

ELISA Anti-virus rubeola (IgG)

Instrucciones del ensayo

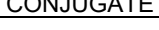
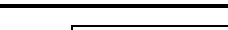
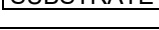
REFERENCIA	ANTICUERPOS CONTRA	CLASE IG	SUSTRATO	FORMATO
EI 2590-9601 G	Virus de la rubeola	IgG	Pocillos de microtitulación recubiertos de antígeno	96 x 01 (96)

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

Importancia: Las infecciones por virus de rubeola pueden diagnosticarse mediante la detección de anticuerpos específicos de las clases IgG e IgM. El incremento del título de anticuerpos IgG en un plazo de aprox. 10 días o la detección de anticuerpos de la clase IgM constituyen un indicio de infección aguda. Un ensayo positivo para IgM durante el embarazo requiere una confirmación mediante otros métodos de ensayo (determinación de la avidéz de anticuerpos IgG específicos, inmunoblot IgG, posiblemente RCP o cultivo vírico a partir de material de biopsia de corion o líquido amniótico, y análisis de sangre fetal). Mediante el uso del ELISA anti glicoproteína de virus de rubeola (IgM) se puede optimizar el diagnóstico, dado que se minimizan las reacciones inespecíficas así como las reacciones cruzadas de anticuerpos contra otros agentes infecciosos que están presentes ocasionalmente en el ELISA basado en lisado vírico o en la inmunofluorescencia indirecta.

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

Materiales incluidos en este equipo:

Componente	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 1 200 UI/ml (IgG, humana), listo para usar	Coloreado en rojo con intensidad decreciente.	1 x 2,0 ml	
3. Calibrador 2 50 UI/ml (IgG, humana), listo para usar		1 x 2,0 ml	
4. Calibrador 3 10 UI/ml (IgG, humana), listo para usar		1 x 2,0 ml	
5. Calibrador 4 1 UI/ml (IgG, humana), listo para usar		1 x 2,0 ml	
6. Control positivo , (IgG, humana), listo para usar	azul	1 x 2,0 ml	
7. Control negativo , (IgG, humana), listo para usar	verde	1 x 2,0 ml	
8. Conjugado enzimático IgG antihumana (conejo) marcada con peroxidasa, listo para usar	verde	1 x 12 ml	
9. Tampón de muestra , listo para usar	azul claro	1 x 100 ml	
10. Tampón de lavado , concentrado 10x	incoloro	1 x 100 ml	
11. Solución cromógeno/sustrato TMB/H ₂ O ₂ , listo para usar	incoloro	1 x 12 ml	
12. Solución de parada 0,5 M de ácido sulfúrico, listo para usar	incoloro	1 x 12 ml	
13. Instrucciones del ensayo	---	1 folleto	
14. Certificado de control de calidad	---	1 protocolo	
 Designación del lote			 Temperatura de almacenamiento Sin abrir, utilizable hasta
 Diagnóstico in vitro			

Los cambios a la versión anterior se resaltan en gris.



Preparación y estabilidad de los reactivos

Nota: 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:** Listos 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.
- **Calibradores y controles:** Listos 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.
- **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:** Lista para usar. Cierre el frasco inmediatamente después de su uso, ya que el contenido 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:** Lista para usar.

Almacenamiento y estabilidad: El equipo 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 de desechos: 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 los controles ni en los calibradores 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 de los pacientes

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

Estabilidad: Por regla general, las **muestras de pacientes** a 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** a 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 muestra.

Nota: Los calibradores y los controles están listos para usar, no se deben diluir.



Incubación

Además de los controles positivo y negativo, así como de las muestras de pacientes, para la realización de un **ensayo semicuantitativo** se utiliza además el **calibrador 3**, y para la realización de un **ensayo cuantitativo** se utilizan además los **calibradores 1-4**.

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. Incube durante **30 min** a temperatura ambiente (+18 °C a +25 °C).

Lavado:

Manual: Vaciar los pocillos de reactivo y a continuación lavarlos 3x con 300 µl de tampón de lavado diluido listo para usar cada vez.

Automático: Lavar 3 veces los pocillos de reactivo usando cada vez 450 µl de tampón de lavado diluido listo para usar (ajuste del programa: p. ej. TECAN Columbus Washer «Overflow Modus»).

Dejar actuar el tapón 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 (IgG antihumana marcada con peroxidasa) en cada pocillo de reactivo. Incube durante **30 min** 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 100 µl de la solución de cromógeno/sustrato en cada pocillo de la microplaca. Incubar durante **15 minutos** a temperatura ambiente (+18 °C a +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 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, Analyzer I-2P o el DSX de la firma Dynex y el presente ELISA de EUROIMMUN. 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 3	P 6	P 14	P 22			C 1	P 3	P 11	P 19		
B	pos.	P 7	P 15	P 23			C 2	P 4	P 12	P 20		
C	neg.	P 8	P 16	P 24			C 3	P 5	P 13	P 21		
D	P 1	P 9	P 17				C 4	P 6	P 14	P 22		
E	P 2	P 10	P 18				pos.	P 7	P 15	P 23		
F	P 3	P 11	P 19				neg.	P 8	P 16	P 24		
G	P 4	P 12	P 20				P 1	P 9	P 17			
H	P 5	P 13	P 21				P 2	P 10	P 18			

El esquema de pipeteo especificado para las tiras de microplaca 1-4 es un ejemplo de **análisis semicuantitativo** de 24 muestras de pacientes (P 1 a P 24).

El esquema de pipeteo especificado para las tiras de microplaca 7-10 es un ejemplo de **análisis cuantitativo** de 24 muestras de pacientes (P 1 a P 24).

Los calibradores (C 1 a C 4), 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 controles internos de la fiabilidad del procedimiento y deben utilizarse en cada ensayo.

Interpretación de los resultados

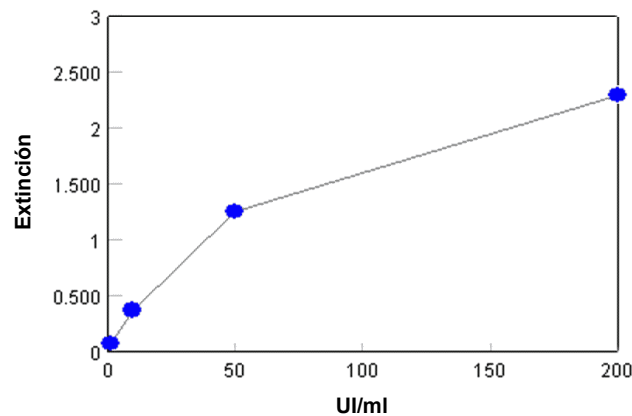
Semicuantitativo: Los resultados pueden ser evaluados semicuantitativamente mediante el cálculo de una proporción (ratio) entre los valores de extinción de los controles o las muestras de pacientes y el valor de extinción del calibrador 3. Para calcular la ratio se aplica la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Extinción del control o la muestra del paciente}}{\text{Extinción del calibrador 3}} = \text{Ratio}$$

EUROIMMUN recomienda interpretar los resultados de la siguiente manera:

Ratio <0,8:	negativa
Ratio ≥0,8 a <1,1:	dudoso
Ratio ≥1,1:	positivo

Cuantitativo: Una vez trazados los valores de extinción medidos para los 4 calibradores contra las concentraciones correspondientes (lineal/lineal), se puede obtener una curva estándar que permite determinar la concentración de anticuerpos en las muestras desconocidas. Para el cálculo por ordenador de la curva estándar, se debería escoger el método de evaluación «punto a punto». La siguiente figura representa un ejemplo típico de una curva estándar. No utilice esta curva para la determinación de la concentración de anticuerpos en las muestras de pacientes.



Si la extinción de una muestra de paciente se sitúa por encima del calibrador 1 (200 UI/ml), el resultado debe indicarse como «>200 UI/ml». En estos casos se recomienda reanalizar esa muestra a una dilución de p. ej. 1:400 en un nuevo ensayo. En este ejemplo, el resultado en UI/ml obtenido a partir de la curva estándar deberá multiplicarse posteriormente por un factor de dilución de 4.

El límite superior del rango de referencia para personas no infectadas (**punto de corte**) recomendado por EUROIMMUN es de **10 unidades internacionales (UI/ml)**. EUROIMMUN recomienda interpretar los resultados de la siguiente manera:

<8 UI/ml:	negativa
≥8 a <11 UI/ml:	dudoso
≥11 UI/ml:	positivo

En caso de determinaciones duplicadas, se deberá usar el promedio para los cálculos. 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 (en un factor superior a 2) y/o las seroconversiones en una segunda muestra tomada al cabo de 7-10 días pueden interpretarse como indicio de una infección aguda. Para analizar variaciones del título, la muestra y la segunda prueba deberían incubarse en el mismo en cavidades adyacentes de la microplaca ELISA durante un mismo ensayo. Para el diagnóstico debe tenerse siempre en cuenta, además del resultado serológico, el cuadro clínico del paciente.



Características del ensayo

Calibración: El ELISA Anti-rubeola ha sido calibrado con la preparación de referencia internacional NIBSC RUBI-1-94 (Anti-Rubella Serum, 1st International Standard, National Institute for Biological Standards and Control, Hertfordshire, Inglaterra).

Para todos los grupos de ensayos realizados, los valores de extinción de los calibradores así como las unidades internacionales y 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, los calibradores están sometidos también a las mismas influencias y, por tanto, estas variaciones se compensan al final en el cálculo de los resultados.

Antígeno: Como fuente de antígenos se utilizan lisados inactivados de células vero que fueron infectadas con virus de la rubeola de la cepa «HPV-77».

Linealidad: La linealidad del ELISA Anti-virus rubeola (IgG) se determinó analizando como mínimo 4 diluciones seriadas de diversas muestras de pacientes. La regresión lineal determinada R^2 es de $> 0,95$ para todos los sueros. El ELISA Anti-virus rubeola (IgG) es lineal por lo menos en el rango de concentración analizado (5 UI/ml a 183 UI/ml).

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-virus rubeola (IgG) se sitúa en 0,3 UI/ml.

Reactividad cruzada: La calidad del antígeno utilizado garantiza una alta especificidad del ELISA. El ELISA Anti-virus rubeola (IgG) no mostró reactividad cruzada serológica con sueros que contenían anticuerpos contra los siguientes parámetros:

Anticuerpos contra	n	Positivo para anti-virus de rubeola
VHS-1	3	0%
VEB-AC	7	0%
CMV	5	0%
VVZ	3	0%
Virus de la gripe B	8	0%
Pool de virus paragripales	8	0%
VSR	6	0%
Adenovirus	10	0%

Interferencias: Las muestras hemolíticas, lipémicas e ictericas 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 sueros. Los coeficientes de variación intraensayo están basados en 20 determinaciones, y los coeficientes de variación entre ensayos en 4 determinaciones realizadas en 6 ensayos diferentes.



Variación intraensayo, n = 20		
Suero	Promedio (UI/ml)	CV (%)
1	7	4.6
2	37	3.9
3	147	4.7

Variación interensayo, n = 4 x 6		
Suero	Promedio (UI/ml)	CV (%)
1	8	4.5
2	37	5.9
3	162	4.4

Sensibilidad y especificidad: Se analizaron con el ELISA anti-virus rubeola IgG de EUROIMMUN 318 muestras de pacientes caracterizadas clínicamente (INSTAND, NEQAS, Labquality, MQ y RfB). La especificidad se situó en el 100% con una sensibilidad del 99,6%.

n = 318		INSTAND/NEQAS/Labquality/MQ/RfB		
		positivo	dudoso	negativo
EUROIMMUN ELISA Anti-virus rubeola (IgG)	positivo	258	0	0
	dudoso	2	4	1
	negativo	1	0	52

Se analizaron con el ELISA anti-virus rubeola de EUROIMMUN 192 muestras de pacientes caracterizadas clínicamente de un colectivo mixto (mujeres embarazadas, niños vacunados de entre 1 y 10 años, donantes de sangre sanos). La especificidad se situó en el 100% y la sensibilidad alcanzó el 97,8% en comparación con otro ELISA comercial.

n = 192		ELISA		
		positivo	dudoso	negativo
EUROIMMUN ELISA Anti-virus rubeola (IgG)	positivo	134	6	0
	dudoso	11	5	2
	negativa	3*	6	25

*El resultado de 2 sueros negativos se confirmó con el Virion\Serion ELISA classic. Uno de los sueros arrojó resultados dudosos.

Rango de referencia: Se determinaron con el ELISA de EUROIMMUN los niveles de anticuerpos contra el virus de la rubeola en un colectivo mixto de mujeres embarazadas, niños vacunados y donantes de sangre sanos (n = 838, procedencia: Alemania). Con un punto de corte de 10 UI/ml, el 94% de los donantes de sangre arrojaron resultados positivos para anti-virus de la rubeola (IgG), lo que refleja el porcentaje conocido de propagación en adultos.

Colectivo	n	EUROIMMUN ELISA Anti-virus rubeola (IgG) Resultados positivos
Niños sanos ≤ 3 años	25	100%
Niños sanos 4 - 10 años	63	95%
Mujeres embarazadas	250	93%
Donantes de sangre sanos	500	94%



Significación clínica

El agente causante de la rubeola es el virus de la rubeola, extendido por todo el mundo. Se trata del único representante del género Rubivirus de la familia de los Togaviridae, un virus ARN encapsulado 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 de rubeola I (RGI) está extendido en el hemisferio occidental, mientras que el genotipo de rubeola II (RGII) lo está predominantemente en Asia.

La infección por rubeola se transmite por gotitas. Ya es contagiosa durante el periodo de incubación de dos a tres semanas. Los síntomas típicos son dolor de cabeza, inflamaciones de los ganglios linfáticos, sobre todo en la región cervical posterior, y un exantema de rubeola de manchas pequeñas que suele persistir durante 3 días. Este exantema generalizado, maculoso y no confluyente de color rojo claro se extiende desde la región postauricular por el rostro hacia el torso y las extremidades. Como complicaciones pueden desarrollarse artritis pasajeras de las articulaciones de los dedos, las muñecas, los codos y las articulaciones tibiotarsianas, que en adultos (especialmente en mujeres) pueden persistir durante hasta 3 semanas. Además, en ocasiones se desarrollan miocarditis, neuritis, otitis, bronquitis y muy rara vez encefalitis rubeólica con pronóstico favorable. La mayoría de las infecciones aparecen a una edad de entre 5 y 14 años y dejan tras de sí una inmunidad de por vida. En Europa Central se calcula un porcentaje de propagación de entre el 80% y el 90% en adultos, mientras que en Oriente Próximo, en la Península Arábiga y en los Estados Unidos se sitúa aprox. entre el 91% y el 93%. Esto equivale al 10% - 20% de las mujeres en edad fértil que no son inmunes.

Los virus de la rubeola que se transmiten por vía diaplacentaria durante los 3 primeros meses del embarazo provocan el índice más elevado de malformaciones embrionarias. En aprox. el 80% de los casos se observan embriopatías rubeólicas graves. La principal es la tríada de Gregg (descrita por primera vez en 1941 por el oftalmólogo australiano Gregg) con malformaciones cardíacas, defectos oculares y lesiones auditivas como defectos cardíacos congénitos 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 retraso psicomotor (en algunos casos en combinación con microcéfalo) en aprox. el 45%, púrpura neonatal con hepatoesplenomegalia y diabetes mellitus en aprox. el 23%, así como muerte (incluido aborto espontáneo) en aprox. el 16% de los casos clínicos. En numerosos países, una infección aguda por rubeola se considera indicación médica para una interrupción del embarazo.

Junto a la anamnesis y la clínica, reviste especial importancia el diagnóstico en laboratorio para la confirmación de una infección por rubeola, y es imprescindible especialmente para la determinación serológica del estado inmunitario de embarazadas en relación con una posible embriopatía rubeólica. La diferenciación entre infecciones recientes y prolongadas se cuenta entre los mayores retos de la serología. Los anticuerpos contra las proteínas estructurales del virus de la rubeola, básicamente de la clase IgG, son detectables a partir de 2 a 3 días desde la aparición del exantema. Los anticuerpos contra el virus de la rubeola completo intacto no maduran hasta transcurridos entre tres meses y un año. La determinación de la avidez de anticuerpos IgG específicos contribuye a la detección de una infección aguda por virus de la rubeola, especialmente en personas negativas para IgM con infecciones recientes o en pacientes con IgM persistente. Por regla general se recomienda el ensayo de avidez ELISA, en virtud de su valor diagnóstico y su fiabilidad demostrados y comparativamente elevados.

La detección directa del virus de la rubeola mediante la RCP (reacción en cadena de la polimerasa), como p. ej. en la sangre fetal, se reserva a laboratorios especiales.

El **HHT** (ensayo IH, ensayo de inhibición de la hemaglutinación, HAI, hemagglutination inhibition test) se utiliza en Alemania para determinar la inmunidad durante la fase temprana del embarazo. Para la determinación de una posible infección aguda se analizan dos muestras de sangre, una al principio de la enfermedad y otra al cabo de 2 a 3 semanas; en caso de una infección reciente se observa un incremento del título en un factor de 2 a 4. En casos dudosos o negativos, se recomienda determinar los anticuerpos contra rubeola mediante ELISA. Debe tenerse en cuenta que en el HHT se valoran como inmunidad a la rubeola los títulos elevados sin síntomas clínicos, mientras que los títulos bajos se consideran como una protección insuficiente contra una infección por rubeola tras un nuevo contacto con el virus. Esta interpretación no es lo suficientemente fiable, dado que cualquier título en el HHT puede sugerir una infección reciente por rubeola, puesto que este ensayo no permite distinguir entre anticuerpos IgG y anticuerpos IgM y un título HHT elevado podría estar causado exclusivamente por anticuerpos IgM.



Como alternativa están disponibles el ELISA IgG contra virus de rubeola y el IIFT contra virus de rubeola para la evaluación de la inmunidad. El aumento del título de anticuerpos dentro de un plazo aproximado de 10 días o la detección de anticuerpos de la clase IgM se consideran indicios de una infección aguda. No obstante, debe tenerse en cuenta que la IgM contra rubeola puede persistir durante meses tras una infección.

A fin de delimitar el periodo de infección, las determinaciones de la avidéz de anticuerpos IgG específicos, en particular los ensayos de avidéz, el **ELISA** contra virus de rubeola (**IgG, determinación de la avidéz**) y el **IIFT** contra virus de rubeola (**IgG, determinación de la avidéz**) proporcionan resultados fiables. Si existe una avidéz elevada, puede descartarse una infección dentro de las últimas cuatro a seis semanas. En el ELISA contra glicoproteínas de rubeola se utilizan como antígenos glicoproteínas de virus de rubeola (proteínas estructurales de rubeola). En las muestras positivas, los anticuerpos específicos de la clase IgM (así como IgA e IgG) se unen a los antígenos correspondientes, siendo esto detectable ya entre 2 y 3 días desde la aparición del exantema.

En caso de sospecharse una encefalitis inducida por virus de la rubeola, debería verificarse la presencia de anticuerpos específicos en el líquido cefalorraquídeo. Para este análisis terapéuticamente relevante está disponible el **ELISA** contra virus de rubeola (**IgG, en el líquido cefalorraquídeo**), especialmente desarrollado para el diagnóstico del LCR. En una encefalitis rubeólica, se producen en el líquido cefalorraquídeo anticuerpos de la clase IgG específicos del patógeno. Una medida de esta producción de anticuerpos intratecal específica del agente causal 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** contra virus de rubeola permite determinar la presencia de anticuerpos IgG contra el virus de la rubeola. Se recomienda para el esclarecimiento de resultados IgM de rubeola dudosos. Los anticuerpos de conformación IgG contra el antígeno de la rubeola E2 no aparecen hasta transcurridos como mínimo 3 meses desde una vacuna o infección. En presencia de las bandas E2, es improbable una infección durante los últimos 3 meses.

En todo el mundo se aplican diversas estrategias de vacunación para la prevención de infecciones por rubeola. Debido a la buena tolerabilidad 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.



