

Bioclin

BIOLISA RUBÉOLA IgM

REF K124

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Teste para determinação qualitativa de anticorpos IgM para Rubéola em amostras humanas de soro, plasma e sangue total em papel de filtro por enzimmunoensaio em microplaca. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

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

REAGENTES

- 1 - Placa Sensibilizada** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Placa sensibilizada com anticorpos Anti-IgM.
- 2- Conjugado** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão, Antígeno de Rubéola conjugado à Peroxidase surfactante, estabilizantes, corante e conservante.
- 3- Lavagem Concentrada** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão, surfactante e conservante.
- 4- Diluente de Amostra** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão, estabilizantes, surfactante e conservante.
- 5- Substrato** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão contendo Peróxido de Ureia, Tetrametilbenzidina (TMB) e conservante.
- 6-Solução de Parada** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Ácido Clorídrico 1 M.
- 7- Controle Negativo** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão, estabilizante, surfactante e conservante. **Potencialmente infectante.**
- 8- Controle Positivo** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Anticorpos IgM Anti-Rubéola, Solução Tampão, corante, estabilizantes, surfactante e conservante. **Potencialmente infectante.**
- 9- Seladores de Placa**
- 10- Tampão de Eluição em Papel de Filtro** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão, surfactante, estabilizante e conservante.
- 11- Controle Negativo de Extração** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Amostra não reativa para anticorpos IgM anti-Rubéola impregnada em Papel de Filtro. **Potencialmente infectante.**
- 12- Controle Positivo de Extração** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Amostra reativa para anticorpos IgM Anti-Rubéola impregnada em Papel de Filtro. **Potencialmente infectante.**

APRESENTAÇÃO

REAGENTES	1	2	3
	96 CAVIDADES	192 CAVIDADES	480 CAVIDADES
1- Placa Sensibilizada	1 Unidade (96 cavidades)	2 Unidades (192 cavidades)	5 Unidades (480 cavidades)
2- Conjugado	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
3- Lavagem Concentrada	1 Frasco x 50 mL	2 Frascos x 50 mL	5 Frascos x 50 mL
4- Diluente de Amostra	1 Frasco x 42 mL	2 Frascos x 42 mL	5 Frascos x 42 mL
5- Substrato	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
6- Solução de Parada	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- Seladores de Placa	3 Unidades	6 Unidades	15 Unidades
10- Tampão de Eluição de Papel de Filtro	1 Frasco x 20 mL	2 Frascos x 20 mL	5 Frascos x 20 mL
11- Controle Negativo de Extração	1 unidade	2 unidades	5 unidades
12 - 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, mas não contidos no kit:

- 1- Pipetas capazes de dispensar volumes de 5 a 300 µL com precisão maior 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 capacidade de 37°C ± 2°C.
- 11- Picotador de papel (diâmetro de 3mm) 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 temperatura 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 estocar 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 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 FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) 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 entre 2 e 8°C.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

PREPARO DOS REAGENTES DE TRABALHO

Solução de Lavagem

Diluir o conteúdo do frasco N°3 (Lavagem Concentrada) em 1000 mL de água destilada ou deionizada. Após o preparo a solução pode ser estocada entre 2 e 30°C até a data de validade impressa no frasco original. Pode ser armazenada em temperatura ambiente. Caso ocorra cristalização, aquecer a 37°C até dissolução.

Substrato

O Substrato é pronto para o uso.

ESTABILIDADE APÓS ABERTO

Os resultados do teste de estabilidade comprovam que o kit Biolisa Rubéola IgM é estável após aberto durante, pelo menos, 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.

TÉCNICA

Amostra de Soro e Plasma

Antes de iniciar o ensaio, colocar todos os reagentes, amostras e controles para estabilizarem em temperatura ambiente (15 - 30°C) por no mínimo 40 minutos.

- 1- Separar as cavidades a serem utilizadas considerando: Controles e Amostras (recomenda-se testar em duplicata). Retornar as tiras não utilizadas da microplaca para a embalagem original selada.
 - 2 - Separar a primeira cavidade para o Branco (OPCIONAL).
 - 3- Pipetar 100 µL de Diluente de Amostra. Inclusive na cavidade para o Branco.
 - 4 - Pipetar 5 µL de Amostra e Controles nas cavidades previamente determinadas. Observar a mudança de cor do 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, amostras e controles para estabilizarem em temperatura ambiente (15 - 30°C) por no mínimo 40 minutos.
- 1- Separar as cavidades a serem utilizadas considerando: Controles e Amostras (recomenda-se testar em duplicata). Retornar as tiras não utilizadas da microplaca para a embalagem original selada.
 - 2 - Separar a primeira cavidade para o Branco (OPCIONAL).
 - 3- Adicionar um disco de 3mm 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 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 o 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 e dos Controles estão compatíveis com os valores apresentados abaixo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Branco	< 0,150
Controle Negativo	< 0,150
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

Amostra de Soro e Plasma

Calcular o Cut Off de acordo com a fórmula abaixo:

Cut Off = (Abs. média do Controle positivo x 0,1) + 0,200

Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Controle Positivo	A1 = 2,134
	A2= 2,190
Cut Off = (Absorbância média do Controle positivo x 0,1) + 0,200	Cut Off = ((2,134 + 2,190)/2 x 0,1) + 0,200 Cut Off = 0,416

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

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Amostra	1,279
Valor de Cut Off	0,416
Índice: Amostra / Valor de Cut Off	1,279 / 0,416 = 3,074

Amostra de Sangue Total em Papel de Filtro

Calcular o Cut Off de acordo com a fórmula abaixo:

Cut Off = (Abs. Média do Controle Positivo x 0,02) + 0,200.

Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Controle Positivo	2,134
	2,190
Cut Off = (Absorbância média do Controle positivo x 0,02) + 0,200	Cut Off = ((2,134+ 2,190)/2 x 0,02) + 0,200 Cut Off = 0,243

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

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Amostras	1,045
Valor do Cut off	0,243
Índice: Amostra / Valor de Cut Off	1,045 / 0,243 = 4,3

INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS

Para amostras de Soro, Plasma e Sangue Total em Papel de Filtro.

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

RESULTADOS	QUALITATIVO
	ÍNDICE
Negativo (Não reagente)	< 0,8
Indeterminado	Entre 0,8 e 1,2
Positivo (Reagente)	> 1,2

Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

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

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

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

CONTROLE DE QUALIDADE

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	2,523	0,416	1,038
Desvio padrão	0,057	0,030	0,033
Coefficiente de variação (%)	2,269	7,096	3,150

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	2,458	0,371	0,978
Desvio padrão	0,079	0,041	0,052
Coefficiente de variação (%)	3,211	11,008	5,329

Sensibilidade e Especificidade Clínica

Amostra de Soro e Plasma

O kit BIOLISA Rubéola IgM analisou amostras clínicas e em comparação com outros métodos de EIA. Os resultados mostram que a sensibilidade clínica do kit BIOLISA Rubéola IgM é > 99,99% e a especificidade clínica é de 98,35%.

	Resultado Esperado	Biolisa Rubéola IgM
Amostra Positiva	59	59
Amostra Negativa	121	119
Total de Amostras Testadas	180	

Sensibilidade Clínica: > 99,99% (59/59)

Especificidade Clínica: 98,35% (119/121)

Amostra de Sangue Total em Papel de Filtro

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

	Resultado Esperado	Biolisa Rubéola IgM
Amostra Positiva	53	53
Amostra Negativa	67	67
Total de Amostras Testadas	96	

Sensibilidade Clínica: > 99,99% (53/53)

Especificidade Clínica: > 99,99% (67/67)

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

A Rubéola é um vírus de RNA, esférico, envelope pequeno, pertencente à família Togaviridae. É vulgarmente conhecido como alemão ou sarampo de 3 dias. A infecção pelo vírus de Rubéola é transmitida através de gotículas de saliva, resultando em erupção contagiosa leve em crianças ou jovens adultos. Na infância, a infecção é uma doença auto-limitante, benigna, caracterizada por febre baixa, dor de cabeça, linfadenopatia, artralgia e conjuntivite. No entanto, a infecção durante a gravidez, especialmente no primeiro trimestre, pode levar ao aborto espontâneo, infecção intrauterina causando a morte fetal, ou anomalias 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.

NÚMERO DE TESTES

Apresentação 1 – 96 testes

Apresentação 2 – 192 testes

Apresentação 3 – 480 testes

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
- TELELAB. Manual de Coleta de Sangue - Diagnóstico e monitoramento das DST, Aids e Hepatites Virais.
- 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 IgM na ANVISA: 10269360190

Revisão: Julho/2020

NÚMERO DE CATÁLOGO

NÚMERO DO LOTE

DATA DE FABRICAÇÃO

DATA DE VALIDADE
(último dia do mês)

LIMITE DE TEMPERATURA
(conservar a)

O CONTEÚDO É SUFICIENTE
PARA <N> TESTES

CONSULTAR INSTRUÇÕES
DE USO

PRODUTO PARA
DIAGNÓSTICO IN VITRO

FABRICADO POR

CONTROLE

CONTROLE POSITIVO

CONTROLE NEGATIVO

RISCO BIOLÓGICO

INFLÂMAVEL

CORROSIVO

TÓXICO

Bioclin

BIOLISA RUBÉOLA IgM

REF K124

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Teste para determinación cualitativa de anticuerpos IgM para Rubéola em muestras humanas de suero, plasma e sangre total em papel de filtro por enzimainmunoensayo em microplaca. Solamente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Enzimainmunoensayo o inmunoenzimatico
El kit BIOLISA Rubéola IgM es un ensayo inmunoenzimático en fase sólida basado en el principio de detección cualitativa por captura de anticuerpos IgM para rubéola em muestras humanas de suero, plasma e sangre total em papel de filtro. Los anticuerpos IgM presentes en la muestra se unen a los anticuerpos anti IgM recubiertos en la microplaca formando inmunocomplejos. Después de la incubación inicial, la microplaca se lava para quitar los materiales no conectados. Los antígenos de Rubéola conjugados a la peroxidasa se añaden a la microplaca que se incuba. Los antígenos conjugados a la enzima se unen a los Anticuerpos IgM Anti-rubéola presentes, unidos a la placa recubierta con Anticuerpos Anti IgM. El nuevo lavado se realiza para eliminar los excedentes. Después de este paso, el Sustrato se agrega e incubado, produciendo un color azul que indica la cantidad de Anticuerpos IgM Anti-rubéola presentes en la muestra. La Solución de Parada se agrega para interrumpir la reacción con un cambio de color de azul a amarillo, medido en un lector de microplaca.

REACTIVOS

- 1 - Placa Sensibilizada** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Placa Sensibilizada con Anticuerpos Anti-IgM.
- 2- Conjugado** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón, Antígeno de Rubéola conjugado con tensioactivo de Peroxidasas, estabilizantes, colorantes y conservantes.
- 3- Lavado Concentrado** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón, tensioactivo y conservante.
- 4- Diluyente de Muestra** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón, estabilizadores, tensioactivos y conservantes.
- 5- Sustrato** - Almacenar de 2 a 8°C. Contiene: Solución Tampón que contiene Peróxido de Urea, Tetrametilbencidina (TMB) y conservante.
- 6- Solución de Parada** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Ácido Clorhídrico 1 M.
- 7- Control Negativo** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón, estabilizador, tensioactivo y conservante. **Potencialmente infectando.**
- 8- Control Positivo** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Anticuerpos IgM Anti-Rubéola, Solución Tampón, colorante, estabilizadores, tensioactivo y conservante. **Potencialmente infeccioso.**
- 9- Selladores de Placas**
- 10- Tampón de Elución de Papel de Filtro** - Almacenar a una temperatura de 2 a 8°C. Contiene: Solución Tampón, tensioactivo, estabilizante y conservante.
- 11- Control Negativo de Extracción** - Almacenar a una temperatura de 2 a 8°C. Contiene: Muestra no reactiva para anticuerpos IgM anti-rubéola impregnados en Papel de Filtro. **Potencialmente infeccioso.**
- 12- Control Positivo de Extracción:** Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Muestra reactiva para anticuerpos IgM anti-rubéola impregnados en Papel de filtro. **Potencialmente infeccioso.**

PRESENTACIÓN

REACTIVOS	1	2	3
	96 CAVIDADES	192 CAVIDADES	480 CAVIDADES
1- Placa Sensibilizada	1 Unidad (96 cavidades)	2 Unidades (192 cavidades)	5 Unidades (480 cavidades)
2- Conjugado	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
3- Lavado Concentrado	1 Frasco x 50 mL	2 Frascos x 50 mL	5 Frascos x 50 mL
4- Diluyente de Muestra	1 Frasco x 42 mL	2 Frascos x 42 mL	5 Frascos x 42 mL
5- Sustrato	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
6- Solución de Parada	1 Frasco x 12mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
7- Control Negativo	1 Frasco x 300 µL	2 Frascos x 300 µL	5 Frascos x 300 µL
8- Control Positivo	1 Frasco x 300 µL	2 Frascos x 300 µL	5 Frascos x 300 µL
9- Selladores de Placa	3 unidades	6 unidades	15 unidades
10- Tampón de Elución en Papel de Filtro	1 Frasco x 20 mL	2 Frascos x 20 mL	5 Frascos x 20 mL
11- Control Negativo de Extracción	1 Unidad	2 Unidades	5 Unidades
12- Control Positivo de Extracción	1 Unidad	2 Unidades	5 Unidades

EQUIPOS E INSUMOS OPERACIONALES

Materiales contenidos en el kit:

- Reactivos descritos en el cuadro anterior.
- Instrucciones de uso (manual).

Materiales necesarios, pero no contenidos en el kit:

- 1- Pipetas capaces de dispensar volúmenes de 5 a 300 µL con menor coeficient de variación que 1,5%.
- 2- Repipetadores para pipetajes repetitivas de volúmenes de 300 µL con menor coeficient de variación que 1,5% o pipeta multicanal (opcional).
- 3- Lavadora de microplaca (opcional).
- 4- Lectora de ELISA con capacidad de absorbancia en 450 y 630 nm de longitud de onda.
- 5- Papel absorbente para secar las microcavidades.
- 6- Cronómetro o reloj.
- 7- Frasco para almacenar la Solución de Lavado después de diluida.
- 8- Agua destilada o deionizada.
- 9- Herramientas de Control de Calidad.
- 10- Incubadora de 37°C ± 2°C.
- 11- Picotador de papel (diámetro de 3 mm) para la técnica de papel de filtro.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento deberá ser de 2 a 8°C. El transporte a una temperatura de hasta 30°C no deberá superar los 5 días. Mantener al abrigo de la luz y evitar la humedad. **No congelar.**

CUIDADOS ESPECIALES

- 1- Solamente para el uso diagnóstico *in vitro* profesional.**
- 2- Seguir con rigor la metodología propuesta para la obtención de resultados exactos.
- 3- El sobre de aluminio conteniendo la microplaca debe ser abierto solamente después de alcanzar la temperatura ambiente. Recolocar las tiras de microcavidades no utilizadas en el sobre de aluminio, sellar y almacenar de 2 a 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 matéria prima del producto es probado y debe ser no reactivo 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 superficie del líquido antes de leer la placa. No permitir que las cavidades sequem 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 FISPQ (Ficha de Informaciones de la Seguridad de Productos Químicos) 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 or Plasma (EDTA o Heparina).
Muestras hemolizadas o altamente lipémicas no deben ser usadas. Las muestras pueden ser conservadas bajo refrigeración, entre 2 y 8°C, por el período máximo de 5 días. Si las muestras no pudieran ser analizadas dentro de 5 días, pueden ser almacenadas por hasta 30 días a temperatura de -20°C.

Sangre Total en Papel de Filtro

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

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

PREPARO DE LOS REACTIVOS DE TRABAJO

Solución de Lavado
Diluir el contenido del frasco N°3 (Solución de Lavado Concentrado) en 1000 mL de agua destilada o deionizada. Después de la preparación de la solución puede almacenar a 2 a 30°C hasta la fecha de validad impresa en el frasco original. Puede ser almacenada a temperatura ambiente. Caso ocurra cristalización, calentar a 37°C hasta su disolución.

Sustrato

El Sustrato está listo para su uso.

ESTABILIDAD DESPUÉS DE ABRIR

Los resultados de la prueba de estabilidad muestran que el kit Biolisa Rubéola IgM es estable después de abrir durante al menos 30 días. Esta estabilidad puede variar según las condiciones de la prueba y el medio ambiente. Por lo tanto, se sugiere controlar el rendimiento del producto utilizando controles internos del kit y criterios de validación técnica.

TÉCNICA

Muestra de Suero o Plasma

Antes de iniciar el ensayo, colocar todos los Reactivos, Muestras y Controles para que se establezcan a temperatura ambiente (15 – 30°C) mínimo por 40 minutos.
1- Separar las cavidades a ser utilizadas considerando: Controles y Muestras (recomiendo testar en duplicado). Retomar 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 Muestra y Controles 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 item 8.
- 14- Adicionar 100 µL Sustrato en todas las cavidade, 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 cavidade, incluso en la cavidad para el Blanco.
- 18- Adcionar 100 µL de Solución de Parada a todos los pocillos.
- 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 iniciar el ensayo, colocar todos los Reactivos, Muestras y Controles para que se establezcan a temperatura ambiente (15 – 30°C) mínimo por 40 minutos.
1- Separar las cavidades a ser utilizadas considerando: Controles y Muestras (recomiendo testar en duplicado). Retomar 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 disco de 3mm del Controle Positivo de Extracción Controle Negativo de Extracción y Muestras de Sangre Total en Papel de Filtro en las cavidades previamente determinadas.
4- Pipetear 100 µL de Tampón de Elución en Papel de Filtro, incluso en la cavidad para el Blanco.
5- Pipetear 5 µL os 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-** Adicionar 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, incluso en la cavidad para el Blanco.
- 19-** Adicionar 100 µL de Solución de Parada a todos los pocillos.
- 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 del Blanco y de los Controles son compatibles con los valores presentados abajo:

ITEM	ABSORBANCIA
Blanco	< 0,150
Control Negativo	< 0,150
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 e Plasma

Calcular o Cut Off de acuerdo con la fórmula siguiente:
Cut Off = (Abs. Promedio del Control Positivo x 0,1) + 0,200
Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Control Positivo	A1 = 2,134
	A2= 2,190
Cut Off = (Abs. Promedio del Control Positivo x 0,1) + 0,200	Cut Off = ((2,134 + 2,190)/2 x 0,1) + 0,200 Cut Off = 0,416

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

ITEM	ABSORBANCIA
Muestra	1,279
Valor del Cut Off	0,416
Índice: Muestra/ Valor del Cut Off	1,279 / 0,416 = 3,074

Muestras de Sangre Total en Papel de Filtro

Calcular o Cut Off de acuerdo con la fórmula siguiente:
Cut Off = (Abs. Promedio del Control Positivo x 0,02) + 0,200
Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Control Positivo	2,134
	2,190
Cut Off = (Abs. Promedio del Control Positivo x 0,02) + 0,200	Cut Off =((2,134+ 2,190)/2 x 0,02) + 0,200 Cut Off = 0,243

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

ITEM	ABSORBANCIA
Muestra	1,045
Valor del Cut off	0,243
Índice: Muestra / Valor del Cut Off	1,045 / 0,243 = 4,3

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Para muestras de Suero, Plasma y Sangre Total en Papel de Filtro. Después del cálculo del índice de las muestras, considerar los índices abajo para la determinación de los resultados.

RESULTADOS	CUALITATIVO
	INDICE
Negativo (No reactivo)	< 0,8
Indeterminado	Entre 0,8 y 1,2
Positivo (Reactivo)	> 1,2

Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable, no siendo el único criterio para la determinación del diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

LIMITACIONES DEL PROCESO

Los anticuerpos IgM quedan presentes en el suero por un período corto de tiempo, desapareciendo hasta seis meses después de la infección, mientras que los anticuerpos IgG permanecen presentes durante un largo período de tiempo. Sin embargo, la alta sensibilidad de las nuevas metodologías de diagnóstico, en algunos casos, permite encontrar niveles muy bajos de anticuerpos IgM, denominados IgM residuales, por un mayor período de tiempo. La detección de estos anticuerpos IgM residuales dificulta la interpretación clínica sobre el período de infección. En estos casos, para confirmación del resultado, se recomienda la realización de prueba de avidéz de IgG. La interpretación de un test diagnóstico, no debe ser establecida con base en un único 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 en 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

CONTROL DE CALIDAD

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	2,523	0,416	1,038
Desvio patrón	0,057	0,030	0,033
Coefficiente de variación (%)	2,269	7,096	3,150

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	2,458	0,371	0,978
Desvio patrón	0,079	0,041	0,052
Coefficiente de variación (%)	3,211	11,008	5,329

Sensibilidad y Especificidad Clínica

Muestra de Suero o Plasma

El kit BIOLISA Rubéola IgM analizó muestras clínicas en comparación con otro kit de EIA. Los resultados muestran que la sensibilidad clínica del kit BIOLISA Rubéola IgM es > 99,99%, y la especificidad clínica es de 98,35%.

	Resultado Esperado	Biolisa Rubéola IgM
Muestra Positiva	59	59
Muestra Negativa	121	119
Total de Muestras Testadas	180	

Sensibilidad Clínica: > 99,99% (59/59)

Especificidad Clínica: 98,35% (119/121)

Muestra de Sangre Total en Papael de Filtro

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

	Resultado Esperado	Biolisa Rubéola IgM
Muestra Positiva	53	53
Muestra Negativa	67	67
Total de Muestras Testadas	96	

Sensibilidad Clínica: > 99,99% (53/53)

Especificidad Clínica: > 99,99% (67/67)

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

La Rubéola es un virus de RNA, esférico, sobre pequeño, perteneciente a la familia *Togaviridae*. Es vulgarmente conocido como alemán o sarampión de 3 días. La infección por el virus de Rubéola es transmitida a través de gotículas de saliva, resultando en erupción contagiosa leve en crianças o jóvenes adultos.

En la infancia, la infección es una dolencia auto-limitante, benigna, caracterizada por fiebre baja, dolor de cabeza, linfadenopatía, artralgia y conjuntivitis. Sin embargo, la infección durante el embarazo, especialmente en el primer trimestre, puede llevar al aborto espontáneo, infección intra-uterina causando la muerte fetal, o anomalías congénitas. La Rubéola congénita depende del período en que la infección ocurre y puede resultar en complicaciones graves, incluyendo la sordez, problemas oculares, incluyendo cataratas y glaucoma, cardiopatía congénita y retardo mental. Los anticuerpos IgM contra la Rubéola son producidos inicialmente, pudiendo alcanzarr niveles detectables dentro de 2 - 3 días y pico de 14 - 21 días después del inicio de los síntomas que permanecen detectables durante las próximas 4 - 8 semanas. El diagnóstico de infección activa o reciente puede ser obtenido por la presencia de anticuerpos IgM en muestra inicial. Después de varios días, los anticuerpos IgG aparecen luego de la IgM, con pico de 14 - 21 días, persistiendo niveles variados para toda la vida. La presencia de anticuerpos IgG anti-Rubéola es indicativo de infección previa y/o inmunidad.

NÚMERO DE PRUEBAS

Presentación 1 - 96 pruebas

Presentación 2 - 192 pruebas

Presentación 3 - 480 pruebas

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
- TELELAB. Manual de Coleta de Sangue - Diagnóstico e monitoramento das DST, Aids e Hepatites Virais.
- QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTÍA DE CALIDAD

Antes de ser liberado para el consumo, todos los reactivos ***Bioclin*** son testados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos es asegurada hasta la fecha de validez mencionada en el embalaje de presentacion, 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

ATENIMIENTO AL CONSUMIDOR

Servicio de Asesoría al Cliente

Tel.: 0800 0315454

E-mail: sac@bioclin.com.br

Registro del kit BIOLISA Rubéola IgM en el ANVISA: 10269360190

Revisión: Julio/2020

NÚMERO DEL CATÁLOGO

NÚMERO DE LOTE

FECHA DE FABRICACIÓN

ESTABLE HASTA
(último día del mês)

TEMPERATURA LIMITE
(conservar a)

CONTENIDO SUFICIENTE
PARA <N> TESTES

CONSULTAR INSTRUCCIONES
DE USO

DISPOSITIVO DE
DIAGNÓSTICO IN VITRO

ELABORADO POR

CONTROL

CONTROL POSITIVO

CONTROL NEGATIVO

RIESGO BIOLÓGICO

INFLAMABLE

CORROSIVO

TÓXICO

BIOLISA RUBELLA IgM

[REF] K124

USAGE INSTRUCTIONS

FUNCTION

Test for qualitative determination of IgM antibodies to Rubéola in human samples of serum, plasma and filter paper whole blood by immunoassay microplate. For *in vitro* diagnostic use only.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Enzyme immunoassay or immunoenzymatic
The BIOLISA Rubella IgM kit is a solid phase immunoenzymatic assay based on the principle of qualitative detection by capture of IgM Antibodies to Rubella samples of serum, plasma and filter paper whole blood. IgM antibodies present in the sample bind to the anti-IgM Antibody coated on the microplate forming immunocomplexes. After the initial incubation, the microplate is washed to remove unbound materials. Rubella antigens conjugated to Peroxidase are added to the microplate which is then incubated. Antigens conjugated to the enzyme bind to the Anti-Rubella IgM Antibodies present, attached to the plate coated with Anti-IgM Antibodies. New washing is performed to remove surplus. After this step, the Substrate is added and incubated, producing a blue color indicating the amount of Anti-Rubella IgM Antibodies present in the sample. The Stop Solution is added to stop the reaction with a color change from blue to yellow, measured on a microplate reader.

REAGENTS

- 1 - Sensitized Plate** - Store at 2 to 8°C. Contains: Plate sensitized with Anti-IgM antibodies.
- 2- Conjugate** - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution, Rubella Antigen conjugated to Peroxidase surfactant, stabilizers, dye and preservative.
- 3- Concentrated Washing** - Store at 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution, surfactant and preservative.
- 4- Sample Diluent** - Store at 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution, stabilizers, surfactant and preservative.
- 5- Substrate** - Store at 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution containing Urea Peroxide, Tetramethylbenzidine (TMB) and preservative.
- 6- Stop Solution** - Store at 2 and 8°C. Contains: Hydrochloric Acid 1 M.
- 7- Negative Control** - Store at 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution, stabilizer, surfactant and preservative. **Potentially infecting.**
- 8- Positive Control** - Store between 2 and 8°C. Contains: Antibodies IgM Anti-Rubella, Buffer Solution, dye, stabilizers, surfactant and preservative. **Potentially infectious.**
- 9- Plate Sealers**
- 10- Filter Paper Elution Buffer** - Store at 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution, surfactant, stabilizer and preservative.
- 11- Negative Extraction Control** - Store at 2 and 8°C. Contains: Non-reactive sample for IgM anti-rubella antibodies impregnated in Filter Paper. **Potentially infectious.**
- 12- Positive Extraction Control** - Store at 2 to 8°C. Contains: Reactive sample for IgM Anti-Rubella antibodies impregnated in Filter Paper. **Potentially infectious.**

PRESENTATION

REAGENTS	1	2	3
	96 CAVITIES	192 CAVITIES	480 CAVITIES
1- Sensitized Plate	1 unit (96 cavities)	2 units (192 cavities)	5 units (480 cavities)
2- Conjugate	1 Flask x 12 mL	2 Flasks x 12 mL	5 Flasks x 12 mL
3- Concentrated Washing	1 Flask x 50 mL	2 Flasks x 50 mL	5 Flasks x 50 mL
4- Sample Diluent	1 Flask x 42 mL	2 Flasks x 42 mL	5 Flasks x 42 mL
5- Substrate	1 Flask x 12 mL	2 Flasks x 12 mL	5 Flasks x 12 mL
6- Stop Solution	1 Flask x 12 mL	2 Flasks x 12 mL	5 Flasks x 12 mL
7- Negative Control	1 Flask x 300 µL	2 Flasks x 300 µL	5 Flasks x 300 µL
8- Positive Control	1 Flask x 300 µL	2 Flasks x 300 µL	5 Flasks x 300 µL
9- Plate Sealers	3 units	6 units	15 units
10- Elution Buffer in Filter Paper	1 Flask x 20 mL	2 Flask x 20 mL	5 Flask x 20 mL
11- Positive Extraction 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 for 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- Watch or stopwatch.
- 7- Flask to store the washing solution after diluted.
- 8- Distilled or deionized water.
- 9- Tools of Quality Control.
- 10- Incubator 37°C ± 2°C.
- 11- Paper shredder (3 mm diameter) for fi lter paper technique.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The storage temperature should be 2 to 8°C. The transport in up to 30°C should not exceed 5 days. Keep away from light and avoid moisture. **Do not freeze.**

SPECIAL CARE

- 1- For professional *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 at 2 to 8°C.

- 4- The water used in material cleaning must to be recent and free of contaminants.
- 5- Saturated deionized 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 HBs Antigen, 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.
- 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 MSDS (Material 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).
Use serum or plasma (EDTA or Heparin). Hemolyzed or highly lipemic samples should not be used. Samples may be refrigerated at between 2 and 8°C for a maximum of 5 days. If samples can not be analyzed within 5 days, they can be stored for up to 30 days at -20°C.

Filter paper whole blood

Whole Blood (Puncture or EDTA).
Samples dried on filter paper can be stored at room temperature provided they are protected from direct sunlight and low humidity. For storage of up to 2 years, the samples should remain refrigerated at 2 to 8°C.
Storage for more than 2 years must be carried out the temperature of -20°C.

PROCESS DESCRIPTION

PREPARATION OF WORKING REAGENTS

Washing Solution

Dilute the contents of the Flask N°3 (Concentrated Washing Solution) 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. Can be stored at room temperature. In case of crystallization, heat it at 37°C until dissolution.

Substrate

The Substrate is ready for use.

STABILITY AFTER OPEN

The results of the stability test show that the Biolisa kit Rubella IgM is stable after opening for at least 30 days. This stability may vary according to the conditions of the test and the environment. Therefore, it is suggested to monitor the product's performance using internal kit controls and technique validation criteria.

TECHNIQUE

Sample of Serum or Plasma

- Before starting the assay, bring all Reagents, Samples and Controls to stabilize at room temperature (15 - 30°C) for at least 40 minutes.
- 1- Select the wells to be used considering: 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- Pipette 100 µL of Sample Diluent. Even in the cavity for Blank.
 - 4- Pipette 5 µL of Sample and Controls 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 (if you made this option).
 - 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, included in the Blank cavity.
 - 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, included in the Blank cavity.
 - 19- Mix gently for ± 30 seconds.
 - 20- Read using double filter: 450nm/630nm within up to 15 minutes (maximum).
- Filter Paper Whole Blood Sample**
Before starting the assay, bring all Reagents, Samples and Controls to stabilize at room temperature (15 - 30°C) for at least 40 minutes.
- 1- Select the wells to be used considering: 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 disk 3 mm of the Positive Extraction Control, Negative Extraction Control and Whole Blood Samples on Filter Paper in the previously determined wells.
 - 4- Pipette 100 µL of Elution Buffer in filter paper, included in the Blank cavity
 - 5- Pipette 5 µL of 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 (if you made this option).
 - 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, included in the Blank cavity.
- 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, included in the Blank cavity.
- 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 Filter Paper

Verify if the results obtained by the reading of the Blank and Controls are compatible to the values below:

ITEM	ABSORBANCE
Blank	< 0.150
Negative Control	< 0.150
Positive Control	> 1.000
Negative Extraction Control	< 0.300
Positive Extraction Control	> 1.000

If the values fall out from the expected values, technique must be repeated.

CALCULATIONS

QUALITATIVE

Sample of Serum or Plasma

Calculate Cut Off according to the formula below:

Cut Off = (Positive Control Mean Abs. x 0.1) + 0.200

Example:

ITEM	ABSORBANCE
Positive Control	A1 = 2.134
	A2= 2.190
Cut Off = (Positive Control Mean Abs. x 0.1) + 0.200	Cut Off = ((2.134 + 2.190)/2 x 0.1) + 0.200 Cut Off = 0.416

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

ITEM	ABSORBANCE
Sample	1.279
Cut Off Value	0.416
Index: Sample / Cut Off Value	1.279 / 0.416 = 3.074

Filter Paper Whole Blood Sample

Calculate Cut Off according to the formula below:

Cut Off = (Positive Control Mean Abs. x 0.02) + 0.200

Example:

ITEM	ABSORBANCE
Positive Control	2.134
	2.190
Cut Off = (Positive Control Mean Abs. x 0.02) + 0.120	Cut Off=((2.134+ 2.190)/2 x 0.02) + 0.200 Cut Off = 0.243

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

ITEM	ABSORBANCE
Sample	1.045
Cut off Value	0.243
Index: Sample / Cut Off Value	1.045 / 0.243 = 4.3

INTERPRETACION OF RESULTS

Samples of serum plasma and filter paper whole blood.

After calculating the index of the samples, consider the indices below to determine the results.

RESULTS	QUALITATIVE
	INDEX
Negative (No Reagent)	< 0.8
Undetermined	Between 0.8 and 1.2
Positive (Reagent)	> 1.2

The results provided by this kit should be interpreted by the responsible medical professional and not the only criterion for determining the diagnosis and/or treatment of the patient.

PROCEDURE LIMITATIONS

IgM Antibodies are present in the serum for a short period of time, disappearing up to six months after infection, while IgG Antibodies remain present for a long period of time. However, the high sensitivity of the new diagnostic methodologies, in some cases, allows to find very low levels of IgM Antibodies, called residual IgM, for a longer period of time. Detection of these residual IgM Antibodies hinders clinical interpretation over the period of infection. In these cases, to confirm the result, an IgG avidity test is recommended.

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

QUALITY CONTROL

Accuracy

REPEATABILITY

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

REPEATABILITY	SAMPLE		
	1	2	3
Average	2.523	0.416	1.038
Standard Deviation	0.057	0.030	0.033
Coefficient of Variation (%)	2.269	7.096	3.150

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	2.458	0.371	0.978
Standard Deviation	0.079	0.041	0.052
Coefficient of Variation (%)	3.211	11.008	5.329

Clinical Sensitivity and Specificity

Serum or Plasma Sample of Serum or Plasma

BIOLISA Rubella IgM kit analyzed clinical samples in comparison with other methods of EIA.The results show that the clinical sensitivity of the BIOLISA Rubella IgM kit is > 99.99% and clinical specificity is 98.35%.

	Expected Result	Biolisa CMV IgG
Positive Sample	59	59
Negative Sample	121	119
Total Tested Samples	180	

Clinical Sensitivity: > 99.99% (59/59)

Clinical Specificity: 98.35% (119/121)

Filter Paper Whole Blood Sample

BIOLISA Rubella IgM kit analyzed clinical samples in comparison with other methods of EIA.The results show that the clinical sensitivity of the BIOLISA Rubella IgM kit is > 99.99% and clinical specificity is > 99.99%.

	Expected Result	Biolisa CMV IgG
Positive Sample	53	53
Negative Sample	67	67
Total Tested Samples	96	

Clinical Sensitivity: > 99.99% (53/53)

Clinical Specificity: > 99.99% (67/67)

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

Rubella is a RNA virus, spherical, small envelope, which belongs to the Togaviridae family. It is commonly known as german or 3 days measles. The Rubella virus infection is transmitted through droplets of saliva, resulting in mild contagious rash in children or young adults. In childhood, infection is a self-limiting, benign, characterized by low fever, headache, lymphadenopathy, arthralgia, and conjunctivitis. However, infection during pregnancy, especially in the first quarter, can lead to miscarriage, intrauterine infection causes fetal death, or congenital anomalies. Congenital Rubella depends on the period in which infection occurs and can result in complications disorders, including deafness, eye problems, including cataracts and glaucoma, congenital heart disease and mental retardation. IgM antibodies against Rubella are produced initially, reaching detectable levels within 2 - 3 days and peak within 14 - 21 days after onset of symptoms that remain detectable during the next 4 - 8 weeks. The diagnosis of active or recent infection can be obtained by the presence of IgM antibodies in the initial sample. After several days, IgG antibodies appear after IgM, with a peak of 14 - 21 days, varying levels persist for a lifetime. The presence of anti-Rubella IgG antibodies is indicative of preview infection and/or immunity.

NUMBER OF TESTS

Presentation 1 - 96 tests

Presentation 2 - 192 tests

Presentation 3 - 480 tests

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

1. Herrmann, 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- TELELAB. Manual de Coleta de Sangue - Diagnóstico e monitoramento das DST, Aids e Hepatites Virais.
8. 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 presentatio 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 IgM Kit: 10269360190

Review: July/2020

REF

CATALOG NUMBER

LOT

BATCH CODE

DATE OF MANUFACTURE

USED BY
(last day of month)

TEMPERATURE LIMITATION
(store at)

CONTAINS SUFFICIENT
FOR <N> TESTS

CONSULT INSTRUCTIONS
FOR USE

IVD

IN VITRO DIAGNOSTIC DEVICE

MANUFACTURED BY

CONTROL

CONTROL

CONTROL +

POSITIVE CONTROL

CONTROL -

NEGATIVE CONTROL

BIOLOGICAL RISK

INFLAMMABLE

CORROSIVE

POISON