

Determinación de la avidéz de los anticuerpos contra virus del sarampión (IgG)

Instrucciones del ensayo

REFERENCIA	ANTICUERPOS CONTRA	CLASE IG	SUSTRATO	FORMATO
EI 2610-9601-1 G	Virus del sarampión	IgG	Pocillos de microplaca recubiertos de Ag	96 x 01 (96)

Indicaciones: El presente inmunoensayo enzimático (ELISA) sirve para la determinación in vitro semicuantitativa de la avidéz de anticuerpos humanos de la clase de inmunoglobulina IgG contra virus del sarampión en suero o plasma para apoyar el diagnóstico de infecciones por virus del sarampión. El producto está concebido para ser utilizado como **IVD**.

Principios del ensayo: El envase de ensayo contiene tiras de microplaca, cada una con 8 pocillos de reactivo desprendibles, recubiertos con antígenos de virus del sarampión purificados. En el primer paso del análisis, se incuban los pocillos de reactivo con muestras de pacientes diluidas. En el caso de muestras positivas, los anticuerpos de la clase IgG (también IgA e IgM) específicos se ligan a los correspondientes antígenos. En el segundo paso de incubación, los anticuerpos de baja avidéz se vuelven a desprender del antígeno por el tratamiento de urea, mientras que los de alta avidéz permanecen ligados. Para detectar estos anticuerpos, se lleva a cabo una tercera incubación usando un anticuerpo anti-IgG humana marcado con una enzima (conjugado enzimático) que cataliza una reacción coloreada.

Contenido del sistema de ensayo EI 2610-9601-1 G:

Denominación	Color	Formato	Símbolo
1. Equipo de ensayo ELISA Anti-virus del sarampión (IgG) (referencia EI 2610-9601 G)	---		
2. Control positivo HA con anticuerpos de alta avidéz contra virus del sarampión (IgG, humana), listo para usar	rojo	1 x 1,3 ml	POS CONTROL HA
3. Control positivo LA con anticuerpos de baja avidéz contra virus del sarampión (IgG, humana), listo para usar	azul	1 x 1,3 ml	POS CONTROL LA
4. Solución de urea para ELISA Anti-virus del sarampión, lista para usar	amarillo	1 x 12 ml	UREA
5. Tampón fosfato listo para usar	azul claro	1 x 12 ml	PBS BUFFER
6. Instrucciones del ensayo	---	1 folleto	
LOT Designación del lote	  Temperatura de almacenamiento  Sin abrir, utilizable hasta		
IVD Diagnóstico in vitro			

Almacenamiento y duración: Los reactivos deben conservarse a una temperatura de entre +2 °C y +8 °C. No congelar. Sin abrir, todos los componentes del equipo son estables hasta la fecha de caducidad indicada.

Eliminación: Las muestras de pacientes, los controles y las tiras de microplaca incubadas deben manipularse como desechos infecciosos. Todos los reactivos deben desecharse conforme a las normativas legales.

Los cambios a la versión anterior se resaltan en gris.



Preparación y estabilidad de los reactivos

Aviso: Todos los reactivos deben ser llevados a temperatura ambiente (de +18 °C a +25 °C) aproximadamente 30 minutos antes de su uso. Una vez abiertos, los reactivos pueden conservarse hasta la fecha de caducidad indicada, siempre y cuando se almacenen a una temperatura de +2 °C a +8 °C y se protejan contra cualquier contaminación, si no se indica expresamente otra cosa en el siguiente texto.

- **Controles:** Listos para usar. Los controles deben mezclarse bien antes de su uso.
- **Solución de urea:** Listo para usar. La solución de urea contenida en este equipo de ensayo debe utilizarse exclusivamente para la determinación de la afección de anticuerpos contra virus del sarampión.
- **Tampón fosfato:** Listo para usar.

Advertencia: No se han detectado HBsAg ni anticuerpos contra VHC, VIH-1 y VIH-2 en los controles de origen humano. Sin embargo, todos los componentes del ensayo deberán ser tratados como potencialmente infecciosos y en consecuencia manipulados con cuidado. Algunos de los reactivos contienen además azida de sodio en una concentración no sujeta a declaración. Evite el contacto con la piel.

Fundamentos

La afección constituye una medida de la intensidad con la que una mezcla de anticuerpos IgG policlonales se liga a epítopos antígenos que se encuentran en una proteína o mezcla de proteínas. La afección de los IgG específicos de virus del sarampión madura gradualmente a lo largo del primer mes tras la infección primaria. Por consiguiente, la afección de IgG contra virus del sarampión es reducida en infecciones por virus del sarampión primarias agudas ocurridas hace poco, mientras que la presencia de anticuerpos IgG específicos de virus del sarampión con una afección alta indica infecciones ocurridas hace tiempo o recurrentes.

Preparación y estabilidad de las muestras

Muestras: Suero humano así como plasma con EDTA, heparina o citrato.

Estabilidad: Por regla general, las **muestras de pacientes** para analizar pueden conservarse hasta 14 días a una temperatura de entre +2 °C y +8 °C. Las muestras diluidas se deben incubar el mismo día que se preparan.

Dilución de muestras: Las **muestras de pacientes** para analizar se diluyen con tampón de muestra en la proporción **1:101**.

Ejemplo: Añada 10 µl de muestra a 1,0 ml de tampón de muestra y mezcle bien con un vórtex. No es conveniente mezclar con la pipeta de muestreo.

AVISO: Los controles están listos para usar, no se deben diluir.



Incubación

Incubación de muestras: (1^{er} paso)

Conforme al esquema de pipeteado, agregar como valor doble a cada pocillo de reactivo de dos tiras de microplaca distintas 100 µl de los controles o de las muestras de pacientes diluidas.
Incubar durante **30 minutos** a temperatura ambiente (+18 °C a +25 °C).

Lavado:

Manual: Vaciar los pocillos de reactivo y, a continuación, lavarlos **1 vez**, utilizando cada vez 300 µl de tampón de lavado diluido listo para usar.

Automático: Lavar **1 vez** cada pocillo de reactivo utilizando cada vez 450 µl de tampón de lavado diluido listo para usar (ajuste del programa: p. ej., TECAN Columbus Washer «Overflow Mode»).

Dejar actuar el tampón de lavado en cada pocillo de reactivo entre 30 y 60 segundos por cada ciclo de lavado y, a continuación, aspirar o vaciar. Tras el proceso de lavado, tanto en la ejecución manual como en la automática, sacudir enérgicamente la microplaca con las aberturas hacia abajo sobre papel absorbente para eliminar por completo los restos de tampón de lavado.

Las posiciones libres dentro de la tira de microplaca deben ocuparse con pocillos vacíos con el mismo formato de placa que el del parámetro a analizar.

Incubación con urea: (2^{er} paso)

Añadir 200 µl de solución de urea en cada pocillo de reactivo de la 1^a microplaca así como 200 µl de tampón fosfato en cada pocillo de reactivo de la 2^a microplaca.

Incubar durante **10 minutos** a temperatura ambiente (+18 °C a +25 °C).

Lavado:

Vaciar los pocillos. Lavar de la manera anteriormente descrita, pero **3 veces**, con tampón de lavado diluido listo para usar. Dejar actuar durante un mínimo de 30 a 60 segundos por cada ciclo de lavado.

Atención: Los restos de líquido (>10 µl) que permanezcan en los pocillos de reactivo tras el proceso de lavado pueden influir en la conversión del sustrato y dar lugar a valores de extinción falsamente bajos.

Un lavado insuficiente (p. ej. menos de 3 ciclos de lavado, volumen insuficiente de tampón de lavado o tiempos de acción demasiado cortos) puede dar lugar a valores de extinción falsamente elevados.

Incubación del conjugado: (3^{er} paso)

Añadir 100 µl de solución de conjugado enzimático (IgG antihumana marcada con peroxidasa) en cada pocillo de reactivo.

Incubar durante **30 minutos** a temperatura ambiente (+18 °C a +25 °C).

Lavado:

Vaciar los pocillos. Lavar de la manera anteriormente descrita, pero **3 veces**, con tampón de lavado diluido listo para usar.

Incubación del sustrato: (4^{er} paso)

Añadir 100 µl de la solución de cromógeno/sustrato en cada pocillo de reactivo.

Incubar durante **15 minutos** a temperatura ambiente (entre +18 °C y +25 °C; proteger de la exposición directa a la luz solar).

Parada:

Añadir 100 µl de la solución de parada en cada pocillo, en el mismo orden y a la misma velocidad con los que se agregó previamente la solución de cromógeno/sustrato.

Medición:

La **medición fotométrica** de la intensidad del color debe realizarse **dentro de los 30 primeros minutos después de añadir la solución de parada**, a una **longitud de onda de medición de 450 nm** y una longitud de onda de referencia de entre 620 nm y 650 nm. Antes de realizar la medición, agitar ligeramente la microplaca para asegurar la distribución homogénea de la solución colorante.



Protocolo de pipeteo

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	pos HA	pos HA	P 7	P 7	P 15	P 15						
B	pos LA	pos LA	P 8	P 8	P 16	P 16						
C	P 1	P 1	P 9	P 9	P 17	P 17						
D	P 2	P 2	P 10	P 10	P 18	P 18						
E	P 3	P 3	P 11	P 11								
F	P 4	P 4	P 12	P 12								
G	P 5	P 5	P 13	P 13								
H	P 6	P 6	P 14	P 14								

El esquema de pipeteo especificado es un ejemplo de análisis de 18 muestras de pacientes (P 1 a P 18).

Los controles (pos. HA y pos. LA) y las muestras de los pacientes se utilizan en una determinación duplicada en distintas tiras de microplaca. Los pocillos de reactivo de las tiras de microplaca 1, 3, 5, etc. se tratan con solución de urea tras la incubación de las muestras, mientras que los de las tiras de microplaca 2, 4, 6, etc. se tratan con PBS.

Los pocillos pueden ser desprendidos individualmente de cada tira de microplaca: Esto permite cuadrar el número de sustratos usados para el ensayo con el número de muestras a examinar, y evitar así el desperdicio de reactivos.

Los dos controles positivos con anticuerpos de alta avidéz y anticuerpos de baja avidéz sirven como controles internos para establecer la fiabilidad del proceso de ensayo.

Interpretación de los resultados

Atención:

Sólo se pueden obtener resultados fiables en el cálculo de la avidéz de los anticuerpos IgG si la muestra del paciente contiene una concentración de anticuerpos específicos significativa desde el punto de vista diagnóstico.

Generalmente, la determinación del índice de avidéz relativo no es útil en muestras que tienen una D.O. inferior a $<0,140$ después de la incubación sin tratamiento con urea.

En algunos pacientes con infecciones agudas pueden encontrarse ya títulos muy elevados de anticuerpos específicos de la clase IgG. Pese a que las poblaciones de anticuerpos IgG específicas pueden ser tanto de alta avidéz como de baja avidéz debido a los diferentes grados de maduración, los epítomos antigénicos vacantes son ocupados predominantemente por anticuerpos de alta avidéz en muestras de título alto. En este caso, la determinación de la avidéz de la totalidad de la población de anticuerpos IgG específicos puede arrojar valores IAR falsamente elevados.

Se han encontrado valores IAR falsamente elevados en algunos casos de infecciones agudas, cuando los valores de extinción de la medición de IgG sin tratamiento con urea fueron superiores a $>1,200$.

Para muestras con valores de extinción superiores a $>1,200$, se recomienda repetir la determinación de la avidéz a una dilución mayor de la muestra (p.ej., 1:401). Si se determina una baja avidéz de los anticuerpos IgG ya con valores de extinción superiores a $>1,200$, no es necesario hacer más pruebas.

**Instrucciones para el cálculo del índice de avidéz relativo (IAR):**

La presencia de anticuerpos de baja avidéz en una muestra de paciente queda demostrada si la extinción medida en el ELISA se reduce considerablemente tras el tratamiento con urea. Para una interpretación objetiva, a partir de los valores medidos con y sin tratamiento con urea se calcula el índice de avidéz relativa (IAR) se calcula y expresa en porcentaje.

$$\frac{\text{Extinción de la muestra con tratamiento de urea} \times 100}{\text{Extinción de la muestra sin tratamiento con urea}} = \text{Índice de avidéz relativa (IAR) en \%}$$

El límite superior del rango de anticuerpos de baja avidéz (**punto de corte**) recomendado por EUROIMMUN es del 40% IAR. Los valores inferiores al punto de corte especificado son indicativos de anticuerpos de baja avidéz, los valores entre 40% y 60% IAR se consideran como resultado dudoso y valores por encima del 60% como indicativo de anticuerpos de alta avidéz. Si el resultado se clasifica como dudoso, se recomienda realizar una nueva toma de muestras al cabo de como mínimo una semana y repetir el ensayo junto con la primera muestra.

IAR <40%:	indicativo de anticuerpos de baja avidéz
IAR 40% - 60%:	rango dudoso
IAR >60%:	indicativo de anticuerpos de alta avidéz

Para el diagnóstico debe tenerse siempre en cuenta, además del resultado serológico, el cuadro clínico del paciente.

Características del ensayo

Interferencias: Las muestras hemolíticas, lipémicas e ictericas no revelaron interferencias en este ensayo EUROLINE hasta una concentración de 10 mg/ml de hemoglobina, 20 mg/ml de triglicéridos y de 0,4 mg/ml de bilirrubina.

En total se analizaron 104 sueros de pacientes con los siguientes cuadros clínicos:

10 pacientes con infección por sarampión aguda registrada clínica y serológicamente

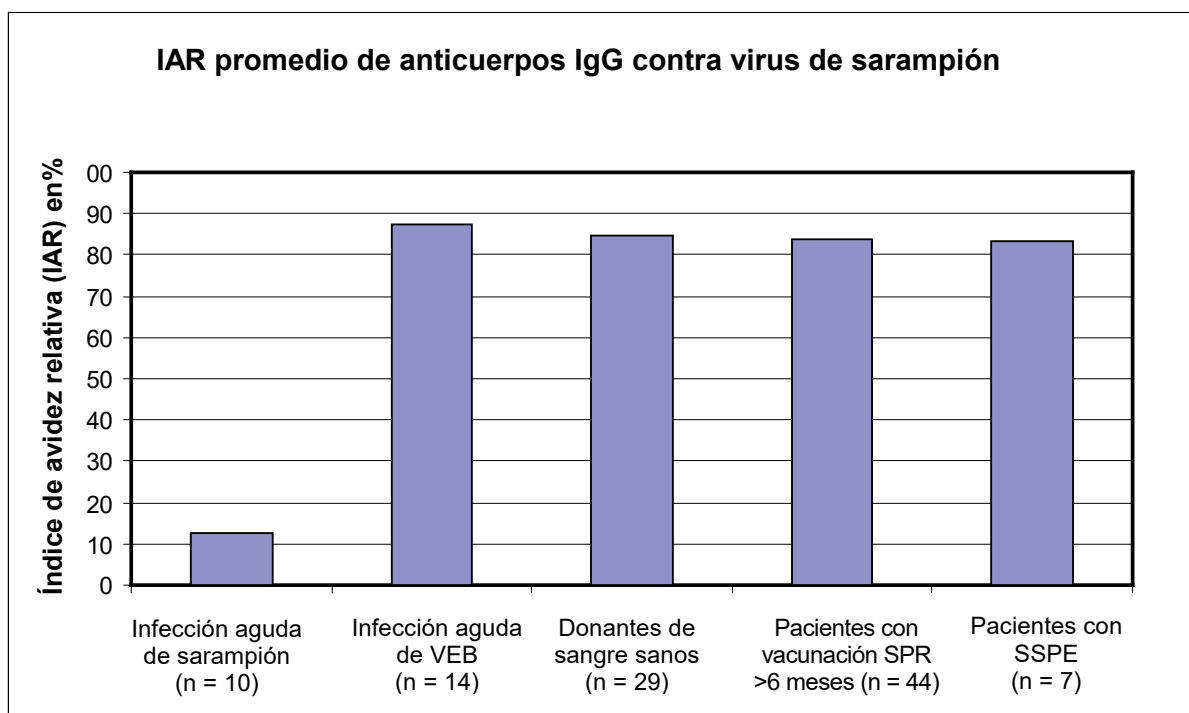
14 pacientes con una infección por VEB aguda y la consiguiente estimulación policlonal

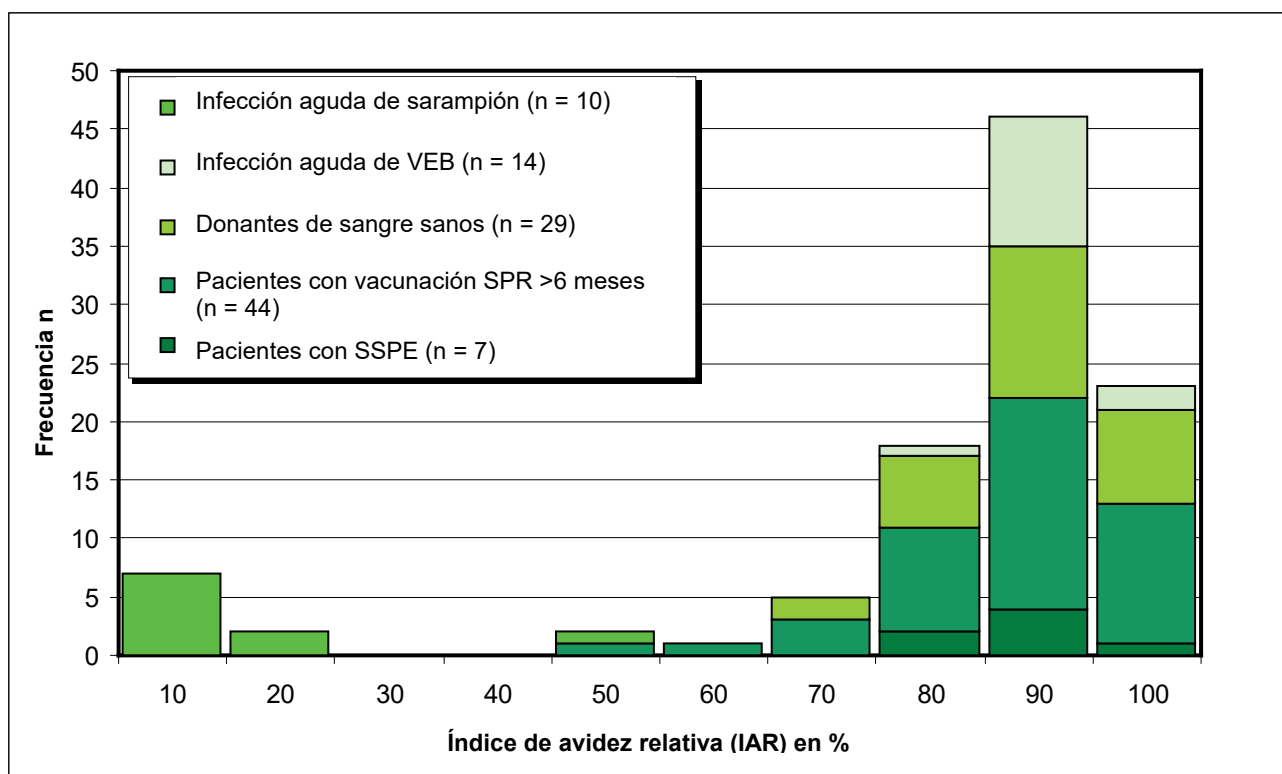
29 donantes de sangre sanos

44 pacientes con vacunación SPR más de 6 meses atrás

7 pacientes con SSPE tras la infección por sarampión

En estos grupos, los pacientes con infecciones agudas presentaron un IAR medio del 13%, mientras que todos los demás pacientes que no sufrían sarampión en forma aguda, un IAR >80%.





Significación clínica

El **virus del sarampión (VS)** es uno de los morbilivirus que más sencillo resulta identificar. Este grupo de virus pertenece a la familia de los Paramyxoviridae [1]. Los virus del sarampión no disponen de ningún reservorio animal. Provocan una enfermedad aguda y febril que se presenta principalmente en la infancia y es muy contagiosa [2, 3]. La cifra de casos mortales relacionados con el sarampión a nivel mundial ascendía en 1999 a 873.000 al año [1, 4, 5]. Hoy en día, esta enfermedad es menos frecuente gracias a las vacunaciones preventivas que se han realizado, especialmente en Europa occidental [6, 7]. Sin embargo, en algunos países todavía se registran epidemias de sarampión [2, 3, 4, 5, 6, 8, 9]. Las personas infectadas muestran un amplio abanico de síntomas clínicos; el cuadro de la enfermedad abarca desde una infección característica, leve y autolimitada hasta un curso que puede resultar mortal [1, 2, 8, 10].

Las infecciones por sarampión tienen un periodo de incubación de aproximadamente 10 días y se caracterizan por síntomas similares a la gripe como fiebre, malestar, catarro en las vías aéreas superiores, tos, congestión y conjuntivitis. Al poco tiempo de desarrolla la erupción cutánea, un exantema típico del sarampión, inicialmente en las orejas y posteriormente en la frente, en la cara y en el resto del cuerpo [1, 5, 8, 11].

Entre las complicaciones relacionadas con la infección por sarampión que pueden aparecer se incluyen neumonías bacterianas secundarias, otitis media (aprox. 1%), encefalitis (aprox. 1%), miocarditis, abortos y la denominada panencefalitis esclerosante subaguda (PEES) [5, 12, 13]. Entre los factores de la otosclerosis se incluyen las infecciones persistentes por sarampión de la cápsula ótica [9, 14]. Los anticuerpos contra el sarampión de la clase IgG presentan una especificidad y sensibilidad elevadas para el diagnóstico serológico de la pérdida de la audición otosclerótica. [15]. La PEES es una enfermedad progresiva, y por lo general de evolución mortal, del cerebro que se contrae a partir de las infecciones por sarampión. Aparece aproximadamente a los 7 a 10 años tras la infección y conduce a la muerte en un plazo de 3 años tras el inicio de la enfermedad. Los pacientes sufren trastornos de conducta, pérdida cognitiva, trastornos de la vista y finalmente síntomas neurológicos avanzados como, por ejemplo, fuertes convulsiones hasta un grave deterioro físico y psíquico, que finalmente conduce a la muerte [13]. La enfermedad se presenta con mayor frecuencia en los hombres.

Los datos anteriores muestran que la cifra de PEES producidas por sarampión se ha menospreciado [12]. Los datos actuales oscilan entre 6,5 y 11 casos de PEES por cada 100.000 enfermos de sarampión. Esta cifra es entre 7 y 13 veces más alta que las estimaciones anteriores [1, 9, 12].



Se han realizado estudios sobre mujeres con una infección aguda por sarampión durante el embarazo sin anticuerpos específicos para el sarampión, p. ej. en Japón, la India, Tailandia, Kenia y Brasil: 3 de cada 4 embarazos terminaron con un parto prematuro, un aborto espontáneo o el alumbramiento del recién nacido fallecido; 2 de cada 4 recién nacidos presentaron una infección congénita por sarampión y presentaron anticuerpos IgM [5].

Los anticuerpos contra los virus del sarampión pueden detectarse en el suero de la práctica totalidad de los pacientes durante y una vez cursada la enfermedad. Los anticuerpos IgM se desarrollan al poco tiempo de la aparición de los primeros síntomas y se pueden detectar mediante ELISA y el ensayo de inmunofluorescencia indirecta (IIFT) [16, 20, 21, 22]. En el 50% de los pacientes los anticuerpos IgM se pueden detectar a los tres días del comienzo de la enfermedad, y en el 90% de los pacientes en un plazo de 10 días tras la aparición de la erupción cutánea [15, 17]. El ELISA Anti virus del sarampión IgM presenta una sensibilidad elevada y permite un diagnóstico serológico de la infección por sarampión más rápido que otros ensayos [15, 18, 19]. Las infecciones por sarampión provocan con frecuencia un aumento del número de anticuerpos heterólogos. La tasa de detección de anticuerpos calculada estadísticamente es considerablemente más elevada al utilizar ELISA y el IIFT que con pruebas de neutralización [16, 20]. Los anticuerpos IgM e IgG contra virus del sarampión son marcadores fiables si se sospecha que existe una infección por sarampión.

El diagnóstico de una mielitis o encefalitis provocada por el sarampión se realiza mediante la detección de los anticuerpos contra el sarampión en el líquido cefalorraquídeo [23, 24, 25, 26]. Estos anticuerpos específicos se sintetizan en el cerebro [24]. Gracias al cociente de suero/líquido cefalorraquídeo (LSQ) se puede diferenciar en el líquido cefalorraquídeo entre una fracción de anticuerpos sintetizada en el suero y una patológica, sintetizada intratecalmente, teniendo en cuenta las modificaciones individuales de la barrera hematoencefálica [24, 25, 26, 27]. Por este motivo es necesario analizar los anticuerpos contra el sarampión tanto en el líquido cefalorraquídeo como en el suero con el ELISA. Durante una mielitis o encefalitis derivada del sarampión se produce una síntesis de anticuerpos contra el sarampión en el líquido cefalorraquídeo. Dado que los anticuerpos específicos pueden llegar al líquido cefalorraquídeo desde el suero atravesando la barrera hematoencefálica mediante el proceso de difusión, es necesario determinar el cociente relativo de líquido cefalorraquídeo/suero (LSQ_{rel.}, sinónimo: índice de especificidad de anticuerpos) [24, 25, 26]. El LSQ_{rel.} se calcula como proporción de anticuerpos IgG del sarampión específicos de la IgG total del líquido cefalorraquídeo con respecto a la proporción de anticuerpos IgG específicos en la IgG total del suero. En la conversión se pone el cociente de líquido cefalorraquídeo-suero de las concentraciones de anticuerpos IgG específicas del patógeno LSQ_{esp. pat.} (IgG) en relación con el cociente de líquido cefalorraquídeo-suero de las concentraciones de IgG total LSQ_{tot.} (IgG) [27]. Por consiguiente, un valor LSQ relativo superior a 1,5 indica que en el SNC se producen anticuerpos específicos y por tanto existe una afectación del SNC [25, 26].

En especial, debido a las complicaciones típicas del sarampión, en Alemania la Comisión permanente sobre vacunas recomienda la vacunación en el Instituto Robert Koch (STIKO), un instituto federal dentro del ámbito de competencias del Ministerio alemán de Salud, de los niños pequeños, es decir, los primeros con edades comprendidas entre los 11 y 14 meses y los segundos con edades comprendidas entre 15 y 23 meses [2, 4, 10, 11]. La vacunación permite una actividad de neutralización y la persistencia de los anticuerpos [6, 15].

Por lo general, se desarrolla una inmunidad de por vida. Sin embargo, los títulos de anticuerpos en suero tras la vacunación también son entre 8 y 10 veces más bajos que en los sueros de pacientes convalecientes [6, 19, 28]. En personas seronegativas inmunosuprimidas, tales como pacientes con tumores y receptores de trasplantes, así como tras la exposición de embarazadas seronegativas, está indicada una inmunización pasiva con concentrados de inmunoglobulina específicos.

La oficina regional de Europa de la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha establecido como objetivo erradicar por completo el sarampión en los próximos años en Europa mediante unas campañas de vacunación que abarquen por completo este territorio [4, 9, 10]. Cabe esperar una disminución de la cifra de enfermedades manifiestas y, en especial, una evolución más grave de la enfermedad. Para el diagnóstico de las enfermedades residuales y para las infecciones por sarampión importadas de fuera de Europa, así como para la explicación de las evoluciones atípicas de la enfermedad en pacientes parcialmente inmunizados, la detección de anticuerpos en el suero y el líquido cefalorraquídeo adquirirá una mayor importancia [3, 5, 8, 9].

**Literatura**

1. Rima BK, Duprex WP. **Morbilliviruses and human disease.** J Pathol 208 (2006) 199-214.
2. Hogg GG, Darlington RJ, Hogg KG, Lester R. **Measles immunity and immunisation status in Australian children 1 to 4 years of age.** J Paediatr Child Health 42 (2006) 165-169.
3. Karimi A, Arjomandi A, Alborzi A, Rasouli M, Kadivar MR, Obood B, Pourabbas B. **Prevalence of measles antibody in children of different ages in Shiraz, Islamic Republic of Iran.** East Mediterr Health J 10 (2004) 468-473.
4. Cutts FT, Steinglass R. **Should measles be eradicated.** Br Med J 316 (1998) 765-767.
5. de Barros EN, Silva EM. **Epidemiologic surveillance of measles and rubella in Campinas (SP), Brazil: the reliability of the data.** [Artículo en portugués] Rev Panam Salud Publica 19 (2006) 172-178.
6. Gay N, Ramsay M, Cohen B, Hesketh L, Morgan-Capner P, Brown D, Miller E. **The epidemiology of measles in England and Wales since the 1994 vaccination campaign.** Commun Dis Rep CDR Rev 7 (1997) 17-21.
7. de Melker H, Pebody RG, Edmunds WJ, Levy-Bruhl D, Valle M, Rota MC, Salmaso S, van den Hof S, Berbers G, Saliou P, Spaendonck MCV, Crovari P, Davidkin I, Gabutti G, Hesketh L, Morgan-Capner P, Plesner AM, Raux M, Tische A, Miller E. **The seroepidemiology of measles in Western Europe.** Epidemiol Infect 126 (2001) 249-259.
8. Ceylan A, Ertem M, Korukluoglu G, Acemoglu H, Kara IH, Erten PG, Arslan C, Ay ME. **An epidemic caused by measles virus type D6 in Turkey.** Turk J Pediatr 47(2005) 309-315.
9. Ota MO, Moss WJ, Griffin DE. **Emerging diseases: measles.** J Neurovirol 11 (2005) 447-454.
10. Shann F. **A little bit of measles does you good.** Br Med J 219 (1999) 4-5.
11. CDC **Measles outbreaks still occur among school-age children and travelers.** MMWR 46 (1997) 242-245.
12. Smith TC. **Measles vaccine doesn't cause SSPE.** Aetiology (2006).
13. Yokoyama T, Sakurai M, Aota Y, Wakabayashi Y, Ohyashiki K. **An adult case of acute disseminated encephalomyelitis accompanied with measles infection.** Intern Med 44 (2005) 1204-1205.
14. Singh MP, Ratho RK, Panda N, Mishra B. **Otosclerosis – do we have a viral aetiology?** Nepal Med Coll J 7 (2005) 129-130.
15. Tische A, Gerike E, Strauss J, Smelhausova M, Mrazova M. **Immunoglobulin specific and conventional methods in the serodiagnosis of measles.** [Article in German] Z Gesamte Hyg 35 (1989) 367-369.
16. Roodbari F, Roustai MH, Mostafaie A, Soleimanjdahi H, Foroshani RS, Sabahi F. **Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for immunoglobulin M antibodies against measles virus.** Clin Diagn Lab Immunol 10 (2003) 439-442.
17. Rossier E, Miller H, McCulloch B, Sullivan L, Ward K. **Comparison of immunofluorescence and enzyme immunoassay for detection of measles-specific immunoglobulin M antibody.** J Clin Microbiol 29 (1991) 1069-1071.
18. Pedersen IR, Antonsdottir A, Evald T, Mordhorst CH. **Detection of measles IgM antibodies by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).** Acta Pathol Microbiol Immunol Scand [B] 90 (1982) 153-160.
19. Glikmann G, Petersen I, Mordhorst CH. **Prevalence of IgG-antibodies to mumps and measles virus in non-vaccinated children.** Dan Med Bull 35 (1988) 185-187.



20. Bouche FB, Brons NH, Houard S, Schneider F, Muller CP. **Evaluation of hemagglutinin protein-specific immunoglobulin M for diagnosis of measles by an enzyme-linked immunosorbent assay based on recombinant protein produced in a high-efficiency mammalian expression system.** J Clin Microbiol 36 (1998) 3509-3513.
21. EUROIMMUN AG. Stöcker W, Fauer H, Krause C, Barth E, Martinez A. **Verfahren zur Optimierung der automatischen Fluoreszenzerkennung in der Immundiagnostik (Procedimiento para optimizar la detección por fluorescencia en el inmunodiagnóstico).** Solicitud de patente alemana (memoria de presentación) DE 10 2006 027 516.0 y WO2007140952 (2006).
22. EUROIMMUN AG. **Aktuelle Themen der Autoimmundiagnostik und der Infektions-Serologie (Temas actuales del inmunodiagnóstico y la serología de infecciones).** Seminario de formación científica con ponencias de los Prof. Dr. G. Wick, Prof. Dr. N. Sepp, Prof. Dr. F. Deisenhammer, Dr. med. W. Stöcker, Prof. Dr. Gerold Stanek, Prof. DDr. R. Würzner, A. Krapf, Dr. med. Dipl. oec. med. J. Brunner, Innsbruck (2007).
23. Dennin RH, Herb E. **Immunological diagnosis in viral infections of the central nervous system: course of antibody titres against homo- and heterologous viruses.** Med Microbiol Immunol 178 (1989) 255-268.
24. Reiber HO, Lange P. **Quantification of Virus-Specific Antibodies in Cerebrospinal Fluid and Serum: Sensitive and Specific Detection of Antibody Synthesis in Brain.** Clin Chem 37 (1991) 1153-1160.
25. Reiber H, Peter JB. **Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs.** J Neurol Sci 184 (2001) 101-122.
26. Reiber H, Lange P. **Virus-spezifische Antikörper in Liquor und Serum (Anticuerpos específicos de virus en líquido cefalorraquídeo y suero). Analítica ELISA y evaluación mediante índice de anticuerpos y diagrama de cocientes.** Lab Med 15 (1991) 204-207.
27. Reiber H, Ungefehr S, Jacobi C. **The intrathecal, polyspecific and oligoclonal immune response in multiple sclerosis.** Multiple Sclerosis 4 (1998) 111-117.
28. Dine MS, Hutchins SS, Thomas A, Williams I, Bellini WJ, Redd SC. **Persistence of vaccine-induced antibody to measles 26-33 years after vaccination.** J Infect Dis 189 (2004) 123-130.





