

## INTENCIÓN DE USO

Para uso exclusivo en investigación. No debe utilizarse en los procedimientos de diagnóstico.

MATERIALES PROVISTOS	96 Pruebas
1. Pocillos revestidos con antígeno Mitocondrial	12x8x1
2. Diluyente de la muestra: 1 botella (Reactivos 1)	22 ml
3. Calibrador: 1 vial (listo para su uso)	1 ml
4. Control positivo: 1 vial (listo para su uso)	1 ml
5. Control negativo: 1 vial (listo para su uso)	1 ml
6. Conjugado enzimático: 1 botella (listo para su uso)	12 ml
7. Substrato TMB: 1 botella (listo para su uso)	12 ml
8. Solución de Paro: 1 botella (listo para su uso)	12 ml
9. Solución de Lavado: 1 botella (20X)	25 ml

## MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS

1. Agua destilada o desionizada.
2. Pipetas de precisión.
3. Puntas de pipetas desechables.
4. Lector Microelisas con lente a 450nm.
5. Papel absorbente o toalla de papel.
6. Papel cuadriculado.

## ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

1. Almacene el kit a 2 - 8°C.
2. Mantenga las tiras de los pocillos selladas en una bolsa seca con desecantes.
3. Todos los compuestos son estables hasta su fecha de expiración siempre y cuando las condiciones de almacenaje sean estrictamente llevadas a cabo como aquí se indica.
4. No exponga los reactivos al calor, luz solar o intensa luz eléctrica.

## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso exclusivo en investigación. No debe utilizarse en los procedimientos de diagnóstico.
2. Para uso en laboratorio.
3. Los materiales de potencial riesgo biológico:  
El calibrador y los controles contienen componentes de origen humano que han sido probados y encontrados no reactivos para el antígeno de superficie de la hepatitis B, así como de anticuerpos del VIH con reactivos con licencia FDA. Sin embargo, no existe un método de prueba que puede garantizar la completa seguridad de que el virus del VIH, la hepatitis B u otros agentes infecciosos. Estos reactivos deben ser manipulados en el nivel 2 de bioseguridad, como se recomienda en los Centros para el Control de Enfermedades / Institutos Nacionales de Salud de Estados, "Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos." 1984.
4. Los resultados óptimos se obtienen mediante la estricta adhesión al protocolo de prueba. Pipeteo preciso, así como después de la hora exacta y los requisitos de temperatura es esencial.

5. No pipetear con la boca. No fumar, comer o beber en las áreas en las que las muestras o los reactivos del kit se manipulen.
6. Los componentes de este kit están destinados para su uso como una unidad integral. Los componentes de diferentes lotes no deben ser mezclados.
7. Los sueros de control y el diluyente de muestra contienen preservados con azida de sodio. La azida sódica puede reaccionar con plomo y cobre y formar azidas metálicas explosivas. Para su eliminación, lavar con un gran volumen de agua.

## RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

1. Tomar muestras de sangre y separar el suero.
2. Por lo general, las muestras pueden ser refrigeradas 2-8°C un máximo de siete días o congelados por hasta seis meses. Evitar congelación y descongelación de la muestra de suero.

## PREPARACIÓN DEL REACTIVO

1. Preparar tampón de lavado 1X mediante la adición de los contenidos de la botella (25 ml, 20x) a 475 ml de agua destilada o desionizada. Conservar a temperatura ambiente (20-25°C).

## PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Llevar todos las muestras y reactivos a temperatura ambiente (20-25°C) y mezclar suavemente.

1. Coloque el número deseado de tiras recubiertas en el mezclador.
2. El control negativo, control positivo y calibrador están listos para usar. Preparar 1:21 dilución de muestras de ensayo, mediante la adición de 10 µl de la muestra a 200 µl de diluyente de muestra. Mezclar bien.
3. Dispensar 100 µl de suero diluido, calibrador y controles en los pocillos apropiados. Para el blanco de reactivo, agregue diluyente de la muestra en la posición 100µl así 1A. Golpear ligeramente el soporte para eliminar las burbujas de aire del líquido y mezcle bien. Incubar durante 20 minutos a temperatura ambiente.
4. Retire el líquido de los pozos. Se lavan los pocillos tres veces con 300 µl de tampón de lavado 1X. Seque absorbancia en el papel o una toalla de papel.
5. Dispensar 100 µl de conjugado enzimático a cada pocillo e incubar durante 20 minutos a temperatura ambiente.
6. Retire la enzima conjugada de todos los pozos. Se lavan los pocillos tres veces con 300 µl de tampón de lavado 1X. Seque absorbancia en el papel o una toalla de papel.
7. Dispensar 100 µl de sustrato TMB y se incuba durante 10 minutos a temperatura ambiente.
8. Añadir 100 µl de solución de paro.
9. Lea D.O. a 450 nm utilizando un lector de ELISA dentro de 15 min. Una doble longitud de onda se recomienda con filtro de referencia de 600-650 nm.

## CÁLCULO DE RESULTADOS

1. Comprobar Factor Valor del calibrador (CF) en la botella. Este valor puede variar de un lote a otro. Asegúrese de verificar el valor de cada kit.
2. Calcular el valor de corte: Calibrador OD x Factor calibrador (CF).
3. Calcular el Ab (anticuerpo) índice de cada determinación dividiendo la D.O. valor de cada muestra entre el valor de corte.

---

#### **LIMITACIONES DE LA PRUEBA**

1. Las muestras lipémicas o hemolizadas pueden causar resultados erróneos.

#### **REFERENCIAS**

1. Leung PSC, Coppel RL, Gershwin ME. Mitochondrial autoantibodies. In: Peter JB, Shoenfeld Y, editors. Autoantibodies. Amsterdam: Elsevier Science B.V., 1996:494-500.
2. Van Norstrand MD, Malinchoc M, Lindor KD, et al. Quantitative measurement of autoantibodies to recombinant mitochondrial antigens in patients with primary biliary cirrhosis: relationship of levels of autoantibodies to disease progression. *Hepatology* 1997; 25:6-11.
3. Butler P, Hamilton-Miller J, Baum H, Burroughs AK. Detection of M2 antibodies in patients with recurrent urinary tract infection using and ELISA and purified PBC specific antigens. Evidence for a molecular mimicry mechanism in the pathogenesis of primary biliary cirrhosis? *Biochem Mol Biol Int* 1995; 35:473-85.
4. Vilagut L, Vila J, Vinas O, Pares a, Gines A, Jimenez de Anta MT, Rodes J. Cross-reactivity of anti-Mycobacterium gordonae antibodies with the major mitochondrial autoantigens in primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 1994; 21:673-7.
5. Bunn CC, McMorrow M. Anti-M4 antibodies measured by a sulphite oxidase ELISA in patients with both anti-centromere and anti-M2 antibodies. *Clin Exp Immunol* 1995;102:131-
6. Omagari K, Rowley MJ, Whittingham S, Jois JA, Byron SL, Mackay IR. Autoantibodies to M2 mitochondrial autoantigens in normal human sera by immunofluorescence and novel assays. *J Gastroenterol Hepatol* 1996; 11:610-6.