

Ruba IgG/IgM cassette

PRESENTACION			
REF	4217240	Ruba IgG/IgM	40 Tests
Sólo para uso profesional			

Ruba IgG/IgM

Prueba rápida para la detección semi-cuantitativa y diferenciación de anticuerpos (IgG e IgM) anti-virus de la rubéola en suero, plasma y sangre total humana.

ONE STEP

FUNDAMENTO

LINEAR Ruba IgG/IgM cassette es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. El casete contiene: 1) una almohadilla con antígenos del virus de la rubéola conjugados con oro coloidal (conjugados de rubéola) y un anticuerpo control conjugado con oro coloidal, 2) una tira de nitrocelulosa que contiene tres líneas de ensayo (M, G1 y G2) y una línea control (línea C). La línea M está pre-cubierta con anticuerpos monoclonales de ratón anti-IgM humana. Las líneas G1 y G2 están pre-cubiertas con anticuerpos monoclonales de ratón anti-IgG humana para la detección de diferentes niveles de IgG anti-rubéola. La línea C está pre-cubierta con un anticuerpo control.

Si se dispensa la cantidad adecuada de muestra y diluyente, la muestra migra por acción capilar a través del casete. Si la muestra contiene IgM anti-rubéola, esta se unirá a los conjugados de rubéola. El inmunocomplejo es entonces capturado en la membrana por los anticuerpos de ratón anti-IgM humana pre-cubiertos y aparece la línea M, indicando un resultado positivo frente a IgM específica a rubéola.

Si la muestra contiene IgG anti-rubéola, esta se unirá a los conjugados de rubéola. El inmunocomplejo es capturado en la membrana por los anticuerpos de ratón anti-IgG humana pre-cubiertos y aparecen las líneas G1 y/o G2, de color, indicadoras de un resultado positivo a IgG específica de rubéola. La línea G1 aparece con títulos de IgG anti-rubéola de ≥ 15 IU/mL. Un título de IgG anti-rubéola de ≥ 250 IU/mL promueve la aparición de las líneas G1 y G2. La ausencia de las líneas de ensayo (M, G1 o G2) sugiere un resultado negativo.

La prueba contiene un control interno (línea C) que, independientemente del color de las líneas de ensayo (M, G1 y G2), debe desarrollar color. Si la línea C no aparece, el resultado no es válido y la muestra debe ser evaluada con otro dispositivo.

CONTENIDO DEL ENVASE

REF	4217240	40 Ruba IgG/IgM rapid test device
		40 Tubos Capilares (10 μ L)
		1 Diluyente de muestra (5 mL)

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Conservar a 2-30°C. El dispositivo de ensayo es estable hasta la fecha de caducidad impresa en el sobre, siempre que se mantenga en el sobre bien sellado hasta su uso. **NO CONGELAR**. No usar una vez superada la fecha de caducidad.

RECOLECCIÓN Y PREPARACION DE MUESTRAS

Considerar los materiales de origen humano como potencialmente infecciosos y manipular según los procedimientos de bioseguridad.

Plasma. Recolectar la muestra en un tubo de tapón lila, azul o verde (que contenga EDTA, Citrato o Heparina) por venopunción.

- Separar el plasma por centrifugación.
- Cuidadosamente transferir el plasma a un tubo nuevo.

Suero. Recolectar por venopunción la muestra en un tubo tapa roja (sin anticoagulantes).

- Esperar la formación del coágulo. Separar el suero.
- Cuidadosamente transferir el suero a un tubo nuevo.

Procesar las muestras lo antes posible. Almacenar las muestras a 2-8°C si no se van a procesar inmediatamente. Las muestras son estables 5 días a 2-8°C. Para almacenamientos prolongados congelar a -20°C. Evitar ciclos múltiples de congelación y descongelación. Antes del ensayo, atemperar las muestras a temperatura ambiente lentamente y mezcle con suavidad.

Centrifugar las muestras que contengan partículas. No utilizar muestras con lipemia, hemólisis o turbidez con el fin de evitar interferencias en la interpretación de los resultados.

Sangre Total. Recolectar las muestras por punción de la punta del dedo o por extracción venosa. Recolectar la muestra en un tubo con anticoagulante. No usar sangre hemolizada. Conservar las muestras a 2-8°C si no se testan inmediatamente, usar dentro de las 24 horas posteriores a su recolección.

EQUIPO ADICIONAL

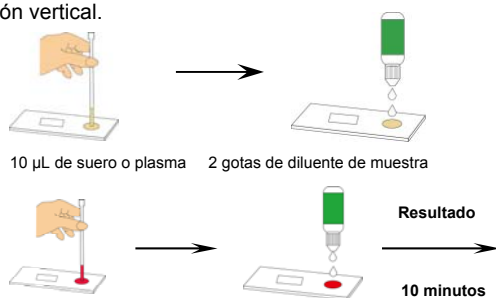
- Cronómetro.



TECNICA

Atemperar, a temperatura ambiente (20-30°C) el dispositivo, la muestra y/o controles antes de su uso.

- Sacar el dispositivo de la bolsa sellada, y colocarlo sobre una superficie limpia y nivelada. Rotular el dispositivo con la identificación del paciente o del control. Para obtener los mejores resultados realizar el ensayo antes de una hora.
- Llenar el tubo capilar con suero, plasma o sangre total que no exceda la línea de muestra, como se indica en la siguiente imagen. El volumen aproximado de 10 μ L. Para mayor precisión, transferir la muestra con una pipeta de 10 μ L.
- Sostener el tubo capilar en vertical, dispensar el total de la muestra en el hoyo de la muestra (S), evitar atrapar burbujas de aire. Inmediatamente después añadir 2 gotas (60-80 μ L) de diluyente de muestra al pocillo de tampón (B) con la botella en posición vertical.



- Poner en marcha el cronometro.
- Leer el resultado a los 10 minutos. Los resultados positivos pueden ser visibles en 1 minuto. No leer el resultado después de 15 minutos. Para evitar confusiones, desechar el dispositivo de prueba después de interpretar el resultado.

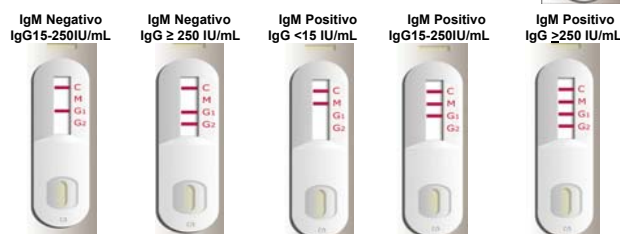
INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

RESULTADO NEGATIVO:

Si solo aparece la línea C, la prueba indica que los niveles de IgM e IgG anti-rubéola en la muestra están por debajo del límite de detección del ensayo. El resultado es negativo.



RESULTADO POSITIVO:



Las muestras con resultados positivos deben ser confirmadas con un método alternativo y otros elementos clínicos antes de determinar un resultado positivo.

INVÁLIDO: Si la banda C no se colorea, el ensayo se considera inválido a pesar de que las otras bandas se tñan. Repetir nuevamente la prueba en otro casete.



CONTROL DE CALIDAD

La prueba incluye un control de calidad interno. Cuando la prueba se realiza correctamente aparece una línea en el área de control (C). Esta línea confirma que se utilizó el volumen suficiente de muestra y que se siguieron los pasos de procedimiento correctamente. Se recomienda utilizar un control positivo y un control negativo para verificar el buen funcionamiento de cada nuevo lote de producto en su recepción. Los controles no están incluidos en el kit.

SIGNIFICADO CLINICO

La infección por rubéola tiene lugar normalmente en la niñez. Generalmente está acompañada de síntomas leves como erupciones macropapulares en la cabeza y el tronco, fiebre, artritis y linfadenopatías¹. Sin embargo, si la infección aparece durante el embarazo puede desarrollar defectos congénitos conocidos como síndrome de rubéola congénita (SRC) e incluyen defectos de la vista, sordera, enfermedades del corazón y retraso mental¹. El diagnóstico clínico de la rubéola es inespecífico y no confiable¹. Por lo tanto, el diagnóstico de laboratorio es esencial para confirmar una infección aguda. Durante una infección aguda los anticuerpos IgM anti-rubéola se detectan 3 – 6 días después del comienzo de los síntomas y generalmente disminuyen a niveles indetectables dentro de 12 – 14 semanas². La IgG anti-rubéola puede ser detectada a las 2 – 3 semanas de la infección y sus niveles pueden superar los 200 IU/mL durante la fase aguda de la². Niveles de IgG anti-rubéola de ≥ 10 -15 IU/mL son indicadores de la existencia de una inmunidad protectora^{3,4} aunque esta garantía no es absoluta. Los pacientes sin niveles protectores de anticuerpos IgG anti-rubéola (<10-15 IU/mL) se consideran con riesgo de adquirir la infección con el virus durante el embarazo^{3,4}. La Prueba permite la detección y diferenciación de IgG e IgM anti- virus de la rubéola en suero, plasma y sangre total. El ensayo permite la diferenciación entre niveles altos (≥ 250 IU/mL) y bajos (≥ 15 – <250 IU/mL) títulos de IgG anti-rubéola y puede ser utilizado por personal con una calificación básica sin la necesidad de equipamiento de laboratorio. Las concentraciones de anticuerpos IgM e IgG anti-rubéola varían según la edad de la población y los programas de vacunación locales. Las tasas de IgG anti-rubéola ≥ 10 -15 IU/mL y >200 IU/mL son 89-94% y 3.4%, respectivamente⁵⁻⁸. La tasa de IgM anti-rubéola es 0.3-1.7%^{7,8}.

CARACTERISTICAS DIAGNOSTICAS

Sensibilidad analítica de la detección de IgG

Doce grupos de matrices fueron inoculadas con el estándar primario de la OMS de IgG anti-virus de la rubéola (RUBI-1-94) hasta concentraciones finales de 0, 5, 10, 15, 20, 30, 60, 100, 160, 200, 250, and 300 IU/mL. Las muestras fueron evaluadas con Rubeola IgG/IgM cassette. El límite de detección o sensibilidad (definido como un nivel de detección $\geq 95\%$) para las líneas G1 y G2 de la Rubeola IgG/IgM cassette es 15 IU/mL y 250 IU/mL respectivamente.

Límite de detección para la línea G1

IgG IU/mL	0	5	10	15	20	30	60
Número de positivos	0	2	13	19	20	20	20
Número de negativos	2	18	7	1	0	0	0

N=20, Sensibilidad analítica a 15 IU/mL = $19/20 \times 100 = 95\%$

Límite de detección para la línea G2

IgG IU/mL	30	60	100	160	200	250	300
Nº de positivos	0	4	11	13	18	20	20
Nº de negativos	20	16	9	7	2	0	0

N=20, Analytic sensitivity at 250 IU/mL = $20/20 \times 100 = 100\%$

Exactitud de la detección de IgG

Se evaluó un total de 214 muestras usando la Prueba Rápida Rubéola IgG/IgM y un ELISA comercial para detección de IgG anti-rubéola con un valor de corte de 10 IU/mL. La comparación de los resultados se muestra en la tabla siguiente:

Referencia	Ruba IgG/IgM Cassette		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	171	3	174
Negativo	2	38	40
Total	173	41	214

Entre las 214 muestras, 3 tuvieron niveles de IgG superiores a 250 IU/mL. Todas estas muestras fueron detectadas como positivas en las líneas G1 y G2 de la Prueba Rápida Rubéola IgG/IgM cassette.

Tasa de positividad en muestras clínicas

La tasa de positividad de la Prueba Rápida Rubéola IgG/IgM se evaluó con 10,000 muestras clínicas. La tasa de resultados positivos para las líneas M, G1 y G2 fueron 0.3%, 87% y 7%, respectivamente.

Panel de títulos mixtos para evaluación de desempeño. Boston Biomedica Inc (BBI). El panel de muestras PTR-201 (BBI Mixed Titer Performance Panel) se usó para la evaluación de la Prueba Rubéola IgG/IgM tomando como referencia un ensayo rápido comercial para detección de IgM anti-rubeola. Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Panel de referencia BBI: Abbott EIA-Rubeola	Nº	Prueba Rápida Rubéola IgG/IgM		
		M (+)	G1 (+)	G2 (+)
IgM Positivo	5	4	0	0
IgG < 15 IU/mL	2	0	0	0
15 IU/mL \leq IgG < 250 IU/mL	14	0	14	0
IgG \geq 250 IU/mL	9	0	9	6
Negativo	20	0	0	0

Reactividad Cruzada. No se observaron resultados falsos positivos durante la evaluación de 4 – 10 muestras tomadas de pacientes con las siguientes enfermedades o condiciones:

Hepatitis A	Hepatitis B	Hepatitis C	Sífilis
Tuberculosis	Dengue	<i>H. pylori</i>	Herpes simplex 1
Toxoplasma	HAMA	Anticuerpos antinucleares	Herpes Simplex 2
Citomegalovirus	HIV	RF (<2,500 IU/mL)	

Todos los resultados positivos para IgG anti-rubeola fueron confirmados por ELISA

Interferencia. La posible interferencia de algunas sustancias comunes (analgésicos, antipiréticos y componentes de la sangre) con la Prueba se estudiaron añadiendo estas sustancias a muestras negativas, IgG positivas e IgM positivas. Los resultados demuestran que en las concentraciones evaluadas las sustancias estudiadas no afectan la funcionalidad de la Prueba Rápida Rubéola IgG/IgM.

Lista de sustancias y concentraciones evaluadas:

1. Albúmina	60 g/L	6. Hemoglobina	2 g/L
2. Bilirrubina	20 mg/dL	7. Heparina	3,000 U/L
3. Creatinina	442 μ mol/L	8. Ácido salicílico	4.34 mmol/L
4. EDTA	3.4 μ mol/L	9. Citrato de Sodio	3.8%
5. Glucosa	55 mmol/L		

LIMITACIONES EL ENSAYO

- El procedimiento de ensayo y la interpretación de los Resultados deben ser seguidos cuidadosamente, de no ser así el procedimiento puede dar lugar a resultados inexactos.
- Esta prueba se limita a la detección cualitativa de IgM anti-VHA. La intensidad del color en las líneas de ensayo no tiene correlación con la concentración de anticuerpos en la muestra.
- Un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición o infección con virus de la rubéola. Un resultado negativo puede obtenerse si la cantidad de anticuerpos específicos presente en la muestra está por debajo de los límites de detección del ensayo o si estos anticuerpos no están presentes durante la etapa de la enfermedad en que la muestra es colectada.
- La infección puede progresar rápidamente. Si los síntomas persisten y el resultado es negativo, se recomienda tomar otra muestra días después o usar un método alternativo.**
- La Prueba no ha sido validada con muestras de recién nacidos.
- Las muestras con mononucleosis infecciosa, títulos altos de anticuerpos heterófilos, o valores de factor reumatoide superiores a 2,500 IU/mL pueden afectar los resultados.
- La Prueba no diferencia entre los anticuerpos generados por vacunación y aquellos generados por infección.
- Los resultados obtenidos deben ser interpretados en conjunto con otros procedimientos diagnóstico y los signos clínicos.

PRECAUCIONES

- Las instrucciones de uso debe leerse completamente antes de realizar la prueba. El incumplimiento de la técnica puede dar lugar a resultados inexactos.
- No utilizar dispositivos caducados.
- No utilizar componentes de otro kit en sustitución de alguno de los componentes de este kit.
- No utilizar muestras hemolizadas.
- Usar ropa de protección y guantes desechables cuando manipule los reactivos del kit y las muestras clínicas. Lávese bien las manos después de realizar la prueba.
- Seguir las precauciones universales CDC de Estados Unidos para la prevención de la transmisión del VIH, el VHB y otros patógenos de transmisión sanguínea.
- Deseche todas las muestras y materiales utilizados como residuos biológicos peligrosos.
- Leer los resultados a los 15 minutos, lecturas a los 20 minutos puede dar resultados erróneos.
- No realizar la prueba en una habitación con un fuerte flujo de aire (un ventilador eléctrico o aire acondicionado fuerte).

REFERENCIAS

- Banatvala JE, Brown DWG. Rubella. Lancet 2004. 363(9415):1127-1137.
- Vauloup-Fellous C, Grangeot-Keros L. Humoral immune response after primary rubella virus infection and after vaccination. Clin Vaccine Immunol 2007. 14(5):644-647.
- Skendzel LP. Rubella immunity. Defining the level of protective antibody. Am J Clin Path 1996. 106(2):170-174.
- Dimech W, Arachchi N, Cai J, et al. Investigation into low-level anti-rubella virus IgG results reported by commercial immunoassays. Clin Vaccine Immunol 2013. 20(2):255-261.
- Lin C-C et al. Persistence and titer changes of rubella virus antibodies in primiparous women who had been vaccinated with strain RA 27/3 in junior high school. Clin Vaccine Immunol 2012. 19(1):1-4.
- Tharmaphornpilas P et al. Seroprevalence of antibodies to measles, mumps, and rubella among Thai population: evaluation of measles/MMR immunization programme. J Health Popul Nutr 2009. 27(1):80.
- Mwambe B, et al. Sero-positivity rate of rubella and associated factors among pregnant women attending antenatal care in Mwanza, Tanzania. BMC Pregnancy Childbirth 2014. 14(1):95.

O4325-3/0903
R1.cas

