

Em uma avaliação externa de vários kits para a detecção de anticorpos anti-rubéola, foram comprovadas 125 amostras previamente caracterizadas. As 95 amostras que eram negativas, também o foram com o **rubagen**. As 35 amostras que eram positivas, 20 das quais classificadas como positivas "fracas" (15-40 UI/ml) e 10 classificadas como positivas "fortes" (> 500 UI/ml) também foram positivas com este kit. Cinco painéis de soroconversão de pessoas vacinadas, com 4 amostras consecutivas, sendo 1 de antes e 3 de depois da vacinação foram testados e o **rubagen** detectou corretamente a todos.

Em outro estudo, o **rubagen** detectou com precisão a soroconversão em soros pareados de 10 pessoas com infecção natural e de 4 pessoas que haviam sido vacinadas. Todos os pares de soros apresentaram um aumento de título de 4 vezes ou mais.

#### Precisão

10 amostras de soro foram quantificadas 3 vezes em diferentes dias. A reprodutibilidade foi de 100%, aceitando um intervalo de uma diluição.

## Bibliografia

Ver "References" do texto inglês.

# rubagen

## Rapid latex particle agglutination test on slide for the qualitative and quantitative determination of rubella virus antibodies in serum.

### Summary

Rubella is a mild viral disease affecting children and adults. However, when contracted in the first trimester of pregnancy, rubella virus may infect the fetus through the placenta causing multiple abnormalities commonly referred to as "congenital rubella syndrome". Other consequences of rubella infection during pregnancy may include spontaneous abortion and stillbirth (1-3).

The availability of an attenuated rubella virus vaccine has greatly reduced the natural incidence of rubella infection. Nevertheless, it is recommended that all women of childbearing age be tested for the presence of rubella antibody to assure that nonimmune individuals are detected and subsequently vaccinated (4-5).

The detection of rubella immune status was performed during many years by various serological methods, specially the hemagglutination inhibition test (HAI) (6-8). However, latex agglutination in comparison with HAI is quicker and easier to perform. The sensitivity of **rubagen** correlates perfectly with that of the HAI test.

### Principle

The **rubagen** reagent is a suspension of polystyrene latex particles of uniform size coated with soluble rubella inactivated virus antigen. Latex particles allow visual observation of the antigen-antibody reaction. If rubella virus antibodies are present in the serum sample, the latex suspension changes its uniform appearance and a clear agglutination becomes evident.

When the latex reagent is mixed with the serum, if the serum contains approximately more than 10 IU/ml of rubella virus antibodies, a clear agglutination will appear. Results are expressed in IU/ml of total anti-rubella virus antibodies based on the WHO International Standard (1970).

### Components

**REF** 3000-4001.

- a) **REAG** Latex reagent: 1 x 1.7 ml.  
Suspension of polystyrene latex particles coated with rubella virus antigen in a buffer. Contains < 0.1% sodium azide.
- b) **CONTROL +** Positive control: 1 x 1.0 ml.  
Diluted positive human serum. Ready to use. Contains < 0.1% sodium azide.
- c) **CONTROL -** Negative control: 1 x 1.0 ml.  
Diluted normal human serum. Ready to use. Contains < 0.1% sodium azide.
- d) **DIL** Dilution buffer: 1 x 50 ml.  
Phosphate buffered saline, containing bovine serum albumin. Contains < 0.1% sodium azide.
- e) **SLIDES** Disposable slides: 1 x 13 units.

### Precautions

**rubagen** is intended for IN VITRO diagnostic use.

Sodium azide may react with lead or copper pipes and plumbing creating highly explosive metal azides. Flush drains with water thoroughly after disposing of the remains of reagents.

All human source material used in the preparation of this product was found to be negative for the presence of HIV-1/HIV-2 and HCV antibodies, as well as for the hepatitis B surface antigen, using a method approved by the Food and Drug Administration (USA).

WARNING: POTENTIALLY BIOHAZARDOUS MATERIAL.

Because no test method can offer complete assurance of the absence of infectious agents, this product should be handled with caution (9).

Dispose all used materials in a suitable biohazardous waste container.

#### Hazard class

Not classified.


#### Hazard statements

None.

#### Precautionary statements

P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P305+351+338: IF IN EYES rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

 Biokit, S.A. - www.biokit.com  
Can Malé s/n - 08186 Lliçà d'Amunt - Barcelona - Spain

 **Biokit**  
A Werfen Company

  
0843

3800-0083  
R03 06/17

## Storage

The reagents will remain stable until the expiration date shown on the label, if stored between 2 and 8°C. Do not freeze.

## Material required not provided

Test tubes, automatic pipettes, rotator, stirrers and timer.

## Sample collection

Use fresh serum. Samples can be stored at 2-8°C for 8 days. For longer periods, samples should be frozen (-20°C). For diagnosis of acute rubella infection, paired sera (acute and convalescent) should be obtained. The first sample should be collected as early as possible after rash onset or exposure and the second one should be obtained 1-3 weeks later. Both sera should be tested simultaneously using the quantitative procedure (7). For qualitative antibody assay a single sample is sufficient.

## Procedure

Quality control: Before performing a set of determinations it is advisable to test the reagent with each of the controls included in the kit. Both controls should be used following the steps outlined in the QUALITATIVE TEST but without doing any dilution as they are prediluted. The reaction between the positive control and the reagent should show a clear agglutination, different from the uniform appearance of the negative control. If these results are not obtained, do not use the kit.

To ensure drops of correct volume, wipe dry the dropper tips with a tissue prior to use. For correct delivery, reagent and controls droppers must be held vertically.

## QUALITATIVE TEST

- Allow the reagents to reach room temperature.
- Dilute the serum with the dilution buffer and mix well. The following table shows the different serum dilutions to be performed depending on the sensitivity of the latex reagent which is printed on the outside of the box.

Sensitivity level of 10 IU/ml		
Latex sensitivity	Dilution	
2.5 IU/ml	1:4	(50 µl serum + 150 µl buffer)
2.0 IU/ml	1:5	(50 µl serum + 200 µl buffer)
1.5 IU/ml	1:6.7	(50 µl serum + 285 µl buffer)

- Place 25 µl of the serum dilution (or one drop of control) onto one section of the slide.
- Shake the reagent vial and add one drop of reagent next to the drop of diluted serum.
- Mix both drops with a stirrer covering the whole surface of the slide section.
- Rotate the slide for 8 minutes manually or on a rotary shaker set at 80-100 rpm.
- Observe for presence or absence of agglutination.

## Reading results

POSITIVE REACTIONS: Presence of agglutination.

- 3+ Large clumping with clear background.
- 2+ Moderate clumping with fluid slightly opaque in background.
- 1+ Small clumping with opaque fluid in background.

NEGATIVE REACTIONS:

Absence of agglutination, uniform suspension.

## Interpretation of the results

The presence of any clear agglutination indicates the presence of antibodies against rubella virus in the serum. This indicates previous exposure to the virus and the immunization of the individual against it.

The absence of agglutination indicates the absence of antibodies to rubella virus in the serum or their presence in a very low or no detectable level. In this case, the individual can be infected or reinfected by the virus.

In pregnant women, specially within the first trimester, it is recommended to repeat the test a month later in order to detect any seroconversion.

## TESTE QUANTITATIVO

- Depositar 25 µl do tampão de diluição em cada uma das seções, de 1 a 8, da lâmina.
- Com uma pipeta automática, depositar 25 µl da diluição do soro realizada no teste qualitativo, na seção 1 da lâmina.
- Com a mesma pipeta, aspirar e expulsar várias vezes o soro e o tampão de diluição contidos na seção 1 até conseguir uma boa mistura.
- Tomar 25 µl da mistura obtida na seção 1 e transferir para a seção 2.
- Realizar as mesmas operações descritas anteriormente para conseguir a mistura correta dos reativos até seção 8, devendo-se então desprezar 25 µl.
- Testar cada diluição tal como se descreve na seção TESTE QUALITATIVO.

## Interpretação dos resultados

O título aproximado corresponderá à diluição mais alta do soro que ainda apresentar aglutinação claramente visível. Caso se queira expressar o título em UI/ml será preciso multiplicar o inverso da última diluição positiva pelo nível de sensibilidade do reativo látex, que vem indicada na embalagem do kit. A sensibilidade do reativo látex foi determinada utilizando-se o 1º Padrão Internacional da OMS.

- p. ex. - Sensibilidade do reativo látex: 2 UI/ml.
- Última diluição positiva: 1:20.
- Título: 20 x 2 UI/ml = 40 UI/ml.

O diagnóstico de uma infecção aguda deve ser confirmado sorologicamente pela presença de anticorpos IgM específicos ou através da comparação do título de anticorpos em duas amostras de soro do mesmo paciente. A primeira amostra deve ser extraída imediatamente depois do contágio ou início do exantema, e a segunda, 1 a 3 semanas mais tarde. Um aumento do título de 4 vezes ou mais entre a primeira e a segunda amostra, se considera diagnóstico de uma infecção aguda pelo vírus da rubéola (2-4). Uma soroconversão pode ser observada também depois da vacinação.

## Limitações do procedimento

- Os resultados obtidos com **rubagen** devem ser avaliados pelo médico juntamente com o quadro clínico do paciente.
- Os soros de fase aguda e convalescente devem ser analisados ao mesmo tempo. A ausência de um título quatro vezes superior não exclui necessariamente a possibilidade de uma infecção.
- Em uma avaliação foi observado efeito de pró-zona com um soro positivo forte de IgM. Se há suspeita desta possibilidade, o teste deve ser repetido utilizando uma diluição 1:20 do soro.

## Valores previstos

A prevalência de anticorpos contra o vírus da rubéola é de 80% em adultos jovens, seja por infecção natural ou por vacina. A infecção por rubéola é rara em adultos, contudo, mulheres em idade fértil podem adquirir a infecção primária de rubéola pelo contato intenso com crianças (3).

Os dados de prevalência de rubéola publicados variam dependendo do país. Um estudo de revisão descreveu dados de soroprevalência de rubéola em mulheres em idade fértil variáveis de 81,1% (Coreia), 83,9% (Camarões), 86,6% (Espanha) a 94,3% (Suíça) (10).

## Características funcionais

A sensibilidade e a especificidade do **rubagen** foram estudadas em comparação com um ensaio imunoenzimático de micropartículas para IgG e IgM (MEIA) usando um painel de 77 soros positivos para anticorpos IgG, 16 amostras positivas para IgG e IgM e 69 amostras negativas. A sensibilidade relativa foi de 100%, todas as 93 amostras foram positivas com o reativo de látex. A especificidade relativa foi de 76,8% (53/69). As 16 amostras discrepantes foram testadas com um ensaio comercial quantitativo que detectou 8 delas como positivas, 7 como "duvidosas" (6-9 UI/ml), e 1 amostra como negativa. Eliminando as amostras duvidosas dos cálculos, a especificidade do teste foi de 98,1%. Uma vez resolvidas as discrepâncias, o valor preditivo de positividade para o **rubagen** foi de 99% e o preditivo de negatividade foi de 100%.

Um estudo comparativo entre o **rubagen** e outro ensaio de aglutinação de látex comercialmente disponível foi realizado usando 19 amostras classificadas como negativas (< 10 UI/ml) ou duvidosas (10-15 UI/ml), 34 positivas (> 15 UI/ml) e 10 positivas de IgM por uma técnica de EIA. As amostras foram testadas seguindo as instruções de cada fabricante. O kit mais sensível foi o **rubagen** (detecção 10 UI/ml), que detectou todas as amostras duvidosas (10/10) e 4 amostras negativas (7-10 UI/ml). O segundo reativo de látex (detecção 10 UI/ml) detectou 9/10 das amostras duvidosas e 2 amostras negativas (8 UI/ml). O terceiro reativo de látex (detecção 3 UI/ml) detectou 6/10 das amostras duvidosas e 2 amostras negativas (8 UI/ml). Os 34 soros positivos com resultados de EIA entre 15 e 200 UI/ml foram positivos com os 3 reativos de látex, exceto 2 que foram negativos com o terceiro reativo de látex. Este terceiro reativo também não detectou 4/10 amostras (> 200 UI/ml) devido ao efeito de pró-zona. As 10 amostras de soro positivas de IgM também foram testadas, 9 das quais foram detectadas pelo **rubagen** e pelo segundo reativo enquanto que 1 amostra apresentou efeito de pró-zona com ambos reativos. O terceiro reativo mostrou efeito de pró-zona com 4 das amostras.

## Conservação

Os reativos permanecem estáveis até a data de validade indicada na etiqueta, se forem conservados entre 2-8°C. Não congelar.

## Material necessário não incluído

Tubos de ensaio, pipetas automáticas, agitador rotatório, palitos de madeira e cronômetro.

## Coleta da amostra

Usar soro fresco. As amostras podem ser conservadas por 8 dias entre 2-8°C. Para guardar por um período de tempo mais longo as amostras devem ser congeladas (-20°C).

Para diagnosticar a infecção aguda pelo vírus da rubéola deve-se efetuar a coleta de duas amostras de soro (aguda e convalescente). A primeira amostra deve ser extraída imediatamente depois do contágio e início do exantema e a segunda, 1 a 3 semanas mais tarde. As duas amostras de soro, junto com os controles positivo e negativo, devem ser testadas simultaneamente, utilizando-se a técnica quantitativa (7).

Para o estudo qualitativo de imunidade ao vírus, bastará efetuar o ensaio com uma única amostra.

## Procedimento

Controle de qualidade: Antes de efetuar uma série de determinações é aconselhável controlar o reativo com cada um dos controles incluídos no kit. Ambos controles devem ser utilizados seguindo os passos descritos para o TESTE QUALITATIVO, mas sem realizar diluição alguma, já que os mesmos vêm pré-diluídos. A reação entre o controle positivo e o reativo deve dar uma clara aglutinação, diferente do aspecto homogêneo do controle negativo. Se estes resultados não são obtidos, não utilizar o kit.

Para assegurar gotas com um volume correto, secar o conta-gotas com papel absorvente antes da utilização. Para uma dispensação adequada, manter os reagentes e controles em posição vertical.

## TESTE QUALITATIVO

- Deixar que os reativos alcancem a temperatura ambiente.
- Diluir o soro com o tampão de diluição e misturar bem. A seguinte tabela apresenta as diferentes diluições do soro que precisarão ser efetuadas dependendo da sensibilidade do reativo látex, que vem impressa no exterior da caixa.

Nível de sensibilidade de 10 UI/ml	
Sensibilidade do látex	Diluição
2,5 UI/ml	1:4 (50 µl soro + 150 µl tampão)
2,0 UI/ml	1:5 (50 µl soro + 200 µl tampão)
1,5 UI/ml	1:6,7 (50 µl soro + 285 µl tampão)

- Depositar 25 µl da diluição do soro (ou uma gota de controle) em uma das seções da lâmina.
- Agitar suavemente o frasco do reativo e acrescentar uma gota do reativo, junto à gota de soro diluído.
- Misturar ambas gotas com um palito, cobrindo-se toda a superfície da seção da lâmina.
- Agitar a lâmina com um suave movimento de rotação, seja manualmente ou com um agitador rotatório (80 a 100 rpm), durante 8 minutos.
- Observar a presença ou ausência de aglutinação.

## Leitura dos resultados

REAÇÕES POSITIVAS: Presença de aglutinação

- 3+ Agregados grandes sobre fundo transparente.
- 2+ Agregados médios sobre fundo levemente opaco.
- 1+ Agregados finos sobre fundo opaco.

REAÇÕES NEGATIVAS:

Ausência de aglutinação, suspensão uniforme.

## Interpretação dos resultados

A presença de aglutinação indica a existência de anticorpos anti-rubéola no soro. Indica que houve uma exposição prévia ao vírus e que o indivíduo está imunizado contra o mesmo.

A ausência de aglutinação indica a não existência de anticorpos anti-rubéola no soro ou a presença de anticorpos em um nível baixo, inferior ao detectável pela técnica utilizada. Nesse caso, o indivíduo provavelmente é suscetível a padecer uma infecção ou re-infecção pelo vírus.

No caso de mulheres grávidas, especialmente durante o primeiro trimestre de gestação, convém repetir o teste um mês depois, a fim de detectar uma possível soroconversão.

## QUANTITATIVE TEST

- Place 25 µl of dilution buffer onto slide sections 1 through 8.
- Using an automatic pipette, place 25 µl of the serum dilution performed in the qualitative test onto slide section 1.
- Using the same pipette take in and release the serum and the dilution buffer on section 1 several times until they are well mixed.
- Take 25 µl of the mixture made on section 1 and transfer it to section 2.
- Repeat the aforementioned operations to obtain a thorough mixing of reagents, through section 8, thereafter discarding 25 µl.
- Test each dilution as described in the section QUALITATIVE TEST.

## Interpretation of the results

The approximate titer will correspond to the highest serum dilution that still presents a clearly visible agglutination. When expressing the titer in IU/ml the sensitivity of the latex reagent which is printed on the outside of the box must be multiplied by the reciprocal of the last dilution of serum giving a positive result. The sensitivity of the latex reagent has been determined against the 1st WHO International Standard.

- e.g. - Latex reagent sensitivity: 2 IU/ml.
- Last positive dilution: 1:20.
- Titer: 20 x 2 IU/ml = 40 IU/ml.

The diagnosis of acute rubella infection should be confirmed serologically by the presence of specific IgM antibody or by comparing antibody titers in paired sera. The first sample should be collected as early as possible after rash onset or exposure, while the second sample should be obtained 1-3 weeks later. A four-fold or greater rise in titer between the first and the second sample is considered diagnostic of acquired rubella infection (2-4).

Also a seroconversion may be seen after a vaccination procedure.

## Limitations of the procedure

- Test results obtained with **rubagen** must be evaluated by the physician in light of the clinical symptoms shown by the patient.
- Acute and convalescent sera must be tested at the same time. The absence of a four-fold rise in titer does not exclude the possibility of exposure and infection.
- In one evaluation, a prozone effect was observed with one strong positive IgM serum sample. If this possibility is suspected, the test should be repeated using a 1:20 dilution of the serum.

## Expected values

Antibodies against natural infection or vaccine rubella virus are prevalent in 80% of young adults. Adults are rarely afflicted with rubella, but women of childbearing age can acquire primary rubella infection by intensive contact with young children (3).

The prevalence data reported for rubella vary depending of the country. A revision study reported seroprevalence of rubella in women of childbearing age varying from 81.1% (Korea), 83.9 (Cameroon), 89.6% (Spain) to 94.3% (Switzerland) (10).

## Performance characteristics

The **rubagen** sensitivity was studied in comparison to a commercially available IgG and IgM Microparticle Enzyme Immunoassays (MEIA) using a serum panel of 77 positive samples for IgG antibody, 16 positive samples for IgG and IgM rubella antibodies, and 69 negative samples. The relative sensitivity was 100%, all 93 samples were positive with the latex reagent. The relative specificity was 76.8% (53/69). The 16 discrepant samples were tested with a quantitative commercial assay that detected 8 of them as positive, 7 as "doubtful" (6-9 IU/ml), and 1 sample as negative. Eliminating the doubtful samples from calculation, the specificity of the test was 98.1%. Once resolved the discrepancies, the positive predictive value for **rubagen** was 99% and the negative predictive value was 100%.

A comparative study between **rubagen** and two other commercially available latex agglutination tests was done using 19 serum samples classified as negative (< 10 IU/ml) or equivocal (10-15 IU/ml), 34 positive (> 15 IU/ml) and 10 IgM-positive by an EIA technique. The samples were tested following the instructions of each manufacturer. **rubagen** (10 IU/ml of detection) was the most sensitive kit detecting all the equivocal EIA samples (10/10) and 4 negative samples (7-10 IU/ml). A second latex reagent (10 IU/ml of detection) detected 9/10 of the equivocal samples and 2 negative samples (8 IU/ml). The third latex reagent (3 IU/ml of detection) detected 6/10 of equivocal samples and 2 negative samples (8 IU/ml). The 34 positive serum samples with EIA results ranging from 15 to 200 IU/ml were found positive by the 3 latex reagents, except 2 serum samples that were negative by the third latex reagent. This third reagent also did not detect 4/10 serum samples (> 200 IU/ml) because of a prozone effect. The 10 serum samples positive for specific IgM were also tested, **rubagen** and the second reagent detected 9 of the samples while one sample showed a prozone effect with both reagents. The third reagent showed prozone effect with 4 of the serum samples.

In an external evaluation of multiple kits for detection of rubella antibodies, 125 samples previously characterized were tested. All 95 negative samples tested were also negative with **rubagen**. The 35 positive serum samples, 20 of them classified as "weakly" positive (15-40 IU/ml) and 10 as "strong" positive (> 500 IU/ml), were found also positive with this kit. Five seroconversion panels of vaccinated persons, with 4 consecutive samples each obtained one before and 3 after the vaccination, were tested and **rubagen** detected correctly all of them.

In another study **rubagen** accurately detected the seroconversion of paired sera from 10 persons with natural infection and 4 who had been vaccinated. All serum pairs showed a four-fold or greater rise in titer.

#### Precision

10 serum samples were quantified 3 times on different days. The results indicate that the reproducibility of the reagent (within one dilution) was 100%.

## References

1. Gregg NM. Congenital cataract following German Measles in the mother. Trans Ophthalmol Soc Aust 3: 35-46, 1941.
2. Chernesky MA, Mahony JB. Rubella virus. In "Manual of Clinical Laboratory Immunology". Third Edition. American Society for Microbiology, 536-539, 1986.
3. Doerr HW. Viral diseases. In: Thomas L. Clinical laboratory diagnosis. Use and assessment of clinical laboratory results. 1<sup>st</sup> edition. TH-Books, Frankfurt/Main, Germany, 1998.
4. Rubella prevention - Recommendations of the immunization practices advisory committee (ACIP). November 23, 1990 / 39(RR 15); 1-18.
5. Skendzel LP. Rubella immunity. Defining the level of protective antibody. Am J Clin Pathol 106: 170-173, 1996.
6. Stewart GL, Parkman PD, Hopps HE, Douglas RD, Hamilton JP, Meyer HM. Rubella-Virus hemagglutination-inhibition test. New Eng J Med 276: 554-557, 1967.
7. Meegan JM, Evans BK, Horstmann DM. Comparison of the latex agglutination test with the hemagglutination inhibition test, enzyme-linked immunosorbent assay, and neutralization test for detection of antibodies to Rubella virus. J Clin Microbiol 16: 644-649, 1982.
8. Grangeot-Keros L, Pillot J. Étude critique du sérodiagnostic de la Rubéole: Évaluation comparative des méthodes classiques et nouvelles et leur signification immunitaire. Bull de L'Institut Pasteur 83: 375-388, 1985.
9. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. CDC/NIH manual, 5th edition, 2007.
10. Zufferey J, Jacquier P, Chappuis S, Spinnler O, Hohlfeld P, Zuber PLF, Bille J. Seroprevalence of rubella among women of childbearing age in Switzerland. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 14: 691-696, 1995.

## rubagen

### Teste rápido para determinação qualitativa e quantitativa de anticorpos anti-rubéola em soro por aglutinação de partículas de látex em lâmina.

## Sumário

A rubéola é uma virose benigna que pode afetar tanto crianças como adultos. No entanto, quando a doença é contraída durante o primeiro trimestre da gravidez, o vírus pode infectar o feto através da placenta, causando-lhe uma série de anomalias múltiplas que se conhece como "síndrome de rubéola congênita". Entre as conseqüências de uma infecção pelo vírus da rubéola durante a gestação estão incluídos o aborto e a morte fetal (1-3). A aplicação de uma vacina preparada com vírus atenuados da rubéola tem reduzido notavelmente a incidência da doença. Não obstante, recomenda-se efetuar uma análise para a determinação de anticorpos anti-rubéola em todas as mulheres em idade fértil, com a finalidade de detectar as que não são imunes e realizar a vacinação das mesmas (4,5). Durante muitos anos a determinação de imunidade contra a rubéola efetuou-se por meio de diferentes métodos sorológicos, principalmente através do teste de inibição da hemaglutinação (IHA) (6-8). Porém, em comparação com o método IHA, o teste por aglutinação de partículas de látex é mais rápido e mais fácil de realizar. Além disso, a sensibilidade de **rubagen** mantém uma perfeita correlação com a do método IHA.

## Princípio

O reativo **rubagen** é uma suspensão de partículas de látex de poliestireno de tamanho uniforme recobertas com antígeno de rubéola inativado. As partículas de látex permitem visualizar a reação antígeno-anticorpo. Se devido à presença de anticorpos anti-rubéola no soro, ocorre a mencionada reação, a suspensão de látex perderá seu aspecto homogêneo, evidenciando-se uma clara aglutinação.

Quando o reativo látex se mistura com o soro, se este tem aproximadamente mais de 10 UI/ml de anticorpos anti-rubéola, ocorrerá uma clara aglutinação. Os resultados estão expressos em UI/ml de anticorpos totais anti-rubéola segundo o Padrão Internacional da OMS (1970).

## Componentes

**[REF]** 3000-4001.

- a) **[REAG]** Reativo látex: 1 x 1,7 ml.  
Suspensão de partículas de látex de poliestireno em solução tampão, recobertas com antígeno do vírus da rubéola. Contém < 0,1% de azida sódica.
- b) **[CONTROL +]** Controle positivo: 1 x 1,0 ml.  
Soro humano anti-rubéola, diluído. Pronto para usar. Contém < 0,1% de azida sódica.
- c) **[CONTROL -]** Controle negativo: 1 x 1,0 ml.  
Soro humano normal diluído. Pronto para usar. Contém < 0,1% de azida sódica.
- d) **[DIL]** Tampão de diluição: 1 x 50 ml.  
Tampão fosfato-salina contendo albumina bovina. Contém < 0,1% de azida sódica.
- e) **[SLIDES]** Lâminas descartáveis: 1 x 13 unidades.

## Precauções

**rubagen** é para o diagnóstico IN VITRO.

A azida sódica pode reagir com os encanamentos e ralos de chumbo ou cobre, originando azidas metálicas altamente explosivas. Ao descartar os restos de reativos, fazê-lo em abundante volume de água.

Todos os materiais de origem humana utilizados na preparação deste produto foram testados e apresentaram resultados negativos em relação a presença de anticorpos contra os vírus HIV-1/HIV-2 e HCV, assim como para o antígeno de superfície da hepatite B, utilizando um método aprovado pela Food and drug Administration (USA).

ATENÇÃO: MATERIAL DE RISCO BIOLÓGICO.

Dado que nenhum método pode oferecer a total segurança da ausência de agentes infecciosos, este produto deve ser manipulado com precaução (9).

Descartar todos os materiais usados em recipientes adequados para material bio-contaminante.

#### Classe de perigo

Não classificado.

#### Advertências de perigo

Nenhuma.

#### Recomendações de prudência

P280: Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.

P305+351+338: SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contato, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.

In un'analisi esterna di vari kit per la rilevazione di anticorpi antirosolia, sono stati sottoposti a verifica 125 campioni previamente contraddistinti. I 95 campioni negativi hanno dato lo stesso risultato con il **rubagen**. I 35 campioni positivi, 20 classificati come positivi "deboli" (15-40 UI/ml) e 10 come positivi "forti" (> 500 UI/ml), sono risultati positivi anche con questo kit. 5 panel di sieroconversione di soggetti vaccinati, ognuno con 4 campioni consecutivi ottenuti uno prima e tre dopo la vaccinazione sono stati sottoposti a verifica con il **rubagen** che li ha rilevati correttamente.

In un altro studio, il **rubagen** ha rilevato con precisione la sieroconversione di 10 coppie di sieri provenienti da individui infettati naturalmente e di 4 coppie di sieri provenienti da soggetti vaccinati. Tutte le coppie hanno mostrato un aumento del titolo di almeno 4 diluizioni doppie.

#### Precisione

Sono stati quantificati 10 sieri per tre volte in giorni diversi. I risultati indicano che la riproducibilità del reagente ( $\pm$  una diluizione) è stata del 100%.

## Bibliografia

Vedere "References" nel testo inglese.

## rubagen

### Test rápido de aglutinación de partículas de látex en porta, para la determinación cualitativa y cuantitativa en suero de anticuerpos antirubéola.

#### Sumario

La rubéola es una infección viral benigna que puede afectar a niños y adultos. Sin embargo, cuando la enfermedad se contrae durante el primer trimestre del embarazo, el virus puede infectar al feto a través de la placenta causándole una serie de anomalías múltiples que se conocen con el nombre de "síndrome de la rubéola congénita". Entre las consecuencias de una infección por el virus de la rubéola durante el embarazo, se incluyen también el aborto espontáneo y la muerte fetal (1-3).

La disponibilidad de una vacuna de virus de rubéola atenuados ha reducido notablemente la incidencia de la infección natural. Sin embargo, se recomienda realizar la determinación de anticuerpos antirubéola a todas las mujeres en edad fértil con el fin de detectar a las no inmunes y proceder a su vacunación (4-5).

Durante muchos años la determinación del estado inmunitario se ha realizado mediante distintos métodos serológicos principalmente mediante el ensayo de la inhibición de la hemaglutinación (IHA) (6-8). Sin embargo, en comparación con el método IHA, la prueba de aglutinación de partículas de látex es más rápida y sencilla de realizar. La sensibilidad de **rubagen** correlaciona perfectamente con la del método IHA.

#### Principio

El reactivo **rubagen** es una suspensión de partículas de látex de poliestireno de tamaño uniforme sensibilizadas con antígeno soluble del virus de la rubéola inactivado. Las partículas de látex ponen de manifiesto la reacción antígeno-anticuerpo. Si debido a la presencia de anticuerpos antirubéola en el suero tiene lugar dicha reacción, la suspensión de látex pierde su aspecto uniforme haciéndose evidente una clara aglutinación.

Cuando se mezcla el reactivo látex con el suero, si el suero tiene aproximadamente más de 10 UI/ml de anticuerpos antirubéola se produce una clara aglutinación. Los resultados se expresan en UI/ml de anticuerpos totales antirubéola de acuerdo con el Estándar Internacional de la OMS (1970).

#### Componentes

**REF** 3000-4001.

- a) **REAG** **Reactivo látex:** 1 x 1,7 ml.  
Suspensión de partículas de látex de poliestireno sensibilizadas con antígeno del virus de la rubéola, en un tampón. Contiene < 0,1% de azida sódica.
- b) **CONTROL +** **Control positivo:** 1 x 1,0 ml.  
Suero positivo humano diluido. Listo para su uso. Contiene < 0,1% de azida sódica.
- c) **CONTROL -** **Control negativo:** 1 x 1,0 ml.  
Suero humano negativo diluido. Listo para su uso. Contiene < 0,1% de azida sódica.
- d) **DIL** **Tampón de dilución:** 1 x 50 ml.  
Tampón fosfato salino que contiene albúmina de suero bovino. Contiene < 0,1% de azida sódica.
- e) **SLIDES** **Portaobjetos desechables:** 1 x 13 unidades.

#### Precauciones

**rubagen** es sólo para el diagnóstico IN VITRO.

La azida sódica puede reaccionar con tuberías y desagües de plomo o cobre dando lugar a azidas metálicas altamente explosivas. Al desechar los restos de reactivos, deje correr agua abundante.

Todo el material de origen humano utilizado en la preparación de este producto ha sido encontrado negativo a la presencia de anticuerpos de los virus HIV-1/HIV-2 y HCV, así como a la del antígeno de superficie de la hepatitis B, utilizando un método aprobado por la Food and Drug Administration (USA).

ATENCIÓN: MATERIAL DE RIESGO BIOLÓGICO.

Ya que ningún método puede ofrecer la total seguridad de la ausencia de agentes infecciosos, este producto debe manejarse con precaución (9).

Depositar todos los materiales usados en recipientes para material biocontaminante.

#### **Clase de peligro**

No clasificado.

#### **Indicaciones de peligro**

Ninguna.

#### **Consejos de prudencia**

P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

P305+351+338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

## Conservación

Los reactivos permanecerán inalterados hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, si se conservan entre 2-8°C. No congelar.

## Material necesario no incluido

Tubos de ensayo, pipetas automáticas, agitador rotatorio, palillos mezcladores y cronómetro.

## Recolección de la muestra

Usar suero fresco. Las muestras pueden ser conservadas durante 8 días entre 2 y 8°C. Si es por un periodo de tiempo más largo las muestras debe ser congeladas (-20°C).

Para el diagnóstico de una infección aguda por el virus de la rubéola, deben recogerse dos muestras de suero (de fase aguda y convalescente). La primera muestra debe recogerse lo antes posible después de la aparición del exantema o de la exposición al virus y la otra de 1 a 3 semanas más tarde. Los dos sueros deben ser ensayados simultáneamente utilizándole test cuantitativo (7).

Para el estudio cualitativo del estado inmunitario del individuo, una sola muestra es suficiente.

## Procedimiento

Control de calidad: Antes de realizar una serie de determinaciones es aconsejable controlar el reactivo con cada uno de los controles incluidos en el kit. Ambos controles deberán utilizarse siguiendo los pasos descritos para el TEST CUALITATIVO, pero sin realizar ninguna dilución, pues ya están prediluidos. La reacción entre el control positivo y el reactivo debe dar una clara aglutinación distinta de la apariencia uniforme del control negativo. Si no se obtienen dichos resultados, no utilizar el kit.

Para asegurar gotas de volumen correcto, secar las puntas de los goteros con un papel absorbente antes de usarlos. Para una correcta dosificación, los goteros del reactivo y de los controles deben mantenerse en posición vertical.

## TEST CUALITATIVO

- Dejar que los reactivos alcancen la temperatura ambiente.
- Diluir el suero en el tampón de dilución y mezclar bien. La tabla siguiente muestra las diferentes diluciones del suero que deben realizarse dependiendo de la sensibilidad del reactivo látex, la cual se especifica en el exterior de la caja.

Nivel de sensibilidad de 10 UI/ml		
Sensibilidad del látex	Dilución	
2,5 UI/ml	1:4	(50 µl suero + 150 µl tampón)
2,0 UI/ml	1:5	(50 µl suero + 200 µl tampón)
1,5 UI/ml	1:6,7	(50 µl suero + 285 µl tampón)

- Dosificar 25 µl de la dilución del suero (o una gota de control) en una de las secciones del portaobjetos.
- Agitar el vial del reactivo y añadir una gota del reactivo junto a la gota del suero diluido.
- Mezclar ambas gotas con un palillo cubriendo toda la superficie de la sección del portaobjetos.
- Agitar el portaobjetos manualmente o en un agitador rotatorio (80-100 rpm) durante 8 minutos.
- Observar la presencia o ausencia de aglutinación.

## Lectura de los resultados

REACCIONES POSITIVAS: Presencia de aglutinación.

- 3+ Agregados grandes sobre fondo transparente.
- 2+ Agregados moderados sobre fondo ligeramente opaco.
- 1+ Agregados finos sobre fondo opaco.

REACCIONES NEGATIVAS:

Ausencia de aglutinación, suspensión uniforme.

## Interpretación de los resultados

La presencia de aglutinación indica la existencia de anticuerpos antirubéola en el suero. Ello indica exposición previa al virus y que el individuo está inmunizado contra él.

La ausencia de aglutinación indica la no existencia de anticuerpos antirubéola en el suero o bien su presencia en un nivel inferior o no detectable. El individuo puede ser susceptible a una infección o reinfección por el virus.

En el caso de mujeres embarazadas, especialmente dentro del primer trimestre, se recomienda repetir el test un mes más tarde a fin de detectar una posible seroconversión.

## TEST CUANTITATIVO

- Dosare 25 µl de solución tampone nelle sezioni da 1 a 8 del vetrino.
- Con una pipetta automatica dosare 25 µl della diluizione di siero preparata nel test qualitativo nella sezione 1 del vetrino.
- Con la stessa pipetta aspirare ed espellere più volte il siero e il tampone di diluizione contenuti nella sezione 1 fino a mischiarli bene.
- Prendere 25 µl di questa miscela dalla sezione 1 e trasferirlo nella sezione 2.
- Ripetere queste stesse operazioni per ottenere una miscela corretta dei reagenti fino alla sezione 8. Scartare quindi 50 µl di diluizione.
- Misurare ogni diluizione come descritto nella sezione TEST QUALITATIVO.

## Interpretazione dei risultati

Il titolo approssimativo del siero corrisponderà alla diluizione più alta che presenti ancora una chiara agglutinazione. Se si desidera esprimere il titolo in UI/ml bisogna moltiplicare l'inverso dell'ultima diluizione positiva per la sensibilità del reagente, riportata sulla scatola. La sensibilità del reagente è stata determinata rispetto al 1° Standard Internazionale dell'OMS.

- p. es. - Sensibilità reagente lattice: 2 UI/ml.
- Ultima diluizione positiva: 1:20.
- Titolo: 20 x 2 UI/ml = 40 UI/ml.

La diagnosi di infezione acuta da rosolia va confermata sierologicamente per la presenza di anticorpi IgM specifici o confrontando il titolo di anticorpi di due campioni accoppiati di siero. Il primo campione di siero deve essere estratto il prima possibile dopo l'apparizione dell'esantema o l'esposizione al virus, mentre il secondo va prelevato 1-3 settimane dopo. Un aumento di 4 o più diluizioni doppie del titolo tra il primo campione e il secondo è da considerarsi una diagnosi di infezione acuta da virus della rosolia (2-4).

È possibile osservare una seroconversione anche dopo la vaccinazione.

## Limitazioni della procedura

- I risultati ottenuti con il **rubagen** devono essere valutati dal medico assieme al quadro clinico del paziente.
- I due sieri di fase acuta e convalescente vanno analizzati contemporaneamente. L'assenza di un aumento di 4 diluizioni nel titolo non esclude la possibilità di una infezione.
- In una valutazione è stato osservato l'effetto prozona con un siero positivo forte di IgM. In caso si sospetti questa possibilità, ripetere il test utilizzando una diluizione 1:20 del siero.

## Valori attesi

Gli anticorpi contro l'infezione naturale o il virus del vaccino sono prevalenti nell'80% degli adulti giovani. La rosolia di norma non è contagiosa per gli adulti, ma le donne in età fertile possono contrarre l'infezione primaria da rosolia attraverso il contatto con i bambini (3).

I dati di prevalenza pubblicati per la rosolia variano a seconda del paese. Una revisione realizzata in uno studio indica dati di sieroprevalenza per la rosolia tra le donne in età fertile che vanno dall'81,1% (Corea), 83,9% (Camerun) e 89,6% (Spagna) al 94,3% (Svizzera) (10).

## Caratteristiche di funzionalità

La sensibilità e specificità del **rubagen** è stata studiata confrontandola con un Test immunoenzimatico a cattura di microparticelle (MEIA) commercializzato per rilevare IgG e IgM, mediante un panel di 77 campioni positivi agli anticorpi IgG, 16 positivi agli anticorpi IgG e IgM e 69 negativi. La sensibilità relativa è stata del 100%, tutti i 93 campioni positivi hanno dato positivo anche con il reagente lattice. La specificità relativa è stata dell'76,8% (53/69). I 16 campioni discrepanti sono stati verificati con un test quantitativo commerciale secondo il quale 8 campioni erano positivi, 7 "dubbiosi" (6-9 UI/ml) e 1 negativo. Eliminando dei calcoli i campioni con i risultati indeterminati, la specificità relativa del reagente è stata del 98,1%. Una volta risolte le discrepanze, il valore predittivo positivo per il reagente **rubagen** è stato del 99% e quello negativo del 100%.

Per uno studio comparativo tra il **rubagen** e altri due reagenti commerciali di agglutinazione di lattice si sono utilizzati 19 sieri classificati come negativi (< 10 UI/ml) o equivoci (10-15 UI/ml), 34 positivi (> 15 UI/ml) e 10 positivi IgM secondo una tecnica di EIA. I campioni sono stati controllati seguendo le istruzioni di ogni fabbricante. Il **rubagen** (10 UI/ml di determinazione) è stato il kit più sensibile dato che ha rilevato tutti i campioni equivoci per EIA (10/10) e 4 campioni negativi (7-10 UI/ml). Il secondo reagente di lattice (10 UI/ml di rilevamento) ha rilevato 9/10 dei campioni equivoci e 2 campioni negativi (8 UI/ml). Il terzo reagente di lattice (3 UI/ml di rilevamento) ha rilevato 6/10 dei campioni equivoci e 2 campioni negativi (8 UI/ml). I 34 campioni positivi con risultati di EIA tra 15 e 200 UI/ml hanno dato positivo con i tre reagenti, tranne 2 campioni di siero che hanno dato negativo con il terzo reagente. Questo reagente non ha rilevato 4/10 dei sieri (> 200 UI/ml) per un effetto prozona. È stato effettuato un controllo anche su 10 campioni di siero positivi di IgM; il **rubagen** e il secondo reagente hanno rilevato 9 campioni, con il 10 si è invece osservato un effetto prozona con entrambi i reagenti. Con il terzo reagente si è osservato un effetto prozona con 4 dei campioni.

## Conservazione

Tutti i reagenti sono stabili fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta, se conservati a 2-8°C. Non congelare.

## Materiale necessario non incluso

Provette, pipette automatiche, rotatore, bastoncini miscelatori e cronometro.

## Raccolta dei campioni

Usare siero fresco. I campioni possono essere conservati a 2-8°C per non più di 8 giorni. Per tempi più lunghi devono essere congelati (-20°C).

Per la diagnosi di un'infezione acuta da virus della rosolia sono necessari due campioni di siero (in fase acuta e convalescente). Il primo campione va prelevato subito dopo l'apparizione dell'esantema o l'esposizione al virus, l'altro 1-3 settimane dopo. I due sieri devono essere analizzati contemporaneamente con il test quantitativo (7).

Per l'analisi qualitativa dello stato immunitario del soggetto basta un unico campione.

## Procedura

Controllo di qualità: Prima di eseguire una serie di determinazioni, si consiglia di controllare il reagente con i controlli forniti con il kit. Entrambi i controlli vanno usati seguendo le operazioni descritte per il TEST QUALITATIVO, senza però diluirli in quanto lo sono già. La reazione del controllo positivo con il reagente dovrebbe mostrare una chiara agglutinazione, diversa dall'aspetto uniforme del controllo negativo. Se non si ottiene questo risultato, scartare il kit.

Per garantire la dispensazione di gocce di corretto volume, asciugare il contagocce con carta assorbente prima dell'uso. Per una corretta erogazione, i gocciolatori dei reagenti e dei controlli devono essere mantenuti in posizione verticale.

## TEST QUALITATIVO

- Portare tutti i reagenti a temperatura ambiente.
- Diluire il siero nella soluzione tampone e mescolare bene. La seguente tabella mostra le varie diluizioni del siero da preparare in base alla sensibilità del reattivo lattice, specificata sulla scatola.

Livello di sensibilità di 10 UI/ml		
Sensibilità del lattice	Diluizione	
2,5 UI/ml	1:4	(50 µl siero + 150 µl tampone)
2,0 UI/ml	1:5	(50 µl siero + 200 µl tampone)
1,5 UI/ml	1:6,7	(50 µl siero + 285 µl tampone)

- Dosare 25 µl di siero diluito (o una goccia di controllo) su una sezione del vetrino.
- Agitare il flacone di reagente e aggiungerne una goccia accanto a quella del siero diluito.
- Miscelare entrambe le gocce con un bastoncino coprendo l'intera superficie della sezione del vetrino.
- Roteare il vetrino manualmente oppure in un agitatore automatico (80-100 rpm) per 8 minuti.
- Controllare la presenza o l'assenza di agglutinazione.

## Lettura dei risultati

REAZIONI POSITIVE: Presenza di agglutinazione.

- 3+ Aggregati grandi su fondo trasparente.
- 2+ Aggregati moderati su fondo leggermente opaco.
- 1+ Aggregati fini su fondo opaco.

REAZIONI NEGATIVE:

Assenza di agglutinazione, sospensione omogenea.

## Interpretazione dei risultati

La presenza di agglutinazione indica l'esistenza di anticorpi antirosolia nel siero. Ciò significa che vi è stata un'esposizione previa al virus e che l'individuo è immune.

L'assenza di agglutinazione indica che non esistono anticorpi antirosolia nel siero oppure che sono presenti in percentuale inferiore o non rilevabile. L'individuo può essere infettato o reinfettato dal virus.

Nel caso delle gestanti, specialmente nel primo trimestre di gravidanza, si raccomanda di ripetere il test dopo un mese per rilevare un'eventuale seroconversione.

## TEST QUANTITATIVO

- Dosificare 25 µl del tampón de dilución en cada una de las secciones 1 a 8 del portaobjetos.
- Dosificar con una pipeta automática 25 µl de la dilución del suero realizada en el test cualitativo, en la sección 1 del portaobjetos.
- Con la misma pipeta aspirar y expulsar varias veces el suero y el tampón de dilución contenidos en la sección 1 hasta lograr una buena mezcla.
- Tomar 25 µl de la mezcla realizada en la sección 1 y transferirlos a la sección 2.
- Realizar las mismas operaciones descritas anteriormente para lograr la mezcla correcta de los reactivos hasta la sección 8 y desechar entonces 25 µl.
- Comprobar cada dilución como está descrito en el apartado TEST CUALITATIVO.

## Interpretación de los resultados

El título aproximado corresponderá al de la dilución más alta del suero que aún presente aglutinación claramente visible. Si se desea expresar el título en UI/ml deberá multiplicarse el inverso de la última dilución positiva por la sensibilidad del reactivo, la cual se especifica en el exterior de la caja. La sensibilidad del reactivo ha sido determinada frente al 1er Estándar Internacional de la OMS.

- p.e. - Sensibilidad reactivo látex: 2 UI/ml.
- Última dilución positiva: 1:20.
- Título: 20 x 2 UI/ml = 40 UI/ml.

El diagnóstico de infección aguda de rubéola debe confirmarse serológicamente por la presencia de anticuerpos IgM específicos o comparando el título de anticuerpos entre dos muestras pareadas de suero. La primera muestra de suero debe ser recogida lo antes posible después de la aparición del exantema o de la exposición al virus, mientras que la segunda debe ser recogida de 1 a 3 semanas más tarde. Un aumento de 4 diluciones dobles o más del título, entre la primera muestra y la segunda muestra se considera diagnóstico de infección aguda por el virus de la rubéola (2-4). Se puede observar también seroconversión después de la vacunación.

## Limitaciones del procedimiento

- Los resultados obtenidos con **rubagen** deben ser evaluados por el facultativo junto con el cuadro clínico que muestre el paciente.
- Los dos sueros de fase aguda y convaleciente deben ser analizados al mismo tiempo. La ausencia de un aumento de 4 diluciones en el título no excluye la posibilidad de una infección.
- En una evaluación, se observó efecto de prozona con un suero positivo fuerte de IgM. Si se sospecha esta posibilidad, la prueba debe repetirse utilizando una dilución 1:20 del suero.

## Valores previstos

Los anticuerpos contra la infección natural o el virus de la vacuna son prevalentes en un 80% de los adultos jóvenes. Los adultos no suelen afectarse de rubéola, pero las mujeres en edad fértil pueden adquirir la infección primaria de rubéola a través del contacto con niños (3).

Los datos de prevalencia publicados para la rubéola varían dependiendo del país. Una revisión realizada en un estudio indica datos de seroprevalencia para la rubéola en mujeres en edad fértil que varían desde un 81,1% (Corea), 83,9% (Camerún), 89,6% (España) a 94,3% (Suiza) (10).

## Características funcionales

La sensibilidad y especificidad del **rubagen** se estudió por comparación con unos Enzaimunoensayos de micropartículas (MEIA) comercializados para la detección de IgG e IgM, usando un panel de 77 muestras positivas para anticuerpos IgG, 16 muestras positivas para anticuerpos IgG e IgM y 69 muestras negativas. La sensibilidad relativa fue del 100%, las 93 muestras positivas fueron también positivas con el reactivo látex. La especificidad relativa fue del 76,8% (53/69). Las 16 muestras discrepantes se comprobaron con un ensayo cuantitativo comercializado que detectó 8 de las muestras como positivas, 7 como "dudosas" (6-9 UI/ml), y 1 muestra como negativa. Eliminando las muestras con resultado indeterminado de los cálculos, la especificidad relativa del reactivo fue del 98,1%. Una vez resueltas las discrepancias, el valor predictivo positivo para el reactivo **rubagen** fue del 99% y el valor predictivo negativo fue del 100%.

Se realizó un estudio comparativo entre **rubagen** y otros dos reactivos comercializados de aglutinación de látex utilizando 19 sueros clasificados como negativos (< 10 UI/ml) o equívocos (10-15 UI/ml), 34 positivos (> 15 UI/ml) y 10 positivos de IgM por una técnica de EIA. Las muestras se comprobaron siguiendo las instrucciones de cada fabricante. **rubagen** (10 UI/ml de detección) fue el kit más sensible detectando todas las muestras equívocas por EIA (10/10) y 4 muestras negativas (7-10 UI/ml). El segundo reactivo de látex (10 UI/ml de detección) detectó 9/10 de las muestras equívocas y 2 muestras negativas (8 UI/ml). El tercer reactivo de látex (3 UI/ml de detección) detectó 6/10 de las muestras equívocas y 2 muestras negativas (8 UI/ml). Las 34 muestras positivas con resultados de EIA entre 15 y 200 UI/ml fueron positivas con los tres reactivos, excepto 2 muestras de suero que fueron negativas con el tercer reactivo. Este reactivo no detectó 4/10 sueros (> 200 UI/ml) debido a un efecto de prozona. Se comprobaron también 10 muestras de suero positivas de IgM; **rubagen** y el segundo reactivo detectaron 9 de las muestras en tanto que una de las muestras mostró efecto de prozona con ambos reactivos. El tercer reactivo mostró efecto de prozona con 4 de las muestras.

En una evaluación externa de varios kits para la detección de anticuerpos antirubéola, se comprobaron 125 muestras previamente caracterizadas. Las 95 muestras negativas lo fueron también con **rubagen**. Las 35 muestras positivas, 20 clasificadas como positivas "débiles" (15-40 UI/ml) y 10 clasificadas como positivas "fuertes" (> 500 UI/ml), fueron también positivas con este kit. 5 paneles de seroconversión de personas vacunadas, cada uno con 4 muestras consecutivas obtenidas una antes de la vacunación y tres después de la misma, se comprobaron con **rubagen** y se detectaron correctamente.

En otro estudio **rubagen** detectó con exactitud la seroconversión de 10 pares de sueros procedentes de individuos con infección natural y de 4 pares de sueros procedentes de personas que habían sido vacunadas. Todos los pares mostraron un aumento de título de como mínimo 4 diluciones dobles.

#### Precisión

Se cuantificaron 10 sueros tres veces en distintos días. Los resultados indican que la reproducibilidad del reactivo ( $\pm$  una dilución) fue del 100%.

## Bibliografía

Ver "References" del texto inglés.

## rubagen

### Test rapido di agglutinazione di particelle di lattice su vetrino per la determinazione qualitativa e quantitativa in siero degli anticorpi antirosolia.

## Sommario

La rosolia è un'infezione virale benigna che può colpire bambini e adulti. Se però si contrae la malattia durante i primi tre mesi di gravidanza, il virus può infettare il feto attraverso la placenta causando una vasta gamma di anomalie chiamate "sindrome da rosolia congenita". Tra le conseguenze di un'infezione da virus della rosolia durante la gravidanza ci sono anche l'aborto spontaneo e la morte fetale (1-3).

Il vaccino a base di virus di rosolia attenuati ha ridotto notevolmente l'incidenza di questa infezione naturale. Si consiglia comunque di effettuare la determinazione degli anticorpi antirosolia per tutte le donne in età fertile in modo da individuare quelle non immuni e provvedere alla loro vaccinazione (4-5).

Per molti anni la determinazione dello stato immunitario è stata eseguita mediante vari metodi sierologici principalmente mediante il test di inibizione dell'emoagglutinazione (IHA) (6-8). Tuttavia, in confronto al metodo IHA, la prova dell'agglutinazione di particelle di lattice è più veloce e facile da realizzare. La sensibilità del **rubagen** è perfettamente analoga a quella del metodo IHA.

## Principio

Il reagente **rubagen** è una sospensione di particelle di lattice di polistirene di dimensioni omogenee, sensibilizzate con l'antigene solubile della rosolia inattivato. Le particelle di lattice evidenziano la reazione antigene-anticorpo. Se, a causa della presenza nel siero di anticorpi antirosolia, si verifica tale reazione, la sospensione di lattice perde il suo aspetto omogeneo e si osserva una chiara agglutinazione.

Quando si miscela il reagente lattice con il siero, se il siero contiene più di 10 UI/ml di anticorpi antirosolia si verifica una chiara agglutinazione. I risultati sono espressi in UI/ml d'anticorpi totali antirosolia rispetto al Standard Internazionale dell'OMS (1970).

## Componenti

**REF** 3000-4001.

a) **REAG** Reattivo lattice: 1 x 1,7 ml.

Sospensione di particelle di lattice di polistirene sensibilizzate con l'antigene del virus della rosolia in soluzione tampone. Contiene < 0,1% di sodio azide.

b) **CONTROL +** Controllo positivo: 1 x 1,0 ml.

Siero umano positivo diluito, pronto all'uso. Contiene < 0,1% di sodio azide.

c) **CONTROL -** Controllo negativo: 1 x 1,0 ml.

Siero umano negativo diluito, pronto all'uso. Contiene < 0,1% di sodio azide.

d) **DIL** Tampone di diluizione: 1 x 50 ml.

Tampone fosfato salino contenendo albumina di siero bovino. Contiene < 0,1% di sodio azide.

e) **SLIDES** Vetrini monouso: 1 x 13 sezioni.

## Precauzioni

**rubagen** è per uso diagnostico IN VITRO.

La sodio azide può reagire a contatto con tubature e scarichi in piombo o in rame, formando azidi metalliche altamente esplosive. Far scorrere acqua in abbondanza quando si gettano i residui dei reagenti.

Tutto il materiale di origine umana utilizzato nella preparazione di questo prodotto è risultato negativo per anticorpi del virus HIV-1/HIV-2 come pure per l'antigene di superficie dell'epatite B, usando metodi approvati dalla Food and Drug Administration (USA).

ATTENZIONE: MATERIALE POTENZIALMENTE BIOPERICOLOSO.

Poiché nessun metodo può offrire la totale sicurezza dell'assenza di agenti infettivi, questo prodotto deve essere manipolato con precauzione (9).

Depositare tutti i materiali utilizzati in recipienti idonei per materiale biocontaminante.

#### **Classe di pericolo**

Non classificato.

#### **Indicazioni di pericolo**

Nessuna.

#### **Consigli di prudenza**

P280: Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.

P305+351+338: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.



Dans une analyse externe portant sur plusieurs coffrets pour la détection d'anticorps rubéoleux, 125 échantillons préalablement caractérisés ont été vérifiés. Les 95 échantillons négatifs ont également donné des résultats négatifs avec du **rubagen**. Les 35 échantillons positifs, 20 classés "faiblement" positifs (15-40 UI/ml) et 10 "fortement" positifs (> 500 UI/ml), ont également donné des résultats positifs avec ce coffret. 5 panels de séroconversion de personnes vaccinées, de 4 échantillons consécutifs chacun, obtenus l'un avant la vaccination et les 3 autres après, ont été vérifiés avec du **rubagen** et détectés correctement.

Dans une autre étude, le **rubagen** a détecté avec exactitude les séroconversions de 10 paires de sérums provenant de personnes ayant une infection naturelle et de 4 autres paires provenant de personnes qui avaient été vaccinées. Toutes les paires ont montré une augmentation de titre d'au moins 4 dilutions doubles.

#### Précision

10 sérums ont été quantifiés trois fois à différents jours. Les résultats indiquent que la reproductibilité du réactif, à une dilution près, a été de 100%.

## Bibliographie

Voir "References" de la version anglaise.

## rubagen

### Schnelltest auf Objektträger durch Agglutination von Latexpartikeln zur qualitativen und quantitativen Bestimmung von Rötelnvirus-Antikörpern in Serum.

#### Zusammenfassung

Röteln ist eine harmlose Virusinfektion, die Kinder und Erwachsene befallen kann. Wenn die Ansteckung jedoch in den ersten drei Monaten der Schwangerschaft erfolgt, kann das Virus über die Plazenta den Fötus infizieren und zahlreiche ernsthafte Anomalien hervorrufen, die unter dem Begriff "kongenitales Rötelnvirus-Syndrom" bekannt sind. Mögliche Folgen einer Rötelninfektion während der Schwangerschaft können u.a. Spontanabort und der Tod des Fötus sein (1-3). Die Verfügbarkeit einer aus attenuierten Rötelnviren bestehenden Impfung hat zu einem deutlichen Rückgang der Inzidenz der natürlichen Infektion geführt. Es wird jedoch empfohlen, eine Bestimmung der Rötelnvirus-Antikörper bei allen Frauen im zeugungsfähigen Alter durchzuführen, um eine Impfung der nicht-immunen Frauen sicherstellen zu können (4-5). Jahrelang wurde die Bestimmung der Immunlage mit unterschiedlichen serologischen Methoden durchgeführt, insbesondere mit dem Hämagglutinationshemmungstest (HAH) (6-8). Die Durchführung des Latexpartikel-Agglutinationstests ist jedoch schneller und einfacher als der HAH-Test. Die Sensitivität von **rubagen** weist eine perfekte Korrelation mit dem HAH-Test auf.

#### Prinzip

Das **rubagen**-Reagenz ist eine Suspension aus Polystyren-Latexpartikeln in gleichmäßiger Größe, die mit löslichem Antigen des inaktivierten Rötelnvirus beschichtet ist. Die Latexpartikel erlauben eine optische Erkennung der Antigen-Antikörper-Reaktion. Wenn diese Reaktion aufgrund der Anwesenheit von Rötelnvirus-Antikörpern in der Probe stattfindet, verliert die Latexsuspension ihr homogenes Aussehen und eine klare Agglutination wird sichtbar. Wenn das Latex-Reagenz mit dem Serum gemischt wird und dieses mehr als 10 IE/ml Rötelnvirus-Antikörper enthält, entsteht eine klare Agglutination. Die Ergebnisse werden, gemäß des Internationalen Standard der WHO (1970), in IE/ml der Gesamtzahl Rötelnvirus-Antikörper angegeben.

#### Bestandteile

**REF** 3000-4001.

- a) **REAG** Latex Reagenz: 1 x 1,7 ml.  
Mit Antigen des Rötelnvirus beschichtete Suspension von Polystyren-Latexpartikeln in Puffer. Enthält < 0,1% Natriumazid.
- b) **CONTROL** + Positiv Kontrolle: 1 x 1,0 ml.  
Verdünntes, positives Humanserum. Gebrauchsfertig. Enthält < 0,1% Natriumazid.
- c) **CONTROL** - Negativ Kontrolle: 1 x 1,0 ml.  
Verdünntes, negatives Humanserum. Gebrauchsfertig. Enthält < 0,1% Natriumazid.
- d) **DIL** Verdünnungspuffer: 1 x 50 ml.  
Phosphatgepufferte Kochsalzlösung, die Rinderserum Albumin enthält. Enthält < 0,1% Natriumazid.
- e) **SLIDES** Einmal-Objektträger: 1 x 13 Einheiten.

#### Vorsichtsmaßnahmen

**rubagen** ist ausschließlich für die IN VITRO-Diagnostik bestimmt. Natriumazid kann auf Blei- oder Kupfer-Rohrleitungen und -Abflüsse reagieren und zu hochexplosiven Metallaziden führen. Beim Entfernen der Reagenzreste muss mit genügend Wasser nachgespült werden. Das gesamte zur Herstellung dieser Reagenzien verwendete Humanmaterial wurde mit einer von der FDA anerkannten Methode auf HBsAg, HIV 1/2 und HCV Antikörper untersucht und für negativ befunden. ACHTUNG: BIOLOGISCH GEFÄHRLICHES MATERIAL. Da kein Nachweisverfahren die Abwesenheit von infektiösen Agenzien garantieren kann, ist dieses Produkt mit entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen zu handhaben (9). Alle benutzten Materialien sind separat in Behältern für biologische Abfälle zu entsorgen.

#### Gefahrenklasse

Nicht eingestuft.

#### Gefahrenhinweise

Keine.

#### Sicherheitshinweise

P280: Schutzhandschuhe / Schutzkleidung / Augenschutz / Gesichtsschutz tragen.

P305+351+338: BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.

## Lagerung

Bei einer Lagerungstemperatur von 2-8°C bleiben Reagenz und Kontrollen bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar. Nicht einfrieren.

## Notwendiges, nicht mitgeliefertes Material

Teströhrchen, Automatik-Pipetten, Rotator, Rührstäbchen und Stoppuhr.

## Probenmaterial

Frisches Serum benutzen. Die Seren sind bei 2-8°C zu lagern. Bei Lagerung über 8 Tagen sollten die Proben bei -20°C eingefroren werden.

Für die Diagnose einer akuten Infektion mit dem Rötelnvirus werden zwei Serumproben entnommen (von der akuten und der rekonvaleszenten Phase). Die erste Probe muss so schnell wie möglich nach dem Erscheinen des Exanthems bzw. der Virusansteckung entnommen werden und die zweite 1 bis 3 Wochen später. Beide Seren müssen simultan mit einem quantitativen Test (7) getestet werden.

Für die qualitative Analyse der Immunlage des Individuums ist eine Probe ausreichend.

## Durchführung

Qualitätskontrolle: Vor Durchführung der verschiedenen Bestimmungsstufen sollte eine Überprüfung des Reagenzes mit jeder der im Kit enthaltenen Kontrollen vorgenommen werden. Beide Kontrollen müssen entsprechend der im Abschnitt QUALITATIVE BESTIMMUNG aufgeführten Schritte durchgeführt werden, jedoch ohne Verdünnung, da sie bereits vorverdünnt sind. Die Reaktion zwischen Positiv-Kontrolle und Reagenz muss eine klare Agglutination zeigen, die sich von dem homogenen Aussehen der Negativ-Kontrolle unterscheidet. Andernfalls darf der Kit nicht verwendet werden.

Um ein korrektes Volumen des Tropfens zu gewährleisten, trocknen Sie bitte die jeweilige Spitze vor Gebrauch mit saugfähigem Papier. Für die richtige Dosierung müssen Reagenz- und Kontroll-Tropfer jeweils senkrecht gehalten werden.

## QUALITATIVE BESTIMMUNG

- Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur bringen.
- Serum in Verdünnungspuffer verdünnen und gut mischen: In der nachfolgenden Tabelle sind die verschiedenen Serumverdünnungen angegeben, die je nach Sensitivität des Latexreagenz, die außen auf der Verpackung vermerkt ist, verwendet werden müssen.

Sensitivität bei 10 IE/ml		
Latexsensitivität	Verdünnung	
2,5 IE/ml	1:4	(50 µl Serum + 150 µl Puffer)
2,0 IE/ml	1:5	(50 µl Serum + 200 µl Puffer)
1,5 IE/ml	1:6,7	(50 µl Serum + 285 µl Puffer)

- 25 µl der Serumverdünnung (oder 1 Tropfen der Kontrolle) auf ein Testfeld des Objektträgers geben.
- Die Reagenzflasche schütteln und einen Tropfen Reagenz neben den Tropfen der Serumverdünnung geben.
- Beide Tropfen mit einem Stäbchen gut mischen und auf der ganzen Testfeldoberfläche verteilen.
- Objektträger leicht per Hand oder auf dem Rotator (80-100 UPM) während 8 Minuten schwenken.
- Danach Agglutination ablesen.

## Ablesung der Ergebnisse

POSITIVE ERGEBNISSE: Anwesenheit von Agglutination.

- 3+ Große Aggregate auf durchsichtigem Hintergrund.
- 2+ Mittlere Aggregate auf leichtrübem Hintergrund.
- 1+ Feine Aggregate auf trübem Hintergrund.

NEGATIVE ERGEBNISSE:

Abwesenheit von Agglutination, homogene Suspension.

## Auswertung der Ergebnisse

Die Anwesenheit von Agglutination ist ein Hinweis auf das Vorliegen von Rötelnvirus-Antikörpern im Serum. Das bedeutet, dass zuvor eine Ansteckung stattgefunden hat und die Person gegen das Virus immunisiert ist.

Die Abwesenheit von Agglutination zeigt an, dass keine Rötelnvirus-Antikörper im Serum enthalten sind oder, dass ihre Anwesenheit sich im Bereich geringer bzw. nicht feststellbarer Mengen bewegt. Das Individuum kann anfällig für eine Infektion oder Wiederinfektion durch das Virus sein.

## TEST QUANTITATIF

- Déposer 25 µl de tampon de dilution sur les sections 1 à 8 de la lame.
- Déposer, à l'aide d'une pipette automatique, 25 µl de la dilution du sérum effectuée dans le test qualitatif, sur la section 1 de la lame.
- Avec la même pipette, en aspirant et en expulsant plusieurs fois, mélanger l'échantillon et le tampon de dilution de la section 1.
- Prélever 25 µl de la dilution obtenue dans la section 1 et les transférer dans la section 2.
- Répéter l'étape antérieure et suivre de suite jusqu'à la section 8, prélever 25 µl et les jeter.
- Analyser chaque dilution selon il est décrit dans la section TEST QUALITATIF.

## Interprétation des résultats

Le titre approximatif est celui de la dilution de sérum la plus élevée présentant encore une agglutination nettement visible. Le titre exprimé en UI/ml est obtenu en multipliant le seuil de sensibilité du réactif indiqué sur le coffret par l'inverse de la dernière dilution donnant une réaction positive. La sensibilité du réactif a été déterminée par rapport au 1er Etalon International de l'OMS.

- Exemple:
- Seuil de sensibilité réactif latex: 2 UI/ml.
  - Dernière dilution positive: 1:20.
  - Titre: 20 x 2 UI/ml = 40 UI/ml.

Le diagnostic d'une infection récente par le virus de la rubéole doit être confirmé sérologiquement par la présence d'anticorps IgM spécifiques ou en comparant le titre d'anticorps d'une paire d'échantillons de sérum. Le premier sérum doit être prélevé aussitôt que possible après l'apparition de l'exanthème ou l'exposition au virus, alors que le second doit l'être 1 à 3 semaines plus tard. Une augmentation de quatre dilutions ou plus du titre des anticorps entre le premier et le second prélèvement permet de diagnostiquer une infection récente par le virus de la rubéole (2-4). Une séroconversion peut aussi avoir lieu après vaccination.

## Limites de la procédure

- Le médecin évaluera les résultats obtenus avec du **rubagen** en même temps que le bilan clinique du patient.
- Les deux sérums de phase aiguë et phase convalescente seront analysés en même temps. L'absence d'une augmentation de quatre dilutions dans le titre n'exclut pas la possibilité d'une infection par le virus.
- Une analyse a mis en évidence un effet de prozone avec un sérum fortement positif à l'IgM. Si cette possibilité est suspectée, répéter le test avec une dilution 1:20 du sérum.

## Valeurs attendues

La prévalence des anticorps contre l'infection naturelle ou le virus du vaccin est rapportée chez 80% des jeunes adultes. Les adultes ne sont généralement pas infectés par le virus de la rubéole, mais les femmes en âge d'avoir des enfants peuvent acquérir l'infection primaire au contact des enfants (3).

Pour la rubéole, les données de prévalence publiées varient en fonction des pays. Une révision réalisée lors d'une étude indique des données de séroprévalence pour la rubéole chez les femmes en âge d'avoir des enfants qui vont de 81,1% (Corée), 83,9% (Cameroun), 89,6% (Espagne) à 94,3% (Suisse) (10).

## Caractéristiques fonctionnelles

La sensibilité et la spécificité du **rubagen** ont été comparées à celles d'un enzymo-immunotest de microparticules (MEIA) commercialisé pour la détection d'IgG et d'IgM, en utilisant un panel de 77 échantillons positifs pour les anticorps IgG, 16 échantillons positifs pour les anticorps IgG et IgM et 69 échantillons négatifs. La sensibilité relative a été de 100%, les 93 échantillons positifs ont également donné des résultats positifs avec le réactif latex. La spécificité relative a été de 76,8% (53/69). Les 16 échantillons discordants ont été vérifiés avec un test quantitatif commercialisé qui a détecté que 8 échantillons étaient positifs, 7 "douteux" (6-9 UI/ml) et 1 négatif. En éliminant des calculs les échantillons donnant un résultat indéterminé, la spécificité relative du réactif a été de 98,1%. Après avoir résolu les discordances, la valeur prédictive positive pour le réactif **rubagen** a été de 99% et la valeur prédictive négative de 100%.

Une étude comparative entre le **rubagen** et deux autres réactifs commercialisés d'agglutination de latex a été réalisée en utilisant 19 sérums classés comme négatifs (< 10 UI/ml) ou équivoques (10-15 UI/ml), 34 positifs (> 15 UI/ml) et 10 positifs à l'IgM en appliquant une technique d'EIA. Les échantillons ont été comparés en suivant les instructions de chaque fabricant. Le **rubagen** (10 UI/ml de détection) a été le plus sensible en détectant tous les échantillons équivoques par l'EIA (10/10) et 4 échantillons négatifs (7-10 UI/ml). Le deuxième réactif de latex (10 UI/ml de détection) a détecté 9 échantillons équivoques sur 10 et 2 échantillons négatifs (8 UI/ml). Le troisième réactif de latex (3 UI/ml de détection) a détecté 6 échantillons équivoques sur 10 et 2 échantillons négatifs (8 UI/ml). Les 34 échantillons positifs ayant donné des résultats d'EIA compris entre 15 et 200 UI/ml ont été positifs avec les trois réactifs, sauf 2 échantillons de sérum qui ont donné des résultats négatifs avec le troisième réactif. Ce réactif n'a pas détecté 4 sérums sur 10 (> 200 UI/ml) à cause d'un effet de prozone. 10 échantillons de sérum positifs à l'IgM ont également été vérifiés; le **rubagen** et le deuxième réactif ont détecté 9 échantillons, le 10<sup>e</sup> ayant révélé un effet de prozone avec les deux réactifs. Le troisième réactif a révélé un effet de prozone avec 4 échantillons.

## Conservation

Les réactifs resteront stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, à condition d'être conservés à 2-8°C. Ne pas congeler.

## Matériel nécessaire non fourni

Tubes à essai, pipettes automatiques, agitateur rotatif, bâtonnets et chronomètre.

## Prélèvement de l'échantillon

Utiliser du sérum frais. Les échantillons peuvent être conservés à 2-8°C pendant 8 jours. Pour des périodes plus longues, les échantillons doivent être congelés (-20°C).

Pour le diagnostic d'une infection récente par le virus de la rubéole, deux sérums doivent être testés (phase aiguë et phase convalescente). Le premier échantillon doit être prélevé aussitôt que possible après l'apparition de l'exanthème ou l'exposition au virus, le second devant être obtenu 1 à 3 semaines plus tard. Les deux sérums doivent être testés simultanément en utilisant la technique quantitative (7).

Pour l'étude qualitative de l'état d'immunité du patient, il suffit d'un prélèvement.

## Procédure

Contrôle de qualité: avant de réaliser une série de déterminations, il est conseillé de tester le réactif avec chaque contrôle, inclus dans le coffret. Les deux contrôles seront utilisés selon les étapes décrites dans le TEST QUALITATIF, mais sans faire de dilution car ils sont déjà dilués. La réaction entre le contrôle positif et le réactif doit donner une agglutination nette différente de l'apparence uniforme du contrôle négatif. Si les résultats attendus ne sont pas obtenus, ne pas utiliser le coffret.

Pour assurer le volume correct des gouttes, sécher le compte-gouttes avec du papier absorbant avant de l'utiliser. Pour un dosage correct, les goutteurs des réactifs et des contrôles doivent être maintenus en position verticale.

## TEST QUALITATIF

- Attendre que les réactifs atteignent la température ambiante.
  - Diluer le sérum dans le tampon de dilution et mélanger bien.
- La table suivante montre les différentes dilutions du sérum qui doivent être effectuées suivant le seuil de sensibilité du réactif latex, qui est spécifié à l'extérieur du coffret.

Niveau de sensibilité de 10 UI/ml		
Sensibilité du latex	Dilution	
2,5 UI/ml	1:4	(50 µl sérum + 150 µl tampon)
2,0 UI/ml	1:5	(50 µl sérum + 200 µl tampon)
1,5 UI/ml	1:6,7	(50 µl sérum + 285 µl tampon)

- Déposer 25 µl de sérum dilué (ou une goutte de contrôle) sur une des sections de la lame.
- Agiter le flacon de réactif et ajouter une goutte de réactif à côté de la goutte de sérum dilué.
- Mélanger les deux gouttes avec un bâtonnet en recouvrant toute la surface de la section de la lame.
- Agiter la lame avec un léger mouvement de rotation, manuellement ou à l'aide d'un agitateur rotatif (80-100 tpm) pendant 8 minutes.
- Vérifier la présence ou l'absence d'agglutination.

## Lecture des résultats

RÉACTIONS POSITIVES: Présence d'agglutination.

3+ Grands agrégats sur fond transparent.  
2+ Agrégats modérés sur fond légèrement opaque.  
1+ Agrégats fins sur fond opaque.

RÉACTIONS NÉGATIVES:

Absence d'agglutination, suspension uniforme.

## Interprétation des résultats

La présence d'agglutination indique l'existence d'anticorps rubéoleux dans le sérum. Ceci indique une exposition antérieure au virus et une immunisation de l'individu contre celui-ci.

L'absence d'agglutination indique la non-existence d'anticorps rubéoleux dans le sérum ou leur présence à un taux très faible ou non détectable. Dans ce cas, le patient peut être infecté ou réinfecté par le virus.

Chez les femmes enceintes, spécialement lors du premier trimestre, il est recommandé de refaire le test un mois plus tard afin de détecter une éventuelle séroconversion.

Bei schwangeren Frauen, insbesondere in den ersten drei Monaten, wird empfohlen, den Test einen Monat später zu wiederholen, um eine mögliche Serumkonversion festzustellen.

## QUANTITATIVE BESTIMMUNG

- Je 25 µl Verdünnungspuffer auf die Testfelder 1 bis 8 des Objektträgers geben.
- Mit einer Automatik-Pipette 25 µl der für die qualitative Bestimmung vorbereiteten Serumverdünnung auf das Testfeld 1 des Objektträgers geben.
- Mit derselben Pipette Serum und Verdünnungspuffer auf Testfeld 1 mehrmals aufziehen und abgeben, bis beide gut vermischt sind.
- 25 µl der Mischung von Testfeld 1 nehmen und auf Testfeld 2 überführen.
- Die beschriebenen Schritte bis Testfeld 8 wiederholen, damit die richtige Mischung der Reagenzien entsteht. Nach Testfeld 8 müssen 25 µl der Mischung verworfen werden.
- Jede Verdünnung so bewerten, wie im Kapitel QUALITATIVE BESTIMMUNG beschrieben.

## Auswertung der Ergebnisse

Der approximative Titer des Serums entspricht der höchsten Serumverdünnung, die noch eine klar sichtbare Agglutination zeigt. Wenn der Titer in IE/ml angegeben werden soll, muss der reziproke Wert der letzten positiven Verdünnung mit der außen auf der Verpackung angegebenen Sensitivität des Reagenzes multipliziert werden. Die Sensitivität des Reagenzes ist gemäß dem 1. Internationalen Standard der WHO festgelegt worden.

- z.B. - Sensitivität des Latexreagenz: 2 IE/ml.
- Letzte positive Verdünnung: 1:20.
- Titer: 20 x 2 IE/ml = 40 IE/ml.

Die Diagnose einer akuten Rötelninfektion muss serologisch durch die Anwesenheit spezifischer IgM-Antikörper oder durch den Vergleich der Antikörper-Titer von zwei gepaarten Serumproben bestätigt werden. Die erste Serumprobe muss so schnell wie möglich nach dem Erscheinen des Exanthems bzw. der Virusansteckung entnommen werden und die zweite 1 bis 3 Wochen später. Ein 4-facher oder höherer Anstieg des Titers zwischen der ersten und der zweiten Probe ist als Diagnose einer akuten Infektion durch das Rötelnvirus zu bewerten (2-4).

Nach der Impfung kann sich ebenfalls eine Serumkonversion einstellen.

## Begrenzung der Methode

- Die mit **rubagen** erhaltenen Ergebnisse muss der Arzt im Zusammenhang mit den klinischen Symptomen des Patienten beurteilen.
- Die zwei Seren der akuten und rekonvaleszenten Phase müssen gleichzeitig analysiert werden. Die Abwesenheit eines 4-fachen Anstiegs des Titers schließt nicht die Möglichkeit einer Infektion aus.
- In einer Studie wurde ein Prozoneneffekt in einer für IgM starken positiven Probe beobachtet. Wenn der Verdacht auf diese Möglichkeit besteht, sollte der Test mit einer 1:20 Verdünnung des Serums wiederholt werden.

## Erwartete Werte

Antikörper gegen die natürliche Infektion oder gegen das Impfvirus sind in 80% der jungen Erwachsenen prävalent. Eine Rötelninfektion kommt bei Erwachsenen selten vor. Frauen in zeugungsfähigem Alter können jedoch durch den Kontakt mit Kindern mit einer primären Rötelninfektion angesteckt werden (3).

Die veröffentlichten Röteln-Prävalenzdaten sind je nach Land unterschiedlich. In einer Revisionstudie schwankten die Seroprävalenzdaten für Röteln bei Frauen in zeugungsfähigem Alter zwischen 81,1% (Korea), 83,9% (Kamerun), 89,6% (Spanien) und 94,3% (Schweiz) (10).

## Charakteristika des Tests

Die Sensitivität und Spezifität von **rubagen** wurde in einer Vergleichsstudie mit einem zur Bestimmung des IgG und IgM kommerzialisierten Mikropartikel-Enzymimmunoassay (MEIA) untersucht, wobei ein Panel mit 77 für IgG-Antikörper positive Proben, 16 für IgG- und IgM-Antikörper positive Proben und 69 negative Proben verwendet wurde. Die relative Sensitivität betrug 100%, die 93 positiven Proben waren auch mit dem Latexreagenz positiv. Die relative Spezifität betrug 76,8% (53/69). Die 16 abweichenden Proben wurden mit einem kommerziellen quantitativen Test untersucht, mit dem 8 der Proben als positiv, 7 als "zweifelhaft" (6-9 IE/ml) und 1 als negativ bestimmt wurden. Wenn die Proben mit einem zweifelhaften Ergebnis von der Berechnung ausgeschlossen wurden, erhielt man eine relative Spezifität des Reagenzes von 98,1%. Nach Abklärung der Diskrepanzen betrug der positive Vorhersagewert für das Reagenz **rubagen** 99% und der negative Vorhersagewert 100%.

Es wurde eine Vergleichsstudie mit **rubagen** und zwei anderen kommerzialisierten Latexagglutinationsreagenzien unter Verwendung von 19 negativen (< 10 IE/ml) oder zweideutigen (10-15 IE/ml), 34 positiven (> 15 IE/ml) und 10 IgM-positiven Seren, die mit einer EIA-Technik klassifiziert worden waren, durchgeführt. Die Proben wurden unter Berücksichtigung der jeweiligen Anweisungen der Hersteller untersucht. **rubagen** (10 IE/ml Bestimmung) war das sensitivste Kit, mit dem alle mit dem EIA als zweideutig beurteilten Proben (10/10) und 4 negative Proben (7-10 IE/ml) bestimmt wurden. Das zweite Latexreagenz (10 IE/ml Bestimmung) bestimmte 9/10 der zweideutigen Proben und 2 negative Proben (8 IE/ml). Das dritte Latexreagenz (3 IE/ml Bestimmung) bestimmte 6/10 der zweideutigen Proben und 2 negative Proben (8 IE/ml). Die 34 Proben, die mit dem EIA positive Ergebnisse zwischen 15 und 200 IE/ml erbracht hatten waren mit den drei Reagenzien ebenfalls positiv, mit Ausnahme von 2 Serumproben, die mit dem dritten Reagenz negativ waren. Mit diesem Reagenz konnten aufgrund eines Prozoneneffektes 4/10 Seren (> 200 IE/ml) nicht bestimmt werden. Es wurden ebenfalls 10 IgM-positiv Serumproben untersucht, von denen 9 mit **rubagen** und mit dem zweiten Reagenz bestimmt wurden, und eine der Proben wies mit beiden Reagenzien einen Prozoneneffekt auf. Mit dem dritten Reagenz wurde bei 4 von den Proben ein Prozoneneffekt festgestellt.

In einer externen Evaluation verschiedener Kits zur Bestimmung von Rötelnvirus-Antikörpern wurden 125 zuvor charakterisierte Proben untersucht. Die 95 negativen Proben waren mit **rubagen** ebenfalls negativ. Die 35 positiven Proben, 20 davon als "schwach" positiv (15-40 IE/ml) und 10 als "stark" positiv klassifiziert (> 500 IE/ml), waren mit diesem Kit ebenfalls positiv. 5 Serokonversionspanels von geimpften Personen, jeweils mit 4 nacheinander entnommenen Proben, eine vor der Impfung und drei danach, wurden mit **rubagen** getestet und korrekt bestimmt.

In einer weiteren Studie wurde mit **rubagen** die Serokonversion von 10 Serenpaaren von Personen mit natürlicher Infektion und 4 Serenpaaren von geimpften Personen exakt bestimmt. In allen Paaren wurde ein mindestens 4-facher Anstieg des Titers festgestellt.

#### Präzision

Es wurden 10 Seren dreimal an unterschiedlichen Tagen quantifiziert. Die Ergebnisse zeigen eine 100% ige Reproduzierbarkeit des Reagenzes (± eine Verdünnung).

## Literaturverzeichnis

Siehe "References" im englischen Text.

## rubagen

### Test rapide d'agglutination de particules de latex sur lame pour la détermination qualitative et quantitative des anticorps rubéoleux dans le sérum.

#### Sommaire

La rubéole est une maladie virale bénigne affectant les enfants et les adultes. Cependant, lorsqu'elle est contractée lors du premier trimestre de grossesse, le virus de la rubéole peut infecter le fœtus en franchissant la barrière placentaire, engendrant des anomalies multiples communément connues sous le nom de "syndrome de rubéole congénitale". Les autres conséquences d'une infection sont les avortements spontanés et les mortalités néo-natales (1-3). La mise sur le marché d'un vaccin anti-rubéole a diminué de façon importante l'incidence de l'infection rubéoleuse naturelle. Néanmoins, il est recommandé à toutes les femmes en âge d'avoir des enfants, de subir un dépistage du virus de la rubéole, afin de s'assurer de leur état d'immunité pour une vaccination si nécessaire (4-5). La détection d'un état d'immunité vis-à-vis de la rubéole a été faite pendant plusieurs années par différentes méthodes sérologiques, spécialement par le test d'inhibition d'hémagglutination (IHA) (6-8). L'agglutination latex comparativement à l'IHA, est plus rapide et plus facile d'utilisation. La sensibilité du **rubagen** corréle parfaitement avec le test IHA.

#### Principe

Le réactif **rubagen** est une suspension de particules de latex de polystyrène de dimension uniforme sensibilisées avec l'antigène soluble du virus de la rubéole inactivé. Les particules de latex permettent une observation visuelle de la réaction antigène-anticorps. Si la réaction a lieu, à cause de la présence des anticorps rubéoleux, la suspension de latex change son apparence uniforme et une agglutination claire devient évidente. Quand on mélange le réactif latex avec le sérum, si celui-ci contient plus de 10 UI/ml d'anticorps rubéoleux, une agglutination nette apparaît. Les résultats sont exprimés en UI/ml d'anticorps rubéoleux totaux par rapport au Étalon International de l'OMS (1970).

#### Composants

**[REF]** 3000-4001.

- [REAG]** Réactif latex: 1 x 1,7 ml.  
Suspension de particules de latex de polystyrène sensibilisées avec l'antigène du virus de la rubéole dans un tampon. Contient < 0,1% d'azide sodique.
- [CONTROL +]** Contrôle positif: 1 x 1,0 ml.  
Sérum humain positif dilué. Prêt à l'emploi. Contient < 0,1% d'azide sodique.
- [CONTROL -]** Contrôle négatif: 1 x 1,0 ml.  
Sérum humain négatif dilué. Prêt à l'emploi. Contient < 0,1% d'azide sodique.
- [DIL]** Tampon de dilution : 1 x 50 ml.  
Tampon phosphate salin contenant de l'albumine bovine sérique. Contient < 0,1% d'azide sodique.
- [SLIDES]** Lames jetables : 1 x 13 unités.

#### Précautions

**rubagen** est destiné à un usage diagnostique IN VITRO.

L'azide sodique peut réagir au contact de tuyauteries et de bouches d'écoulement des eaux en plomb ou en cuivre. Cette réaction donne lieu à des azides métalliques hautement explosives. Lorsque vous jetez les restes de réactifs, veuillez laisser couler l'eau abondamment.

Tout le matériel d'origine humaine utilisé dans le cadre de la préparation de ce produit a donné des résultats négatifs quant à la présence d'anticorps aux virus HIV-1/HIV-2 et HCV, de même qu'à celle de l'antigène de surface de l'hépatite B. La méthode utilisée est agréée par la Food and Drug Administration (USA).

ATTENTION: MATÉRIEL À RISQUE BIOLOGIQUE.

Compte tenu du fait qu'aucune méthode n'est capable d'offrir une garantie absolue de l'absence d'agents infectieux, ce produit doit être manipulé avec précaution (9).

Déposer tout le matériel utilisé dans des récipients conçus pour le matériel biocontaminant.

#### Classe de danger

Non classifié.

#### Mentions de danger

Aucune.

#### Conseils de prudence

P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/ du visage.  
P305+351+338 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.