

# Bio-Cardiolipina Total

*Inmunoensayo enzimático para la cuantificación de Anticuerpos Anti-Cardiolipina Total en suero o plasma.*

## 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 Cardiolipina	12x8x1
2. Diluyente de la muestra: 1 botella (Reactivo 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. No es para uso interno o externo en seres humanos o animales.
4. No debe haber ningún comer o beber en el área de trabajo.
5. Siempre use guantes y una bata de laboratorio protectora.
6. No pipetear debe hacerse por vía oral. Manipular todas las muestras y reactivos como potencialmente infecciosos y biológicos peligrosos.
7. No añadir azida de sodio a las muestras como conservante.
8. No utilice los controles externos que contienen azida de sodio.
9. Utilizar puntas de pipeta desechable para evitar la contaminación del reactivo sustrato cromogénico. Desechar el reactivo si se vuelve azul.
10. No vierta sustrato cromogénico de nuevo en el recipiente después de su uso.
11. No congelar los reactivos.
12. No mezclar reactivos de distintos lotes de kit.
13. Mantener los reactivos de la luz solar directa.

14. Manipular con cuidado, ya que es corrosivo.
15. Mantener los reactivos a temperatura ambiente.
16. muestras forenses viscosas siempre deben ser diluidas en tampón fosfato salino o agua destilada antes de pipetear.
17. Asegúrese de que la bolsa que contiene las tiras de microplaca y el desecante se sella bien, si sólo se utilizan unas tiras.

## 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

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 100 µl 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. Barka N, Reagan K, Agopian M, Peter JB. Frequency of anticardiolipin and antiphosphatidylserine antibodies in patients with suspected antiphospholipid syndrome. *Clin Chem* 1995; 41:5.
2. Khamashta MA, Hughes GRV. Detection and importance of anticardiolipin antibodies. *J Clin Pathol* 1993; 46:104-7.
3. Reyes H, Dearing L, Bick RL, Shoenfeld Y, Peter JB. Laboratory diagnosis of antiphospholipid syndromes. *Lab Clin North Am* 1995; 15:85-108.
4. Harris EN, Pierangeli S. Anticardiolipin antibodies: specificity and function. *Lupus* 1994; 3:217-22.
5. Barka N. Phospholipid autoantibodies - phosphatidylserine. In: Peter JB, Shoenfeld Y, editors. *Autoantibodies*. Amsterdam: Elsevier 1996:630-4.
6. Triplett DA. Assays for detection of antiphospholipid antibodies. *Lupus* 1994; 3:281-7.
7. Khamashta MA, Cuadrado MJ, Mujic F, et al. The management of thrombosis in the antiphospholipid antibody syndrome. *N Engl J Med* 1995; 332:993-7. Olee T, Pierangeli S, Handley H, et al. A monoclonal IgG anticardiolipin antibody from a patient with the antiphospholipid syndrome is thrombogenic in mice. *Proc Natl Acad Sci* 1996; 93:8606-11.
8. Hughes GRV. The antiphospholipid syndrome: ten years on. *Lancet* 1993; 342:341-4.