

ELISA anti glicoproteína del virus de la rubeola (IgM)

Instrucciones del ensayo

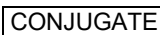
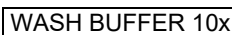
REFERENCIA	ANTICUERPOS CONTRA	CLASE IG	SUSTRATO	FORMATO
EI 2590-9601-2 M	Glicoproteína del virus de la rubeola	IgM	Pocillos de microtitulación recubiertos de antígeno	96 x 01 (96)

Indicaciones: El presente equipo de ensayo ELISA sirve para la determinación in vitro semicuantitativa de anticuerpos humanos de la clase de inmunoglobulina IgM contra glicoproteína del virus de la rubeola en suero o plasma para el diagnóstico de la rubeola.

Importancia: Las infecciones por el virus de la rubeola pueden diagnosticarse mediante la detección de anticuerpos específicos de las clases IgG e IgM. Se evalúa como indicativo de una infección aguda el incremento del título de anticuerpos IgG en un plazo aproximado de 10 días o la detección de anticuerpos de la clase IgM. Un resultado positivo para IgM durante el embarazo requiere el esclarecimiento empleando otros métodos de ensayo (determinación de la avidéz de anticuerpos IgG específicos, inmunoblot IgG, en su caso RCP o cultivo vírico a partir de material de biopsia corial o líquido amniótico, o análisis de la sangre fetal). La utilización del ELISA anti glicoproteína del virus de la rubeola (IgM) permite optimizar el diagnóstico mediante IgM, dado que se minimizan reacciones inespecíficas así como reacciones cruzadas de anticuerpos contra otros agentes infecciosos que aparecen ocasionalmente en el ELISA basado en lisado vírico o en la inmunofluorescencia indirecta.

Principios del ensayo: El equipo de ensayo contiene tiras de microplaca, cada una con 8 pocillos de reactivo separables, recubiertos con glicoproteínas del virus de la rubeola. 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 específicos de la clase IgM (también IgA e IgG) se ligan a los antígenos correspondientes. Para detectar los anticuerpos ligados, se lleva a cabo una segunda incubación usando una IgM antihumana marcada con una enzima (conjugado enzimático) que cataliza una reacción coloreada.

Materiales incluidos en este equipo:

Denominación	Color	Formato	Símbolo
1. Pocillos de reactivo recubiertos de antígeno 12 tiras de microplaca en marco de soporte, cada una con 8 pocillos de reactivo desprendibles, listas para usar	---	12 x 8	
2. Calibrador (IgM, humana), listo para usar	rojo oscuro	1 x 2,0 ml	
3. Control positivo (IgM, humana), listo para usar	azul	1 x 2,0 ml	
4. Control negativo (IgM, humana), listo para usar	verde	1 x 2,0 ml	
5. Conjugado enzimático IgM antihumana (cabra) marcada con peroxidasa, listo para usar	rojo	1 x 12 ml	
6. Tampón de muestra contiene absorbente IgG/FR (anticuerpos de cabra dirigidos contra IgG humana), listo para usar	verde	1 x 100 ml	
7. Tampón de lavado concentrado 10x	incoloro	1 x 100 ml	
8. Solución de cromógeno/sustrato: TMB/H ₂ O ₂ , listo para usar	incoloro	1 x 12 ml	
9. Solución de parada: 0,5 M de ácido sulfúrico, lista para usar	incoloro	1 x 12 ml	
10. Instrucciones del ensayo	---	1 folleto	
11. Certificado de control de calidad	---	1 protocolo	
 Designación del lote			 Temperatura de almacenamiento
 Diagnóstico in vitro			 Sin abrir, utilizable hasta

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.

- **Pocillos de reactivo recubiertos:** Listo para usar. Abra el envoltorio protector resellable de la microplaca por las muescas situadas por encima de la costura de cierre. Para evitar que los preparados se humedezcan, no abra el envoltorio protector hasta que el contenido haya alcanzado la temperatura ambiente. Introduzca de nuevo inmediatamente en el envoltorio protector los pocillos de reactivo no utilizados de una microplaca empezada y ciérrelo herméticamente mediante la costura de cierre integrada (no retirar la bolsa estanca).
Una vez abierto el envoltorio protector, los pocillos de reactivo recubiertos de antígeno pueden conservarse hasta 4 meses si se almacenan en seco a entre +2 °C y +8 °C.
- **Calibrador y controles:** Listo para usar. Los reactivos deben mezclarse bien antes de su uso.
- **Conjugado enzimático:** Listo para usar. El conjugado enzimático debe mezclarse bien antes de su uso.
- **Tampón de muestra:** Listo para usar. El tampón de muestra de color verde contiene el absorbente IgG/FR. Las muestras de suero o plasma diluidas con este tampón de muestra deben utilizarse exclusivamente para la determinación de anticuerpos de la clase de inmunoglobulina IgM.
- **Tampón de lavado:** El tampón de lavado se suministra en una concentración 10x. En caso de que aparezcan cristales de sal en el tampón concentrado, calentar el tampón a +37 °C y mezclarlo bien antes de diluirlo. Extraiga el volumen requerido del frasco con una pipeta limpia y dilúyalo en agua desionizada o destilada (1 parte de reactivo y 9 partes de agua).
Ejemplo: Para una tira de microplaca, 5 ml de concentrado y 45 ml de agua.
El tampón de lavado diluido listo para usar se conserva 4 semanas si se manipula correctamente y se almacena a entre +2 °C y +8 °C.
- **Solución de cromógeno/sustrato:** Listo para usar. Cierre el frasco inmediatamente después de su uso, ya que la solución es sensible a la luz ☀. La solución de cromógeno/sustrato debe ser transparente; no debe utilizarse si presenta una coloración azulada ya antes de su uso.
- **Solución de parada:** Listo para usar.

Almacenamiento y duración: El envase de ensayo debe almacenarse 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 calibradores, los controles y las tiras de microplaca incubadas deben manipularse como desechos infecciosos. Todos los reactivos deben desecharse conforme a las normativas legales.

Advertencia: No se han detectado HBsAg ni anticuerpos contra VHC, VIH-1 y VIH-2 ni en el calibrador ni 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.



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.

Preparación: Antes de la determinación de anticuerpos específicos de la clase IgM, es preciso extraer de las muestras de pacientes los anticuerpos de la clase IgG. De este modo se evita que los factores reumatoides de la clase IgM que pudieran estar presentes reaccionen con la IgG ligada específicamente y conduzcan a falsos resultados positivos para IgM o que la IgG específica expulse la IgM del antígeno (falsos resultados negativos para IgM).

Principio de acción: El tampón de muestra (¡de color verde!) contiene anticuerpos de cabra dirigidos contra IgG humana. Estos anticuerpos se unen de forma altamente específica a la IgG de una muestra de suero y la precipitan. En caso de que la muestra también contenga factores reumáticos, estos son absorbidos por el complejo IgG/IgG antihumana.

Características de separación:

- Todas las subclases de IgG son ligadas y precipitadas por los anticuerpos IgG antihumana.
- La IgG en suero humana en concentraciones de como mínimo 15 mg por ml es eliminada (concentración promedio de IgG en suero de adultos: 12 mg/ml).
- También se retiran los factores reumatoides.
- El índice de recuperación de la fracción de IgM es de casi el 100%.

Realización: Las **muestras de pacientes** a analizar se diluyen con tampón de muestra coloreado en verde 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. Incube la mezcla durante un mínimo de **10 minutos** a temperatura ambiente (entre +18 °C y +25 °C). A continuación se puede agregar a los pocillos de reactivo conforme al esquema de pipeteo.

Notas:

- Esta mezcla no debe utilizarse para la determinación de anticuerpos de la clase IgG.
- Existe la posibilidad de comprobar la eficacia del absorbente IgG/FR para una muestra de paciente individual realizando con la mezcla, en paralelo al ensayo IgM, el ensayo IgG correspondiente; si este resulta negativo, el resultado para IgM es fiable.
- El calibrador y los controles están listos para usar, no se deben diluir.



Incubación

Realización (parcialmente) manual del ensayo

Incubación de muestras:
(1^{er} paso)

Conforme al esquema de pipeteo, agregar a cada pocillo de reactivo 100 µl tanto de calibrador como de los controles positivo y negativo o 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 3 veces, utilizando cada vez 300 µl de tampón de lavado diluido listo para usar.

Automático: Lavar 3 veces 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.

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.

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 del conjugado:
(2^{er} paso)

Añadir 100 µl de conjugado enzimático (IgM 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 según se ha descrito anteriormente.

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

Añadir con la pipeta 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 a una **longitud de onda de medición de 450 nm** y una longitud de onda de referencia de entre 620 nm y 650 nm, **dentro de los 30 primeros minutos después de añadir la solución de parada**. Antes de realizar la medición, agitar ligeramente la microplaca para asegurar la distribución homogénea de la solución colorante.

Realización del ensayo mediante equipos de análisis totalmente automáticos

La dilución de las muestras y la posterior realización del ensayo tienen lugar de forma totalmente automática mediante un equipo de análisis. Las condiciones de incubación programadas en el software autorizado por EUROIMMUN pueden diferir ligeramente respecto de las especificaciones contenidas en las instrucciones del ensayo ELISA, pero han sido validadas en combinación con el EUROIMMUN Analyzer I o el Analyzer I-2P y el presente EUROIMMUN ELISA. Puede solicitarse una documentación de validación.

Es posible la automatización en otros equipos de análisis abiertos totalmente automáticos, si bien la combinación debe estar validada por el usuario.



Esquema de pipeteo

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	C	P 6	P 14	P 22								
B	pos.	P 7	P 15	P 23								
C	neg.	P 8	P 16	P 24								
D	P 1	P 9	P 17									
E	P 2	P 10	P 18									
F	P 3	P 11	P 19									
G	P 4	P 12	P 20									
H	P 5	P 13	P 21									

El esquema de pipeteado especificado es un ejemplo de **análisis semicuantitativo** de 24 muestras de pacientes (P 1 a P 24).

El calibrador (C), los controles positivo (pos.) y negativo (neg.) y las muestras de los pacientes han sido incubados cada uno en un pocillo. La fiabilidad del ensayo puede incrementarse mediante la determinación por duplicado de cada muestra.

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 controles positivo y negativo sirven como comprobación interna de la fiabilidad del desarrollo del ensayo. Deberían utilizarse en cada ensayo.

Interpretación de los resultados

La extinción del calibrador se corresponde con el límite superior del rango de referencia para personas no infectadas (**punto de corte**) recomendado por EUROIMMUN. Los valores de extinción de muestras de pacientes que se sitúen por encima del valor de extinción del calibrador se consideran positivos, y los valores de extinción situados por debajo como negativos.

Semicuantitativo: Los resultados pueden ser evaluados semicuantitativamente mediante el cálculo de una proporción (ratio) entre los valores de extinción de los controles o las muestras de pacientes y el valor de extinción del calibrador. Para calcular la ratio se aplica la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Extinción del control o la muestra del paciente}}{\text{Extinción del calibrador}} = \text{Ratio}$$

EUROIMMUN recomienda interpretar los resultados de la siguiente manera:

Ratio <0,8:	negativo
Ratio ≥0,8 a <1,1:	dudoso
Ratio ≥1,1:	Positivo

En caso de determinaciones duplicadas, se deberá usar el promedio para el cálculo de la ratio. Si los resultados de una determinación duplicada difieren considerablemente entre sí, EUROIMMUN recomienda reanalizar la muestra.



Un resultado serológico negativo no descarta una infección. Sobre todo en una fase temprana de la infección, puede que todavía no haya anticuerpos presentes o que todavía no lo estén en una cantidad detectable. Si se obtiene un resultado dudoso, no es posible una evaluación inequívoca. En caso de que exista sospecha clínica y se obtenga un resultado serológico negativo o dudoso, es recomendable el esclarecimiento por medio de otros métodos diagnósticos y/o el análisis serológico de una segunda muestra. Un resultado positivo indica el contacto con un agente patógeno. En la determinación de anticuerpos IgM específicos de agentes patógenos, los estímulos policlonales del sistema inmunitario o las persistencias de anticuerpos constituyen interferencias que pueden limitar el valor diagnóstico de los resultados positivos. Los incrementos significativos del título de IgG (en un factor superior a 2) y/o las seroconversiones en una segunda muestra tomada al cabo de, como mínimo, entre 7 y 10 días, pueden interpretarse como indicio de una infección aguda. A fin de estudiar variaciones del título, la muestra y la segunda muestra deberían incubarse en cavidades adyacentes de la microplaca en la misma serie de ensayo. Para el diagnóstico debe tenerse siempre en cuenta, además del resultado serológico, el cuadro clínico del paciente.

Características del ensayo

Calibración: Dado que no existe un suero de referencia internacional para la detección de los anticuerpos de la clase IgM contra virus de la rubeola, los resultados se indican en forma de ratios que representan una medida relativa de la concentración de los anticuerpos en el suero o plasma. La calibración puede basarse en sueros de referencia internos utilizados para la evaluación del sistema de ensayo.

Para todos los grupos de ensayos realizados, los valores de extinción del calibrador así como las ratios determinadas para los controles positivo y negativo deben estar dentro de las tolerancias establecidas para cada lote. Se incluye un certificado de control de calidad que contiene estos datos. Si los controles no cumplen estos requisitos, los resultados del ensayo pueden ser imprecisos y deberá repetirse el ensayo.

Tanto el comportamiento de enlace de los anticuerpos como la actividad de la enzima usada dependen de la temperatura, y por consiguiente es recomendable utilizar un termostato para los tres pasos de incubación. Cuanto mayor sea la temperatura ambiente durante las incubaciones, mayores serán también los valores de extinción. Estas variaciones también afectan a los tiempos de incubación. Sin embargo, el calibrador está sometido también a las mismas influencias y, por tanto, estas variaciones se compensan al final en el cálculo de los resultados.

Antígeno: Como antígeno se utilizan glicoproteínas nativas de virus de la rubeola altamente purificadas (cepa HPV-77, cultivada en células Vero).

Sensibilidad de detección: El límite de detección inferior se define como el promedio de una muestra libre de analitos más el triple de la desviación estándar, e indica el título más bajo de anticuerpos detectable inequívocamente. El límite de detección inferior del ELISA anti glicoproteína del virus de la rubeola (IgM) se sitúa en la ratio 0,04.

Reactividad cruzada: La calidad del antígeno utilizado garantiza una alta especificidad del ELISA. Se analizaron con el ELISA anti glicoproteína del virus de la rubeola (IgM) sueros de pacientes con infecciones agudas causadas por diversos patógenos.

Anticuerpos contra	n	ELISA anti glicoproteína del virus de la rubeola (IgM) positivo
Toxoplasma	12	0%
CMV	16	12,5%
VVZ	8	0%
Pool VHS	3	0%
Virus de las paperas	5	0%
Virus del sarampión	11	0%
Borrelias	10	0%
VEB-AC	8	0%
Parvovirus B19	20	0%



De las 16 muestras positivas para IgM contra CMV, dos de ellas arrojaron resultado positivo para anticuerpos IgM contra glicoproteína de la rubeola. Presumiblemente, estas reacciones son atribuibles a una estimulación policlonal de células B, ampliamente descrita en la literatura. No se observaron indicios de reactividades cruzadas.

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

Reproducibilidad: Para comprobar la reproducibilidad, se determinaron los coeficientes de variación intraensayo e interensayo utilizando 3 muestras. Los coeficientes de variación intraensayo están basados en 20 determinaciones y los coeficientes de variación entre ensayos en 4 determinaciones realizadas en 6 días distintos.

Variación intraensayo, n = 20		
Muestra	Promedio (Ratio)	CV (%)
1	2,2	5,9
2	2,8	6,8
3	10,2	3,6

Variación interensayo, n = 4 x 6		
Muestra	Promedio (Ratio)	CV (%)
1	2,1	6,7
2	2,7	8,7
3	10,4	5,1

Sensibilidad y especificidad: Se analizaron con el ELISA anti glicoproteína del virus de rubeola (IgM) de EUROIMMUN 280 muestras de pacientes precaracterizadas (INSTAND, NEQAS, Labquality, MQ y RfB). La sensibilidad se situó en el 98,6%, acompañada de una especificidad del 99,5%.

n = 280		INSTAND/NEQAS/Labquality/MQ/RfB		
		positivo	dudoso	negativo
EUROIMMUN ELISA anti glicoproteína del virus de la rubeola (IgM)	positivo	70	0	1
	dudoso	0	0	0
	negativo	1	0	208

Para la evaluación de la especificidad del ELISA anti glicoproteína del virus de la rubeola (IgM) de EUROIMMUN se realizó un estudio con 125 sueros de pacientes seropositivos para factores reumatoides, diversas enfermedades autoinmunes o hepatitis A o B. De las 125 muestras, 124 sueros arrojaron resultados negativos con el ELISA anti glicoproteína del virus de la rubeola (IgM) de EUROIMMUN. Por consiguiente, la especificidad en este colectivo fue del 99%.

Posibles factores de influencia	n	ELISA anti glicoproteína del virus de la rubeola (IgM) de EUROIMMUN positivo
Diversos aAc	67	1,5%
HAMA	4	0%
Factor reumatoide	39	0%
VHA + VHB	15	0%

Rango de referencia: Los niveles de anticuerpos contra glicoproteína del virus de la rubeola se determinaron en un grupo de donantes de sangre sanos (n = 500, procedencia: Alemania) con el ELISA de EUROIMMUN. Con un punto de corte situado en la ratio 1,0, el 1,6% de los donantes de sangre arrojaron resultados positivos para anticuerpos contra glicoproteína del virus de la rubeola (IgM).



Significación clínica

El patógeno de las rubeolas es el virus de la rubeola, extendido por todo el mundo. Es el único representante del género Rubivirus de la familia de los Togaviridae, un virus ARN envuelto monocatenario positivo. El virus de la rubeola fue aislado por primera vez en 1962 por Parkman, Weller y Neva. Existen 2 genotipos, cada uno con sus correspondientes subgenotipos. El genotipo I de la rubeola (RGI) está extendido en el hemisferio occidental, mientras que el genotipo II de la rubeola (RGII) está especialmente presente en Asia.

La infección por rubeola se transmite por inhalación de gotitas. Es contagiosa ya durante el tiempo de incubación de dos a tres semanas. Los síntomas típicos son cefaleas, inflamaciones de los ganglios linfáticos, sobre todo en la zona de la nuca, así como un exantema de rubeola de manchas pequeñas, que suele persistir durante 3 días. Este exantema generalizado de color rojo claro, maculoso y no confluyente, se extiende postauricularmente desde el rostro hasta afectar al tronco y las extremidades. Como complicaciones pueden desarrollarse artritis pasajeras de las articulaciones de los dedos, las manos, los codos y tibiotarsianas que en los adultos, especialmente en mujeres, pueden persistir hasta 3 semanas. Además, en ocasiones se produce miocarditis, neuritis, otitis, bronquitis y, muy raramente, encefalitis rubeólica con buen pronóstico. La mayoría de las infecciones aparecen en el grupo de edad entre los 5 y los 14 años, y deja tras de sí una inmunidad de por vida. En Europa Central se estima una propagación de entre el 80% y el 90% en adultos, mientras que en Oriente Próximo, la Península Arábiga y los Estados Unidos, se sitúa entre el 91% y el 93%. Esto equivale a entre el 10% y el 20% de las mujeres en edad fértil que no son inmunes.

Los virus de la rubeola, los cuales se transmiten por vía diaplacentaria durante los 3 primeros meses de la gestación, provocan el mayor número de malformaciones embrionarias. En aprox. el 80% de los casos se registran embriopatías rubeólicas graves. La principal manifestación es la triada de Gregg (descrita por primera vez en 1941 por el oftalmólogo australiano Gregg) con malformaciones cardíacas, defectos oculares y lesiones auditivas como defecto cardíaco connatal en aprox. el 48%, retinopatía en aprox. el 39%, cataratas/miopía en aprox. el 29%, glaucoma en aprox. el 3% y sordera en aprox. el 67% de los casos. Otras dolencias observadas son el retraso psicomotor (en algunos casos acompañado de microcéfalo) en aprox. el 45%, púrpura neonatal con hepatoesplenomegalia y diabetes mellitus en aprox. el 23%, así como la muerte (incluido el aborto espontáneo) en aprox. el 16% de los casos de la enfermedad. En muchos países, una infección aguda por rubeola se considera una indicación médica para la interrupción del embarazo.

Además de la anamnesis el cuadro clínico, el diagnóstico en laboratorio reviste gran importancia para el diagnóstico de una infección por rubeola, y es imprescindible especialmente por lo que respecta a la determinación serológica del estado inmunitario para embarazadas en relación con una posible embriopatía rubeólica. La diferenciación entre infecciones recientes y preexistentes constituye uno de los mayores desafíos a los que se enfrenta la serología. Los anticuerpos contra las proteínas estructurales del virus de la rubeola, en particular de la clase IgG, son detectables a partir de los 2 a 3 días tras la aparición del exantema. Los anticuerpos contra el virus de rubeola intacto completo no maduran hasta transcurridos entre tres meses y un año. La determinación de la avidéz de los anticuerpos IgG específicos contribuye al diagnóstico de una infección aguda por virus de la rubeola, especialmente en personas negativas para IgM con infecciones recientes o en pacientes con IgM persistente. Generalmente se recomienda el ensayo de avidéz ELISA en virtud de su valor diagnóstico y su fiabilidad demostrados comparativamente elevados.

La detección directa del virus de la rubeola mediante la RCP (Polymerase Chain Reaction, reacción en cadena de la polimerasa), como p. ej., en la sangre fetal, permanece reservada a los laboratorios especializados.

El **EIH** (ensayo IH de inhibición de la hemaglutinación, HAI, hemagglutination inhibition test) se utiliza en Alemania para determinar la inmunidad durante las primeras fases de la gestación. Para el diagnóstico de una posible infección aguda se analizan dos muestras de sangre, una al principio de la enfermedad y otra entre 2 y 3 semanas después, y en caso de infección reciente el título llega a duplicarse o cuadruplicarse. En casos dudosos o negativos se recomienda determinar los anticuerpos de rubeola mediante ELISA. Debe tenerse en cuenta que en el EIH los títulos elevados sin sintomatología clínica se evalúan como inmunidad a la rubeola y los títulos bajos como protección insuficiente contra una infección por rubeola tras un nuevo contacto con el virus. Esta interpretación no es lo suficientemente fiable, dado que cada título en el EIH puede sugerir una infección reciente por rubeola porque este ensayo no permite distinguir entre anticuerpos IgG e IgM y un título EIH elevado podría deberse exclusivamente a los anticuerpos IgM.



Como alternativa pueden utilizarse el ELISA IgG anti virus de rubeola y el IIFT anti virus de rubeola para la evaluación de la inmunidad. Se evalúa como indicativo de una infección aguda el incremento del título de anticuerpos en un plazo aproximado de 10 días o la detección de anticuerpos de la clase IgM. No obstante, debe tenerse en cuenta que la IgM contra la rubeola puede persistir durante meses tras una infección.

Para establecer el periodo de infección, las determinaciones de la avidéz de anticuerpos IgG específicos, en especial los ensayos de avidéz, el **ELISA** anti virus de rubeola (**IgG, determinación de la avidéz**) y el IIFT anti virus de rubeola (**IgG, determinación de la avidéz**), proporcionan resultados fiables. Si se determina un avidéz elevada, puede descartarse una infección durante las últimas 4 a 6 semanas. En el ELISA contra la glicoproteína de rubeola se utilizan como antígenos las glicoproteínas del virus de la rubeola (proteínas estructurales de la rubeola). En caso de muestras positivas, los anticuerpos específicos de la clase IgM (así como IgA e IgG) se unen a los antígenos respectivos, lo cual puede detectarse ya de 2 a 3 días desde el inicio del exantema.

Si se sospecha una encefalitis inducida por virus de rubeola, debería comprobarse la presencia de anticuerpos específicos en el líquido cefalorraquídeo. Para este análisis relevante para el tratamiento se dispone del **ELISA** anti virus de rubeola (**IgG, en el líquido cefalorraquídeo**), especialmente desarrollado para el diagnóstico en el LCR. En caso de encefalitis rubeólica se producen anticuerpos de la clase IgG específicos del patógeno en el líquido cefalorraquídeo. Una medida de esta producción de anticuerpos intratecal específica del patógeno es el cociente relativo de líquido cefalorraquídeo/suero LSQrel. (Sinónimo: índice de especificidad de anticuerpos). Dicho índice se calcula como proporción de anticuerpos específicos del agente causal en la IgG total del líquido cefalorraquídeo con respecto a la proporción de anticuerpos específicos del agente causal en la IgG total del suero.

El **Westernblot** anti virus de rubeola sirve para la detección de anticuerpos IgG contra el virus de la rubeola. Se recomienda su uso para esclarecer resultados de IgM contra rubeola dudosos. Los anticuerpos de conformación IgG contra el antígeno de rubeola E2 aparecen una vez transcurridos 3 meses desde una vacunación o enfermedad. En presencia de la banda E2, es improbable una infección en los últimos tres meses.

En todo el mundo se utilizan diversas estrategias de vacunación para la prevención de las infecciones por rubeola. Debido a la buena tolerancia de la inmunización activa, se intenta proteger a todos los jóvenes antes de la pubertad mediante una vacunación protectora contra la rubeola en dos fases.

Referencias bibliográficas

1. Enders G. **Accidental rubella vaccination at the time of conception and in early pregnancy.** [Article in German] Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz 48 (2005) 685-686.
2. EUROIMMUN AG. Morrin M. **Vorrichtung und Verfahren zur automatischen Fokussierung für die Mikroskopie schwach leuchtender Substrate.** Deutsche und Internationale Patentanmeldung DE 10 2010 035 104.0 (angemeldet 2010) und WO 2012/025220 (angemeldet 2011).
3. EUROIMMUN AG. Sonnenberg K, Steinhagen K, Rohwäder E, Müller-Kunert E, Schlumberger W, Stöcker W. **Low avidity IgG antibodies: A standardized determination for the early diagnosis of fresh rubella and toxoplasma gondii infections.** Poster zur 15. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Immunologie, Hannover 1999. Immunobiol 200 (1999) 711-712.
4. EUROIMMUN AG. Stöcker W, Ehling T. **Vorrichtung und Verfahren zur Untersuchung einer biologischen Probe.** Deutsche Patentanmeldung DE 10 2011 011 795.4 (angemeldet 2011).
5. EUROIMMUN AG. **Testkit für die Labordiagnostik.** Deutsches Gebrauchsmuster DE 20 2012 004 404 (angemeldet 2012).
6. Hofmann J, Liebert UG. **Significance of avidity and immunoblot analysis for rubella IgM-positive serum samples in pregnant women.** J Virol Methods m130 (2005) 66-71.
7. Hyde TB, Kruszon-Moran D, McQuillan GM, Cossen C, Forghani B, Reef SE. **Rubella immunity levels in the United States population: has the threshold of viral elimination been reached?** Clin Infect Dis 43 (2006) 146-150.



8. Jin L, Thomas B. **Application of molecular and serological assays to case based investigations of rubella and congenital rubella syndrome.** J Med Virol 79 (2007) 1017-1024.
9. Nardone A, Tischer A, Andrews N, Backhouse J, Theeten H, Gatcheva N, Zarvou M, Kriz B, Pebody RG, Bartha K, O'Flanagan D, Cohen D, Duks A, Griskevicius A, Mossong J, Barbara C, Pistol A, Slaciková M, Prosenc K, Johansen K, Miller E. **Comparison of rubella seroepidemiology in 17 countries: progress towards international disease control targets.** Bull World Health Organ 86 (2008) 118-125.
10. Stöcker* W, Fauer* H, Krause* C, Barth E, Martinez A. (*EUROIMMUN AG). **Verfahren zur Optimierung der automatischen Fluoreszenzerkennung in der Immundiagnostik.** Deutsche Patentanmeldung (Offenlegungsschrift) DE 10 2006 027 516.0 und WO2007140952 (2006).
11. Wandering* KP, Saschenbrecker* S, Steinhagen* K, Scheper* T, Meyer* W, Bartelt U, Enders G. (*EUROIMMUN AG). **Diagnosis of recent primary rubella virus infections: Significance of glycoprotein-based IgM serology, IgG avidity and immunoblot analysis.** J Virol Methods 174(1-2): 85-93 (2011).
12. Wilson KM, Di Camillo C, Doughty L, Dax EM. **Humoral immune response to primary rubella virus infection.** Clin Vaccine Immunol 13 (2006) 380-386.
13. Zheng DP, Frey TK, Icenogle J, Katow S, Abernathy ES, Song KJ, Xu WB, Yarulin V, Desjatskova RG, Aboudy Y, Enders G, Croxson M. **Global distribution of rubella virus genotypes.** Emerg Infect Dis 10 (2004) 1696-1697.

Responsabilidad

El equipo de ensayo, incluidos los accesorios originales, únicamente debe ser utilizado de acuerdo con su uso previsto. EUROIMMUN no asume ninguna responsabilidad por ningún otro uso (p. ej., falta de cumplimiento de las instrucciones de uso o uso inadecuado) ni por los daños que resulten de ello.

Soporte técnico

En caso de problemas técnicos, puede obtener asistencia a través del sitio web de EUROIMMUN (<https://www.euroimmun.de/en/contact/>).

Información adicional

Información reglamentaria para compradores dentro de la Unión Europea: Tenga en cuenta la obligación de informar sobre cualquier incidente grave que se produzca en relación con este sistema de ensayo a las autoridades competentes y a EUROIMMUN.



