

SeraQuest® RUBELLA IgG

REF

01-100 96 Determinaciones

IVD

Indicaciones: Determinación cualitativa, semi-cuantitativa o cuantitativa de anticuerpos humanos IgG frente al virus de la Rubéola en suero humano mediante inmunoensayo enzimático. El equipo sirve de ayuda en la determinación de la infección por Rubéola. Cuando SeraQuest® Rubella IgG se utiliza como prueba cualitativa de screening, sirve de ayuda en la valoración del estado inmunológico del paciente, incluyendo mujeres en edad fértil.

Este producto es exclusivo para el diagnóstico *in vitro*.

Resumen del procedimiento de trabajo

1. Preparar una dilución 1:51 del Calibrador o Calibradores, Controles y Muestras utilizando el diluyente SQ-Diluent incluido en el equipo. Mezclar correctamente.
2. Pipetear 100 µl de las diluciones a los correspondientes pocillos del SQ-Rubella IgG Wells; reservar un pocillo para el blanco.
3. Incubar durante 30 ± 5 minutos a temperatura ambiente.
4. Aspirar el contenido de todos los pocillos y lavar cada uno de ellos 4 veces con la SQ-Wash diluido y aspirar.
5. Añadir 100 µl de SQ-Rubella IgG Conjugate en cada pocillo.
6. Incubar durante 30 ± 5 minutos a temperatura ambiente.
7. Aspirar el contenido de los pocillos cuidadosamente. Lavar los pocillos 4 veces con SQ-Wash diluido y aspirar.
8. Añadir 100 µl de SQ-Substrate en cada pocillo.
9. Incubar durante 30 ± 5 minutos a temperatura ambiente.
10. Detener la reacción enzimática con 100 µl de SQ-Stop Reagent.
11. Leer la absorbancia a 405 nm frente al blanco de reactivos.

Introducción y Principio del método

La manifestación más importante de la infección por el virus de la Rubéola es el síndrome congénito como resultado de la infección durante el embarazo, principalmente durante el primer trimestre. Para prevenir el síndrome congénito de la Rubéola, es esencial el *screening* y vacunación de mujeres susceptibles en edad fértil.

La detección de los anticuerpos tipo IgG contra el virus de la Rubéola es indicativo de una infección previa y de una supuesta inmunidad (1, 2). Más aún, los métodos serológicos de *screening* permiten determinar el estado inmunológico de los individuos respecto a su resistencia o susceptibilidad a la infección por Rubéola.

Los métodos serológicos son los métodos más usuales en el diagnóstico de una infección por Rubéola aguda o reciente. Éstos tienen lugar ya sea, por un incremento de cuatro veces o superior el nivel de anticuerpos IgG específicos al virus de dos sueros, uno con infección aguda respecto a uno convaleciente; o bien, la detección de anticuerpos IgM específicos al virus en un único suero obtenido en una etapa muy temprana de la infección.

El método serológico tradicional para la evaluación de anticuerpos contra rubéola, la inhibición de la hemoaglutinación, se ha visto reemplazado por el ensayo inmunoenzimático en fase sólida (ELISA) (3). El equipo SeraQuest® Rubella IgG es un método ELISA que utiliza el formato microplaca. Los resultados se obtienen después de una hora y media de incubación. Los resultados son objetivos y expresados en valor de Índice o Unidades Internacionales (IU/ml), referenciadas a la Preparación del Estándar Internacional de la OMS de un suero que contiene anticuerpos anti-Rubéola(4).

Principio del método

Las muestras diluidas se incuban en pocillos recubiertos de antígeno. Los anticuerpos anti-Rubéola, si están presentes, se fijan a los pocillos. Los componentes de la muestra que no han reaccionado se eliminan mediante un lavado y aspiración. A continuación, se añade e incuba el conjugado (anticuerpos anti-IgG humana marcados con enzima). Si la muestra contiene anticuerpos IgG anti-Rubéola, el conjugado se fijará en los pocillos. El conjugado residual se elimina mediante lavado y aspiración, añadiendo a continuación el sustrato. En presencia del enzima, el sustrato se transforma en producto final de color amarillo el cual se lee fotométricamente.

Composición

SQ-Rubella IgG Wells	Pocillos divisibles recubiertos con antígeno de Rubéola sonificado (cadena HPV-77, producida por células Vero y purificadas mediante las correspondientes etapas de centrifugación). 12 tiras de 8 pocillos.
SQ-Well Support	Un soporte de microplacas.
SQ-Diluent*	25 ml (color rosa). Diluyente para muestras. Contiene un estabilizante de proteínas.
SQ-Rubella IgG Calibrator 1*	0.3 ml. Suero humano. Fuertemente reactivo para anticuerpos IgG anti-Rubéola. El valor del Índice e IU/ml viene impreso en la etiqueta del vial.
SQ-Rubella IgG Calibrator 2*	0.3 ml. Suero humano. Moderadamente reactivo para anticuerpos IgG anti-Rubéola. El valor del Índice e IU/ml viene impreso en la etiqueta del vial.
SQ-Rubella IgG High Positive Control*	0.3 ml. Suero humano. Reactivo para anticuerpos anti-Rubéola. El valor del Índice e IU/ml viene impreso en la etiqueta del vial.
SQ-Rubella IgG Low Positive Control*	0.3 ml. Suero humano. Débilmente reactivo para anticuerpos anti-Rubéola. El valor del Índice e IU/ml viene impreso en la etiqueta del vial.
SQ-Rubella IgG Negative Control*	0.3 ml. Suero humano. No reactivo para anticuerpos anti-Rubéola.
SQ-Rubella IgG Conjugate*	12 ml (color verde). Anticuerpo de cabra frente a anti-IgG humana marcada con fosfatasa alcalina (ternera)
SQ-Substrate	12 ml. Solución de sustrato. <i>p</i> -nitrofenil fosfato

Nota: El sustrato puede desarrollar una ligera coloración amarilla durante su conservación. 100 µl de sustrato deberían dar una absorbancia inferior a 0.35 cuando se leen en un pocillo frente a aire o agua.

SQ-Wash Concentrate*	30 ml. Solución de lavado concentrada (30x). Preparar la solución de lavado añadiendo el contenido de la solución de SQ-Wash Concentrate en un litro de agua destilada o desionizada.
SQ-Stop Reagent	12 ml. Solución de parada. Fosfato de Trisodio 0.5 M.

* Contiene azida sódica.

Almacenar estos reactivos de acuerdo con las instrucciones de la etiqueta. Evitar el contacto con la piel u ojos. Si ello sucede, lavar con abundante agua.

Material necesario no suministrado

1. Botella de lavado.
2. Pipetas para dispensar 4, 100 y 200 µl.
3. Cronómetro.
4. Recipiente para solución de lavado diluida (1 ó 2 litros).
5. Agua destilada o desionizada.
6. Tubos de dilución o micropocillos.
7. Lector de microplacas capaz de leer absorbancias a 405 nm.

Precauciones

1. Sólo para diagnóstico *in vitro*.
2. Muestras, calibradores, controles y resto de materiales en contacto con ellos, deben tratarse como potencialmente infecciosos. Los calibradores y controles han resultado ser negativos para anticuerpos anti-VIH, anti-VHC y HBsAg mediante pruebas adecuadas. No obstante, ya que ningún método puede asegurar la ausencia de éstos u otros agentes infecciosos, estos materiales deben ser manipulados como potencialmente infecciosos de nivel 2 (como cualquier suero potencialmente infeccioso o muestra de sangre) según se recomienda en *Centers for Disease Control/National Institutes of Health Manual "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories"*, 1993, o última edición.
3. Evitar el contacto con heridas.
4. Nunca pipetear con la boca.
5. Algunos de estos reactivos contienen azida sódica. Las azidas pueden reaccionar con el plomo y cobre de las cañerías para formar compuestos explosivos. Cuando se desechen reactivos que contengan este producto, hacerlo con gran volumen de agua para minimizar la formación de estos compuestos.
R 20/21/22: Dañinas por inhalación, en contacto con la piel y su ingestión.
S36/37: utilizar ropa de laboratorio y guantes de protección adecuados.
6. No intercambiar reactivos de diferente número de lote, excepto para la, SQ-Wash Concentrate, SQ-Substrate y SQ-Stop Reagent.
7. No utilizar reactivos después de la fecha de caducidad.
8. Respetar los tiempos de incubación indicados en el apartado *Procedimiento*.
9. Los pocillos SQ-Rubella IgG Wells no utilizados, introducirlos en la bolsa de plástico incorporada en el equipo con el agente desecante, cerrarla herméticamente y conservarlos refrigerados.
Este producto debe ser utilizado únicamente por personal cualificado.

Muestras

El suero debe separarse de la sangre coagulada. Si las muestras no son analizadas en un periodo inferior a 8 horas, éstas deben ser conservadas a 2-8 °C durante un máximo de 48 horas. Para periodos de tiempo superiores, congelarlas a -20°C o inferior. Deben evitarse múltiples ciclos de congelación-descongelación. Las muestras que contengan partículas visibles en suspensión deben centrifugarse. Las muestras no deben ser inactivadas térmicamente antes de ser analizadas.

El equipo SeraQuest® Rubella IgG ha sido examinado experimentalmente frente a interferencias tales como muestras de suero ictericas, hemolizadas, hiperglicémicas, hiperlipémicas y hiperproteicas. No se ha observado interferencia alguna en muestras que contenían concentraciones ocho veces superiores a la concentración normal fisiológica de cada uno de los interferentes analizados: la concentración máxima de cada uno de los interferentes analizados fueron: bilirrubina: 0.21 milimoles/litro (12 mg/dl); hemoglobina 2.69 milimoles/litro (18 mg/dl); glucosa: 44.4 milimoles/litro (800 mg/dl); colesterol: 70.3 milimoles/litro (2.72 mg/dl) y gammaglobulina: 1.38 milimoles/litro (28 mg/dl).

Procedimiento

Atemperar todos los reactivos y muestras antes de ser utilizados. Devolverlas rápidamente al frigorífico después de usar. Proceder como se indica a continuación:

1. Preparar la dilución 1:51 de las muestras, calibradores y controles utilizando el diluyente (SQ-Diluent) incluido en el equipo. Por ejemplo: añadir 4 µl de muestra a 200 µl de SQ-Diluent en un pocillo o tubo y mezclar bien.
Nota: para ensayos cualitativos, utilizar únicamente un calibrador (SQ-Rubella IgG Calibrator 2); para ensayos semicuantitativos o cuantitativos utilizar el SQ-Rubella IgG Calibrator 1 y SQ-Rubella IgG Calibrator 2.
2. Colocar el número apropiado de pocillos procedentes del SQ-Rubella IgG Wells en el soporte de la microplaca.
3. Transferir 100 µl de cada uno de los calibradores, controles y muestra diluidos a los pocillos correspondientes.
Nota: Incluir un pocillo que contenga únicamente 100 µl de SQ-Diluent. Éste servirá como blanco de reactivos y se utilizará para hacer el cero del fotómetro antes de leer los resultados.
4. Incubar los pocillos a temperatura ambiente (20 – 25°C) durante 30 ± 5 minutos.
5. Lavar los pocillos 4 veces con DG-Wash diluido, vaciándolos a continuación.
6. Añadir 100 µl de SQ-Rubella IgG Conjugate en cada pocillo.
7. Incubar a temperatura ambiente (20 – 25°C) durante 30 ± 5 minutos.
8. Lavar los pocillos 4 veces con DG-Wash diluido, vaciándolos a continuación.
9. Añadir 100 µl de SQ-Rubella IgG Substrate en cada pocillo.
10. Incubar a temperatura ambiente (20 – 25°C) durante 30 ± 5 minutos.
11. Añadir 100 µl de SQ-Stop Reagent en cada pocillo.
12. Leer y anotar la absorbancia del contenido de cada pocillo a 405 nm frente al blanco.
Nota: Ajustar el fotómetro a cero de absorbancia a 405 nm frente al blanco. Las lecturas deberían realizarse durante las 2 horas posteriores a la detención de la reacción.

Cálculo de los resultados

Los resultados cualitativos pueden ser calculados utilizando un único calibrador (SQ-Rubella IgG Calibrator 2). Para resultados semi-cuantitativos, utilizar una curva de calibración mediante dos o más calibradores.

Un único Calibrador (SQ-Rubella IgG Calibrator 2)

Determinar el valor del índice o IU/ml de cada muestra (o Control) usando la fórmula siguiente:

$$\text{Índice del SQ-Rubella IgG Calibrator 2 o IU/ml} \times \text{Absorbancia de la muestra} = \text{Índice o IU/ml de la muestra}$$

Si se analiza el calibrador por duplicado, utilizar la media de los valores obtenidos para realizar el cálculo.

Curva de calibración

Alternativamente, los resultados pueden calcularse a partir de una curva de calibración a tres puntos: SQ-Rubella IgG Calibrator 1 (punto alto), SQ-Rubella IgG Calibrator 2 (punto medio) y blanco de reactivos (cero / origen), usando un gráfico punto a punto.

El rango más alto de la curva puede incrementarse añadiendo más puntos. Por ejemplo, la concentración del calibrador 1 puede incrementarse 1.5 y 2 veces añadiendo 6 µl y 8 µl de SQ-Rubella IgG Calibrator 1 a 200 µl de SQ-Diluent y transferir 100 µl de cada dilución a cada pocillo. Los valores de índice o IU/ml asignados a estos puntos, deberían ser 1.5 y 2 veces respectivamente el valor mostrado en la etiqueta del vial del calibrador correspondiente. El máximo rango alcanzable por la curva de calibración está limitado por el calibrador utilizado.

Control de calidad

- Los calibradores y controles, SQ-Rubella IgG High Positive Control, SQ-Rubella IgG Low Positive Control y SQ-Rubella IgG Negative Control deben incluirse en cada prueba.
- El valor de absorbancia del SQ-Rubella IgG Calibrator 1 debe ser como mínimo 0.6 cuando se lee frente al blanco.
- El valor de absorbancia del blanco de reactivo debe ser menor de 0.35.
- El SQ-Rubella IgG Negative Control debe presentar un valor inferior a 9 IU/ml y un índice menor de 0.9. Este control se utilizará para validar análisis con valores inferiores al *cut off* del método.
- Los controles positivos, SQ-Rubella IgG High Positive Control y SQ-Rubella IgG Low Positive Control deben presentar un valor de índice o IU/ml dentro del rango indicado en los respectivos viales. El SQ-Rubella IgG Low Positive Control se utiliza para validar el análisis en el tramo final del rango dinámico del análisis y el SQ-Rubella IgG High Positive Control se utiliza para validar el rango superior del método.
- Para validar el rango superior cuando se realiza un análisis semi-cuantitativo o cuantitativo, el SQ-Rubella IgG High Positive Control debe ser procesado a concentraciones superiores. Por ejemplo: el SQ-Rubella IgG High Positive Control debe analizarse a 1.5 y 2 veces la concentración, añadiendo 6 µl y 8 µl de SQ-Rubella IgG High Positive Control a 200 µl de SQ-Diluent, y transferir 100 µl de cada una de estas diluciones a cada pocillo. El rango de valor esperado para estos controles concentrados debe ser 1.5 y 2 veces respectivamente, al valor esperado impreso en la etiqueta del vial del SQ-Rubella IgG High Positive Control. Los resultados de los controles deben estar incluidos en los rangos establecidos.
- Los Controles, SQ-Rubella IgG Negative Control, SQ-Rubella IgG High Positive Control y SQ-Rubella IgG Low Positive Control se utilizan para monitorizar fallos substanciales en los reactivos. Los controles positivos no aseguran la precisión en el análisis de *cut off*. Si el usuario lo desea, se puede realizar un control interno de la precisión del ensayo de *cut off*, analizando los valores cuantitativos de replicados de controles adicionales, de concentración conocida y cercana al valor de *cut off*. Se pueden analizar controles adicionales de acuerdo con la directiva y requerimientos de las regulaciones locales, estatales y/o federales u organizaciones acreditadas. Si desea más información sobre las Buenas Prácticas en Control de Calidad, consulte el siguiente documento: *Internal Quality Control Testing: Principles and Definitions, NCCLS documents C24-A*. Si no se cumplen alguno de estos criterios se deberá repetir la prueba.

Interpretación de los Resultados

Valor de Índice	IU/ml	Interpretación
<0.9	< 9	Negativo para anticuerpos IgG anti-Rubéola, presumiblemente no exista inmunidad frente a la infección por el virus de la Rubéola.
≥ 0.9 < 1.0	≥ 9 < 10	Equívoco
≥ 1.0	≥ 10	Positivo para anticuerpos IgG anti-Rubéola, presumiblemente el paciente esté inmunizado frente a la infección por el virus de la Rubéola.

El valor de *cut-off* del equipo de SeraQuest® Rubella IgG se ha establecido a 10 IU/ml basado en la Preparación del Estándar Internacional del Suero de la OMS con anticuerpos anti-Rubéola, 1970, de acuerdo con *NCCLS Guideline for the Detection and Quantitation of Rubella IgG antibody* (5).

Cuando se obtienen valores equívocos, se debe obtener una segunda muestra pasados entre diez y catorce días y valorarla de nuevo en paralelo con la muestra inicial. Si la segunda muestra resulta igualmente equívoca, se considera al paciente negativo frente a una infección primaria o reciente y equívoco en cuanto al estado inmunológico. Si la segunda muestra es positiva, puede considerarse al paciente con una infección primaria. La conversión de un suero de un paciente de negativo a positivo para anticuerpos contra el agente infeccioso en cuestión se define como seroconversión y es indicativo de una infección activa o reciente.

Para determinar una diferencia significativa entre un par de sueros que muestren una infección aguda y convaleciente, ambas muestras deben ser analizadas. Los experimentos llevados a cabo en nuestros laboratorios, muestran que incrementos comprendidos entre 60 y 90 % en valor de índice obtenidos mediante SeraQuest® corresponde a dos veces el incremento en la concentración de anticuerpos anti-Rubéola IgG; e incrementos entre 120 y 180 % en el valor de índice de SeraQuest®, corresponde a un incremento de cuatro veces el nivel de anticuerpos anti-Rubéola IgG.

Muestras que tengan valores de absorbancia por encima del rango de calibradores, pueden ser reportados como que presentan una concentración superior en índice o IU/ml al valor superior de la curva de calibración. Alternativamente, dichos sueros pueden ser prediluidos utilizando el SQ-Diluent incluido en el equipo y reanalizados. El valor del índice resultante debe ser multiplicado por el factor de dilución. Por ejemplo: si la muestra ha sido prediluida 1:5 antes del análisis, el valor del índice obtenido debe ser multiplicado por 5.

El método recomendado para la comunicación de los resultados es el siguiente: los siguientes resultados han sido obtenidos mediante el equipo SeraQuest® Rubella IgG. Valores obtenidos mediante métodos de otros fabricantes pueden no coincidir. El nivel de IgG obtenido puede no correlacionar con la valoración a punto final. Cuando se utiliza el equipo para el análisis cualitativo, la magnitud de los resultados obtenidos en aquellos casos en que la concentración es superior al *cut-off* no son indicativos de la concentración total de anticuerpos presentes.

Limitaciones

Los resultados obtenidos con el equipo SeraQuest® Rubella IgG sirven únicamente como ayuda al diagnóstico y no deberían ser interpretados como diagnóstico por sí mismos.

Un único resultado positivo tan solo indica una exposición inmunológica previa. El nivel de la respuesta de los anticuerpos o el tipo de respuesta de los anticuerpos no debe ser utilizado para diagnosticar una infección activa o el estadio de la enfermedad.

Para detectar una seroconversión, se deben analizar en paralelo un par de muestras correspondiente a la fase aguda y otra a la fase convaleciente, respectivamente, con la finalidad de detectar incrementos significativos de anticuerpos. Una muestra en la fase aguda debe ser recogida al principio de la infección, preferiblemente entre los 7 días posteriores a la manifestación de los síntomas y la muestra del estado convaleciente, una o dos semanas después de la primera muestra, pero no antes de 10 días posteriores a la manifestación de los síntomas (4). El método semicuantitativo tan solo debe ser utilizado cuando

se analicen este par de muestras. Muestras de suero obtenidas durante la fase aguda de la infección pueden conducir a resultados negativos cuando se utilizan métodos serológicos.

El tiempo de obtención de las muestras es crítico. En algunos pacientes, la titulación de anticuerpos puede aumentar a niveles significativos y caer a concentraciones muy bajas e indetectables en un mes. Otros pacientes, no desarrollan niveles de anticuerpos significativos para ser detectados. Resultados derivados de técnicas de cultivo, métodos serológicos y de detección de antígeno deben ir acompañados de veredictos clínicos para el diagnóstico de la enfermedad.

Las características de funcionamiento del equipo de SeraQuest® Rubella IgG no han sido determinadas en muestras distintas del suero.

Si la muestra se obtiene de sangre del cordón umbilical, los resultados positivos deben ser interpretados con precaución. La presencia de anticuerpos IgG anti-Rubéola en sangre del cordón umbilical puede ser resultado de una transferencia pasiva de anticuerpos maternos al feto. No obstante, resultados negativos, descartan la infección.

Las características de funcionamiento del equipo de SeraQuest® Rubella IgG no han sido determinadas en muestras de sangre de neonatos o sangre de cordón umbilical.

Experimentos de calibración (véase Figura 2) muestran que el límite superior de linealidad del equipo de SeraQuest® Rubella IgG es de aproximadamente 40 IU/ml.

Valores esperados

Desde que se inició el programa de vacunación frente a la Rubéola en Estados Unidos, estudios epidemiológicos muestran que entre el 85 y el 90 % de la población adulta presenta anticuerpos IgG contra el virus de la Rubéola (5). 214 muestras de suero obtenidas aleatoriamente de donantes normales de Florida del Sur fueron analizadas en los laboratorios de SeraQuest®, Miami, FL utilizando el equipo de SeraQuest® Rubella IgG. 188 muestras (88 %) dieron positivas para anticuerpos IgG anti-Rubéola, 19 (9%) resultaron negativas y 7 (3 %) fueron equívocas. Las muestras positivas mostraban unos valores de Índice entre 1.0 y 8.7; y valores de IU/ml entre 10 y 86.8. El Índice medio y las IU/ml medias fueron 4.4 y 44, respectivamente. Los resultados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Resultados obtenidos del análisis de 214 muestras (100 % congeladas) procedentes de donantes normales de Florida del Sur y analizadas en SeraQuest® (Lab C, Miami, FL) utilizando el equipo SeraQuest® Rubella IgG. 77 % de las muestras fueron obtenidas de mujeres en edad fértil.

Rango de valores en IU/ml	Rango de Valores en Índice	Muestras	
< 10	< 1	27 {3}	12.6 %
≥ 10 a < 30	≥ 1 to < 3	44 {14}	20.6 %
> 30	> 3	143 {19}	66.8 %

{ } Número de mujeres donantes en edad fértil.

164 mujeres en edad fértil (18 a 45 años) fueron identificadas en nuestros laboratorios y mediante estudios clínicos externos. El rango de edad se situaba entre 18 y 45, con una media de 31 años. De éstas, 126 (76.8 %) resultaron positivas, 9 (5.5 %) resultaron equívocas y 29 (17.7 %) fueron negativas, cuando se analizaron con el equipo SeraQuest® Rubella IgG. Los rangos de valores obtenidos para estas mujeres se muestran en la Tabla 2:

Tabla 2. Resultados de los análisis de 164 muestras procedentes de mujeres en edad fértil (18-45), analizadas en el Laboratorio A (Atlanta, GA), en el Laboratorio B (Miami, FL) y en SeraQuest® (Lab C, Miami, FL) utilizando el equipo de SeraQuest® Rubella IgG.

Rango de valores en IU/ml	Rango de Valores en Índice	Muestras	
< 10	< 1	38	23.1 %
≥ 10 a < 30	≥ 1 a < 3	48	29.3 %
> 30	> 3	78	47.6 %

Características de funcionamiento

Prueba comparativa

Los resultados de SeraQuest® Rubella IgG correlacionan perfectamente con otros equipos serológicos disponibles en el mercado. Se analizaron muestras de sueros de donantes normales para la presencia de anticuerpos IgG anti-Rubéola usando el equipo SeraQuest® Rubella IgG y otros tres equipos disponibles comercialmente en dos laboratorios independientes (Lab A, Atlanta, GA, y Lab B, Miami, FL), y en SeraQuest® (Lab C, Miami, FL). Los resultados obtenidos se muestran en las Tablas 3, 4 y 5, respectivamente.

Tabla 3. Resultados de la prueba comparativa de 201 muestras (89% congeladas y 11% frescas) procedentes del Norte y Sur de Carolina, Alabama, Georgia y Florida. Las muestras fueron analizadas en el Laboratorio A (Atlanta, GA) utilizando el equipo de SeraQuest® Rubella IgG y con otro equipo comercial. 14 % de las muestras analizadas procedían de mujeres en edad fértil.

Estudio comparativo del equipo SeraQuest® Rubella IgG					
Test 3	Positivo	Equívoco	Negativo		%
Positivo	143 {25}	3 {2}	2 {1}	Sensibilidad relativa*	98.6 %
Equívoco	0	0	0		
Negativo	0	0	53	Especificidad relativa	100 %
				Concordancia total*	98.9 %

*Excluyendo los resultados equívocos

{ } Número de mujeres en edad fértil.

Tabla 4. Resultados de la prueba comparativa de 200 muestras (62% congeladas y 38% frescas) analizadas por el Laboratorio B (Miami, FL) mediante el equipo de SeraQuest® Rubella IgG y con otro equipo comercial. 45 % de las muestras analizadas procedían de mujeres en edad fértil.

Estudio comparativo del equipo SeraQuest® Rubella IgG					
Test 2	Positivo	Equívoco	Negativo		%
Positivo	126 {68}	8 {4}	2 {1}	Sensibilidad relativa*	98.4 %
Negativo	0	2 {2}	62 {25}	Especificidad relativa*	100 %
				Concordancia total	98.9 %

*Excluyendo los resultados equívocos

{ } Número de mujeres en edad fértil.

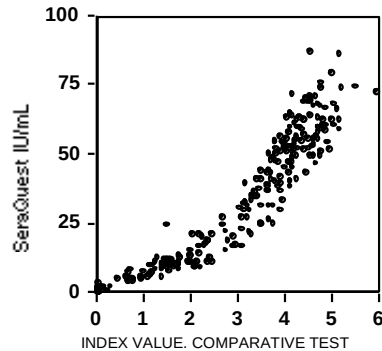
Tabla 5. Resultados del estudio comparativo de 260 muestras (100% congeladas) procedentes de Florida del Sur y analizadas por SeraQuest® (Lab C, Miami, FL) mediante el equipo SeraQuest® Rubella IgG y con otro equipo comercial. 14% de las muestras analizadas procedían de mujeres en edad fértil.

Estudio comparativo del equipo SeraQuest® Rubella IgG					
Test 1	Positivo	Equivoco	Negativo		%
Positivo	204 {33}	4 {1}	11 {2}	Sensibilidad relativa*	95.3 %
Negativo	0	0	41	Especificidad relativa	100 %
				Concordancia total*	95.7 %

*Excluyendo los resultados equivocos
{ } Número de mujeres en edad fértil.

Los datos obtenidos en SeraQuest® y tabulados en la Tabla 5, se muestran en la Figura 1:

Figura 1. Resultados del estudio comparativo de 260 muestras analizadas por SeraQuest® (Lab C, Miami, FL) mediante el equipo SeraQuest® Rubella IgG y otro equipo comercial.



Calibración, procedimiento cuantitativo

Para demostrar la precisión del procedimiento cuantitativo, se han realizado diluciones del Estándar Internacional de la OMS de un suero que contiene anticuerpos anti-Rubéola y se han analizado utilizando la curva de calibración de SeraQuest®. Los resultados obtenidos se reflejan en la Tabla 6.

Tabla 6. Resultados obtenidos cuando tres replicados de una misma dilución de la Preparación del Segundo Estándar Internacional de la OMS de un suero que contiene anticuerpos anti-Rubéola se analizan en paralelo mediante la curva de calibración de SeraQuest® Rubella IgG (SQ-Rubella IgG Calibrator 1, SQ-Rubella IgG Calibrator 2 y el blanco).

Calibrador SeraQuest®	Valor de IU/ml asignado	Absorbancia* a 405 nm
Blanco	0	0.113
SQ-Rubella IgG Calibrator 2	12	0.838
SQ-Rubella IgG Calibrator 1	45	1.705

Dilución Estándar OMS	Valor teórico en IU/ml	Absorbancia a 405 nm	Valor recuperado en IU/ml	Media IU/ml	Desviación estándar	IC 95 %
1:25	40	1.589	40.5	37.9	4.2	30.9 a 44.9
1:25	40	1.392	33.1			
1:25	40	1.577	40.1			
1:50	20	1.083	21.3	20.9	1.5	18.3 a 23.5
1:50	20	1.028	19.2			
1:50	20	1.107	22.2			
1:100	10	0.692	9.5	9.8	0.6	8.7 a 10.9
1:100	10	0.675	9.3			
1:100	10	0.747	10.5			

* Media de los valores de los duplicados

*IC: Intervalo de confianza

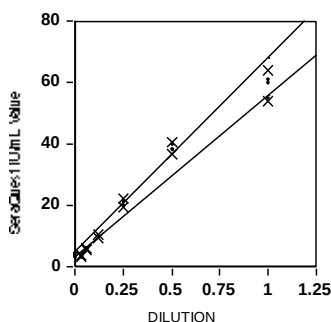
Verificación del cut off

SeraQuest® utiliza el suero humano de referencia CDC Anti-Rubéola de bajo nivel, Estándar Biológico CDC, para verificar el cut off del equipo de SeraQuest® Rubella IgG. Este estándar, el cual contiene una concentración de anticuerpos anti-Rubéola IgG de 21.0 IU/ml se diluye 1:2 con SQ-Diluent incluido en el equipo y se analiza durante el control de calidad de fabricación del correspondiente lote del equipo de SeraQuest® Rubella IgG. El valor esperado para una dilución 1:2 del estándar CDC es entre 10 y 15 IU/ml, concentraciones que concuerdan con el nivel del cut off de referencia de inmunidad de la CDC. Por ejemplo, el lote de SeraQuest® Rubella IgG que se ha utilizado para obtener la mayoría de los datos presentados en el apartado de *Características de Funcionamiento* de estas *Instrucciones de Uso*, dieron un valor de 11.2 IU/ml para una dilución 1:2 del estándar de la CDC durante el control de calidad del equipo.

Curva de titulación

Varias muestras de suero fuertemente positivas fueron diluidas de forma seriada (2 veces) por triplicado y analizadas utilizando el equipo SeraQuest® Rubella IgG. Los resultados se muestran en la Figura 2.

Figura 2. Curva de titulación de muestras fuertemente positivas.



Los datos de los tres replicados para cada dilución se representan mediante puntos, mientras que el valor medio de los replicados para un intervalo de confianza de 95 % se representa por (x). El valor de las pendientes y ordenadas para un intervalo de confianza del 95 % se representan mediante una línea recta. El ajuste obtenido de la regresión lineal de los tres replicados se muestra en la Figura 2.

Especificidad

El equipo SeraQuest® Rubella IgG es específico para anticuerpos IgG anti-Rubéola y no presenta reactividad cruzada frente a anticuerpos anti otros virus o antígenos nucleares. De 55 muestras no reactivas al equipo de SeraQuest® Rubella IgG, 11 contenían niveles de moderados a alto de anticuerpos IgG específicas anti-Citomegalovirus, 14 contra el virus herpes simplex, 33 contra el virus de la varicela zoster, 35 reactivas al virus de Epstein-Barr, 2 contra el virus de la Influenza A, 10 contra el sarampión, 2 contra Parvovirus B-19 y 8 contra antígenos nucleares. Los anticuerpos IgG anti-citomegalovirus, herpes simplex, varicella zoster y Epstein Barr fueron analizados utilizando equipos inmunoenzimáticos comerciales. Los anticuerpos IgG anti-Influenza A, sarampión y parvovirus B-19 fueron detectados por métodos de fijación; los anticuerpos IgG anti-antígenos nucleares fueron detectados por inmunofluorescencia.

Precisión

Las características de precisión total y entre series de análisis del equipo SeraQuest® Rubella IgG fueron evaluadas siguiendo las directrices de la NCCLS Guideline EP5-A, *Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices*. Tres muestras de suero, que cubren todo el rango de trabajo del equipo, y los controles SQ-Rubella IgG Low Positive Control y SQ-Rubella IgG Negative Control, fueron analizados por duplicado, en dos series distintas por día, durante un periodo de veinte días. La precisión total y la entre-serie fue estimada utilizando la fórmula proporcionada por la NCCLS Guideline. Los resultados de la evaluación de la precisión se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7. Resultados de la evaluación de la precisión total y entre-series del equipo SeraQuest® Rubella IgG.

Muestra	Media IU/ml	Precisión estimada entre-serie		Precisión total estimada	
		S.D.	CV%	S.D.	CV%
Muestra 1	14	1.5	0.11	2.8	0.21
Muestra 2	32	3.0	0.09	5.4	0.17
Muestra 3	46	2.0	0.05	6.1	0.13
Control Positivo	13	1.0	0.10	2.1	0.16
Control Negativo	0.5	0.16	---	0.68	---

Referencias

1. Rawls, W.E. and Chernesky, M.A. Rubella Virus, Manual Clinical Immunology, Rose, N.E. and Friedman, H., eds. 452-455, 1976.
2. Millian, S.J. and Wegman, D., Rubella Serology: Applications, Limitations and Interpretations, Amer. J. Pub. Health, 170-176, 1972.
3. Field, P.R., Ho, D.W.T. and Cunningham, A.L., Evaluation of Rubella Immune Status by Three Commercial Enzyme-linked Immunosorbent Assays, J. Clin. Microbiol., 26: 990-994, 1988.
4. Skendzel, L.P. et al, Evaluation and Performance Criteria for Multiple Component Test Products Intended for the Detection and Quantitation of Rubella IgG Antibody, Tentative Guideline, Vol 12 No. 24, NCCLS Document I / LA6-T, 1992.
5. Herrman, K.L. Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial, and Chlamydial Infections: Lenette, E.H., Schmidt, N.J. (eds), AM Public Health Assoc., 757-765, 1983.



Fabricante:
Quest International, Inc.
8127 NW 29th Street
Miami, FL 33122
USA



Distribuidor autorizado:
Diagnostic Grifols, S.A.
Passeig Fluvial, 24
08150 Parets del Vallés
España (Spain)



Nº Lote



96 Determinaciones



Producto para diagnóstico *in vitro*



Fecha de caducidad



Referencia de catálogo



Temperatura de conservación

L-01-100-7
26/07/04

Este documento está disponible en diversos idiomas. Las traducciones se han realizado a partir del documento maestro en inglés. En caso de dudas o discordancias prevalecerá lo expresado en el documento maestro en inglés.