standard B	> 0.250 e < 0.600
Reference Standard C	> B e < D
Reference Standard D	> C e < E
Reference Standard E	> 1.400
Negative Control	< 0.100
Positive Control	> 1.000
Negative Extraction Control	< 0.300
Positive Extraction Control	> 1.000

If the values are out of the expected values. you must repeat the technique.

CALCULATIONS

QUALITATIVE
Serum, Plasma and Whole Blood Samples on Filter Paper
Cut Off regarded as the mean absorbance obtained with the Reference Standard B.

Example:

ITEM	ABSORBANCE
Reference Standard B	0.451
	0.449
Cut Off = Average Absorbance from Reference Standard B	Cut Off = (0.451 + 0.449) / 2 Cut Off = 0.450

Calculate the index by dividing the Sample absorbance by the value of the Cut Off.

Example:

ITEM	ABSORBANCE
Sample	1.346
Cut off Value	0.450
Index = Sample / Cut Off Value	Index = 1.346 / 0.450 Index = 2.99

QUANTITATIVE
A calibration curve is used to determine the concentration of Anti-Rubella Virus Antibodies in unknown samples.

Preparation of Calibration Curve
Serum and Plasma Technique
Record the absorbances obtained in the microplate reader, as shown in example 1. Calculate the averages of duplicates (if duplicates are performed). Plot the average absorbances of each Reference Standard versus the corresponding concentration in IU/mL (described on the label) on graph paper (before plotting them on the graph) plot the curve.

Whole Blood Technique on Filter Paper
Record the absorbances obtained in the microplate reader, as shown in example 1. Calculate the averages of duplicates (if duplicates are performed). Define the new concentration values for the filter paper technique by multiplying the concentration of each Reference Standard (described on the label) by a factor of 2.5.
Plot the average absorbances of each Reference Standard versus the corresponding concentration in IU/mL on graph paper (before plotting them on the graph) plot the curve.

Example 1

STANDARDS	ABSORBANCE	AVERAGE ABSORBANCE	CONCENTRACIÓN FOR SERUM AND PLASMA TECHNIQUE	CONCENTRACIÓN FOR TOTAL BLOOD TECHNIQUE ONFILTER PAPER
A	0.007	0.009	0	0 x 2.5 = 0
	0.011			
B	0.451	0.450	15	15 x 2.5 = 37.5
	0.449			
C	0.848	0.850	30	30 x 2.5 = 75
	0.852			
D	1.490	1.491	60	60 x 2.5 = 150
	1.493			
E	2.006	2.100	120	120 x 2.5 = 300
	2.195			

Samples that have an absorbance above the Reference Standard E, must be pre-diluted using Sample Diluent and must be retested. The concentration must be multiplied by the dilution factor. Automatic reading and calculation can be performed using the linear regression function in suitable computer programs.

Note: The data presented in the examples are for illustration only and cannot be used to replace the calibration curve, which must be constructed in the laboratory.

INTERPRETATION OF RESULTS
Serum, Plasma and Whole Blood Samples on Filter Paper

RESULTS	QUALITATIVE RESULTS FOR SERUM, PLASMA AND WHOLE BLOOD SAMPLES ON FILTER PAPER	QUANTITATIVE FOR SAMPLES OF SERUM OR PLASMA	QUANTITATIVE FOR SAMPLES OF WHOLE BLOOD ON FILTER PAPER
	INDEX	CONCENTRATION	CONCENTRATION
Negative	≤ 0.80	≤ 12	≤ 30
Positive	≥ 1.20	≥ 18	≥ 45
Indeterminate	0.81 – 1.19	12.1 – 17.9	30.1 – 44.9

Note: In case of indeterminate results, the sample must be retested. Samples that results have been obtained repeatedly indeterminate should be retested using an alternative method. If the results remain uncertain, one must collect a new sample in two weeks. Should prevail the result of the last sample collected. The results provided by this kit must be interpreted by the medical professional responsible, not being the only criterion for the determination of diagnosis and/ or treatment of the patient.

PROCEDURE LIMITATIONS
The interpretation of a diagnostic test there should not be based on a single run. This should include confirmation of other tests 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 clinical information available before the descriptive diagnosis of the disease.

INTERNAL QUALITY CONTROL
The Clinical Laboratory must have an internal quality control, where all procedures, rules, limits and tolerance to variations be clearly established. It is important to mention that all measurement systems present a analytical variety, and it must be monitor by the laboratory. Therefore, it is recommendable the use of controls, allowing the precision and accuracy of the dosages.

PRODUCT PERFORMANCE
PRECISION
Repeatability
The repeatability was calculated from 10 successive determinations, using 3 samples with different values, obtaining the following absorbance results:

REPETIBILITY	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	12.580

Reproducibility
The reproducibility was calculated from 10 successive determinations for 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

ANALYTICAL SENSITIVITY
The analytical sensitivity was calculated from the dosage of two samples diluted successively until the last concentration detected. The analytical sensitivity found was 0.161 IU/mL..

CLINICAL SENSITIVITY AND SPECIFICITY
Serum and Plasma Sample
BIOLISA Rubella IgG Kit analyzed clinical samples in comparison with other methods of EIA. The results show that the clinical sensitivity of the BIOLISA Rubella IgG kit is > 99.99%and clinical specificity is > 99.99%.

CLINICAL SENSITIVITY AND SPECIFICITY	Expected Result	Biolisa Rubella IgG
Positive Sample	195	195
Negative Sample	50	50
Total Tested Sample	245	

Clinical Sensitivity: > 99.99% (195/195) IC 95% = 98.48 a 100 %
Clinical Specificity: > 99.99% (50/50) IC 95% = 94.12 a 100 %

Whole Blood Samples on Filter Paper
BIOLISA Rubella IgG Kit analyzed clinical samples in comparison with other methods of EIA. The results show that the clinical sensitivity of the BIOLISA Rubella IgG kit is > 99.99% and clinical specificity is > 99.99%.

CLINICAL SENSITIVITY AND SPECIFICITY	Expected Result	Biolisa Rubella IgG
Positive Sample	95	95
Negative Sample	51	51
Total Tested Sample	146	

Clinical Sensitivity: > 99.99% (95/95) IC 95% = 96.90 a 100 %
Clinical Specificity: >99.99% (51/51) IC 95% = 94.23 a 100 %

LINEARITY
The reaction is able to detect concentrations up to the highest point on the calibration curve. For samples with higher values, dilute the same with Sample Diluent, repeat the dosage and multiply the results by the dilution factor.

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE
Rubella is an RNA virus, spherical, small envelope, 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, infection is a benign, self-limiting disease, characterized by low fever, headache, lymphadenopathy, arthralgia and conjunctivitis. However, infection during pregnancy, especially in the first trimester, can lead to spontaneous abortion, intrauterine infection causing fetal death or congenital anomalies.
Congenital Rubella depends on the period 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 initially produced, reaching detectable levels within 2 - 3 days and peaking in 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 an initial sample. After several days, IgG Antibodies appear after IgM, peaking at 14 - 21 days, with varying levels persisting throughout life. The presence of Anti-Rubella IgG Antibodies is indicative of previous infection and/or immunity.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES
1. Hermann, KL. Rubella Virus. In: Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology 4th Edition (1985) 779-784.
2. Turgeon, ML. Rubella Infection. In: Immunology and Serology in Laboratory Medicine. 2nd Edition (1996). 275-286.
3. 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.
5. Rawls WE, Chernesky MA. Rubella Virus. Manual Clinical Immunology (1976) 452-455.

6. Millian, SJ, Wegman D. Rubella Serology: Applications, Limitations, and Interpretations. Amer. J. Pub. Health (1972) 170-176.
7. QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

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 BIOLISA Rubella IgG kit: 10269360191

Review: September/2024

UNIVERSAL SYMBOLOGY

 REF	CATALOG NUMBER		MADE BY
 LOT	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