

Immunoensayo de la Enzima para la Determinación Cualitativa de la Presencia de Anticuerpos IgM contra Rubéola en Suero Humano

Solo para diagnóstico In Vitro
Para uso exclusivo en laboratorios clínicos o de gabinete
Conservar entre 2°C a 8°C

RESUMEN Y PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Paso	Temp. ambiente 20 - 25°C	Volumen	Tiempo de incubación
1	Dilución de la muestra 1:40 (5µL / 200µL)		
2	Muestras diluidas, controles y calibrador	100 µL	30 minutos
3	Buffer de lavado (3 veces)	350 µL	
4	Enzima conjugada	100 µL	30 minutos
5	Buffer de lavado (3 veces)	350 µL	
6	TMB Substrato Cromogénico	100 µL	15 minutos
7	Solución de paro	100 µL	
8	Lectura a una densidad óptica de 450 nm		

RESUMEN Y EXPLICACION DE LA PRUEBA

Rubéola es un virus del herpes. Generalmente la rubéola es considerada una enfermedad leve de la adolescencia. Sin embargo una infección materna podría ser transmitida al feto a través de la placenta, causando rubéola congénita. La rubéola congénita podría causar una enfermedad crónica cardíaca, retardo del crecimiento, hepatosplenomegalia, mal formaciones, y otras severas anomalías. Los infantes asintomáticos podrían desarrollar estas anomalías más adelante en su vida.

Para reducir el riesgo de estas severas complicaciones, los métodos serológicos exactos deben ser llevados a cabo para determinar el estado serológico de mujeres con edad para concebir.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El antígeno rubéola purificado está cubierto sobre la superficie de los micro pozos. El suero diluido del paciente es agregado a los depósitos, y el anticuerpo específico de rubéola IgM, si se encontrara presente, se adhiere al antígeno. Todos los materiales no adheridos son lavados para su retiro. Después de agregar el conjugado de enzima, éste se adhiere al complejo del antígeno-anticuerpo. El exceso de conjugado de enzima es lavado para su retiro y el substrato y cromógeno es agregado. La reacción catalítica del conjugado de enzima es detenida a un tiempo específico. La intensidad del color generado es proporcional a la cantidad de anticuerpo específico de IgM en la muestra. Los resultados son interpretados por un lector de micro-elisas comparados de una manera paralela con un calibrador y controles.

REACTIVOS

Materiales abastecidos con el equipo de prueba:

1. Pozos de Microtira recubiertos de antígeno de Rubéola (12x8)

2. Solución Absorbente. 1 Frasco
3. Calibrador. Valor del factor (f) indicado en la etiqueta. 1 Vial
4. Control Negativo: Rango indicado en la etiqueta. 1 Vial
5. Control Positivo: Rango indicado en la etiqueta. 1 Vial
6. Concentrado de lavado 20x. 1 Frasco
7. Enzima Conjugada. 1 Frasco
8. TMB substrato cromogénico. 1 Frasco
9. Solución de paro. 1 Frasco

ALMACENAJE Y ESTABILIDAD

1. Almacenaje del equipo de 2 a 8 °C.
2. Siempre mantenga los micro pozos herméticamente sellados en la bolsa con el desecante. Recomendamos que use hasta agotar todos los pozos dentro de las 4 semanas después de la apertura inicial de la bolsa.
3. Los reactivos son estables hasta la fecha de expiración del equipo.
4. No exponer los reactivos al calor, sol o luz fuerte durante el almacenaje o uso.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES PARA LOS USUARIOS

1. Materiales potencialmente bio-peligrosos: los calibradores y controles contienen componentes de origen humano que han sido probados y se han encontrado no reactivos para el antígeno de superficie de hepatitis B así como el anticuerpo de HIV con los reactivos autorizados por la FDA. Sin embargo, como con cualquier método de prueba no se puede ofrecer una completa seguridad de que los virus VIH, Hepatitis B u otros agentes infecciosos estén ausentes, estos reactivos deben manejar el Nivel 2 de Bio seguridad, como es recomendado en los Centers for Disease Control / National Institutes of Health manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories". 1984
2. No pipetear con la boca, no fumar, comer o beber en las áreas en que las muestras o equipos son manejados.
3. Se entiende que los componentes en este equipo son para el uso de una unidad integral. Los componentes de diferentes lotes no deben mezclarse.
4. Estos productos contienen componentes preservados con azida de sodio. La azida de sodio puede reaccionar con el plomo y cobre de las cañerías para formar una azida metálica explosiva. En disposición, vacíe con un gran volumen de agua.

RECOLECCIÓN Y MANEJO DEL ESPÉCIMEN

1. Recolecte muestras sanguíneas y separe el suero.
2. Los especímenes pueden ser refrigerados a 2-8 °C por hasta siete días o congelados por hasta seis meses. Evite el congelado y descongelado repetitivo de la muestra de suero.
3. Si la rubéola es clínicamente sospechada, un espécimen de sangre debe ser tomado en un tiempo de tres días después del comienzo de una erupción cutánea y un segundo espécimen debe ser tomado al menos dos semanas después. Pruebe ambos sueros para el anticuerpo simultáneamente.

Diagnóstica
Internacional



"Rápida solución a tus necesidades clínicas"

Distribuido por:

DIAGNÓSTICA INTERNACIONAL S.A. de C.V.
Rudyard Kipling 4886 Col. Jardines de la Patria
CP 45110 Zapopan, Jalisco, México
Lada sin costo: 01 800 440 0404 c/ 10 líneas
Tel: 01 (33) 3770 1940 c/ 10 líneas

PREPARACIÓN PARA EL ENSAYO

1. Prepare búfer de lavado 1x. Prepare el amortiguador de lavado al agregar agua destilada o desionizada al concentrado de lavado 20x para obtener un volumen final de 1 litro.
2. Ponga todos los especímenes y reactivos del equipo de prueba a temperatura ambiente (20°-25°C) y mezcle suavemente.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Poner el número deseado de tiras recubiertas en el soporte.
2. Prepare la dilución 1:40 de las muestras de prueba, control negativo, control positivo y calibrador al agregar 5 µL de la muestra a 200 µL de la solución absorbente. Mezcle bien.
3. Vierta 100 µL de suero diluido, calibrador, y controles en los depósitos apropiados. Para el blanco de reactivo, vierta 100 µL de diluyente de muestra en la posición del pozo A1. Mezcle e incube por 30 minutos a temperatura ambiente.
4. Retire el líquido de todos los depósitos y repita el lavado tres veces con el búfer de lavado.
5. Vierta 100 µL de enzima conjugada a cada pozo e incube por 30 minutos a temperatura ambiente.
6. Retire el conjugado de enzima de todos los pozos. Repita el lavado 3 veces con el amortiguador de lavado.
7. Vierta 100 µL de TMB substrato cromogénico a cada pozo e incube por 15 minutos a temperatura ambiente.
8. Agregue 100 µL de solución de paro para detener la reacción. *Nota: Asegúrese que no existan burbujas de aire en cada pozo antes de la lectura.*
9. Lea a 450 nm D.O. con un lector de micro-pozos.

CÁLCULO DE RESULTADOS

1. Para obtener el valor del Cut-off, multiplique la D.O. del calibrador por el factor (f) impreso en la etiqueta del calibrador.
2. Calcule el índice IgM para cada determinación dividiendo los valores de las densidades ópticas de cada muestra obtenida entre el valor obtenido del Cut-off.

Ejemplo:

Valor del factor impreso en la etiqueta (f) = 0.4

Nota: El valor de este factor es variable. Puede estar entre 0.35 a 0.5 impreso en la etiqueta del calibrador.

Calibrador D.O. = 1.100

Cut off D.O. = 1.100 x 0.4 = 0.44 (Index IgM = 1)

Muestra del paciente D.O. = 0.580

IgM Index = 0.580 / 0.44 = 1.32 (Resultado Positivo)

Muestra del paciente D.O. = 0.320

IgM Index = 0.320 / 0.44 = 0.73 (Resultado Negativo)

CONTROL DE CALIDAD

La corrida de la prueba podría ser considerada válida siempre y cuando los siguientes criterios sean cumplidos:

1. El valor D.O. del blanco de reactivo comparado con aire de un lector de micro elisa y ser menor de 0.150.
2. Si el valor D.O. del Calibrador es menor de 0.250, la prueba no es válida y debe ser repetida.
3. El Índice Rubéola M para el Control Positivo y Negativo debe encontrarse en el rango descrito en las etiquetas.

INTERPRETACIÓN

- **NEGATIVO:** El índice Rubéola M menor de 0.90 es seronegativo para el anticuerpo IgM para el virus de rubéola.
- **INDETERMINADO:** Índice Rubéola M entre 0.91-0.99 es equívoco. La prueba debe ser repetida.
- **POSITIVO:** Índice de Rubéola M de 1.00 o mayor es seropositivo. Esto indica una exposición previa al virus de la rubéola.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. Para evitar resultados de la prueba IgM falsos negativos y falsos positivos causados por la presencia del IgG específico y factor reumatoide (FR) en algunas muestras, los reactivos abastecidos en este equipo de prueba han sido formulados para resolver estas interferencias. Sin embargo, en muestras con niveles extremadamente altos de FR y anticuerpos autoinmunes, la posibilidad de estas interferencias no pueden ser excluidas totalmente.
2. Al igual que otros ensayos serológicos, los resultados de estos ensayos deben ser utilizados junto con la información disponible de una evaluación clínica y otros procedimientos diagnóstico.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

PRECISIÓN

La precisión del ensayo (análisis) fue evaluada por medio de la prueba de tres diferentes sueros de ocho réplicas durante 3 días. El C.V. de intra-ensayo y el inter-ensayo están resumidos enseguida:

	Negativo	Positivo Bajo	Positivo
Intra-ensayo	8.5%	7.4%	5.2%
Inter-ensayo	9.6%	8.2%	6.5%

REFERENCIAS

1. Gravell, M. P.H. Dorcett, O. Gutenson, and A.C. Ley. *Detection of antibody to rubella virus by enzyme-linked immunosorbent assay. J. Infect. Dis.* 136:S300, 1977.
2. Hermann, K.L. *Rubella virus. Manual of Clinical Microbiology, 3rd. Edition. Lennette, Balows, Hausler, Truant (ed.) Chapt. 86:862, 1980.*
3. Katz, S.L. *Rubella (German measles). Zinssmer Microbiology, 18 th Edition. Jolik, Willett, Amos (ed.) Chapt 75:1067, 1985*

Diagnóstica
Internacional



"Rápida solución a tus necesidades clínicas"

FABRICADO POR:

INTERNATIONAL IMMUNO-DIAGNOSTICS
1155 CHESS DRIVE No. 121
FOSTER CITY, CA 94404 USA