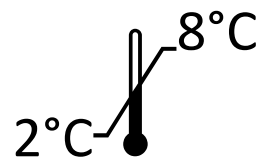


ACTICLOT[®] C

REF ACC-45



Obelis s.a
Bd. Général Wahis 53, 1030 Bruxelles, BELGIO

USO PREVISTO

ACTICLOT® C è destinato alla misurazione dell'attività della Proteina C nel plasma umano attraverso un test di coagulazione end-point. Il test è per uso diagnostico *in vitro*.

SPIEGAZIONE DEL TEST

La Proteina C è una proteina anticoagulante dipendente dalla vitamina K che normalmente circola come zimogeno inattivo. A seguito dell'attivazione, la Proteina C inattiva i fattori V e VIII, prolungando pertanto il tempo di coagulazione. Sebbene la Proteina C possa essere attivata dalla trombina, la velocità di attivazione *in vitro* è lenta. In tali condizioni la proteina inibitrice della Proteina C inattiva la Proteina C alla stessa velocità con cui è attivata.

PRINCIPIO DEL METODO

Il veleno del serpente testa di rame *Agkistrodon contortrix* contiene un rapido attivatore della Proteina C.¹ In ACTICLOT C, il reagente attivatore, formulato con l'attivatore della Proteina C isolato da tale veleno, converte la Proteina C umana nella sua proteasi attiva entro 5 minuti.² Il reagente attivatore è inoltre formulato per attivare i fattori di contatto del percorso intrinseco. Con questo reagente, il tempo di coagulazione del plasma normale è molto esteso, superiore a 100 secondi, mentre il tempo di coagulazione del plasma carente di Proteina C è essenzialmente uguale a quello di un test APTT, circa 30-40 secondi. Quando il plasma di un test sconosciuto viene mescolato con plasma carente di Proteina C, il livello di Proteina C è proporzionale al prolungamento del tempo di coagulazione.

REAGENTI

Il kit contiene reagenti sufficienti a eseguire 90 test con un analizzatore di coagulazione automatico, 45 test se è impiegato un metodo end-point manuale.

- 1. Attivatore ACTICLOT:** 3 fiale, 1,5 ml (liofilizzate)
- 2. Plasma carente di Proteina C:** 3 fiale, 1,5 ml (liofilizzate)

3. Plasma di controllo della Proteina C: 3 fiale, 0,5 ml (liofilizzate)


4. Tampone di diluizione: 3 fiale, 5,0 ml, concentrato 10X

AVVERTENZA

Questo prodotto contiene materiale di origine *umana* ed è risultato non reattivo per l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg), il virus dell'epatite C (HCV) e il virus dell'immunodeficienza umana di tipo 1 e 2 (HIV-1, HIV-2) con metodi registrati. Poiché nessun metodo di analisi conosciuto può fornire una garanzia completa che i prodotti derivati da campioni umani non trasmettano HBsAg, HCV, HIV-1, HIV-2 o altri agenti patogeni trasmessi per via ematica, questo prodotto deve essere maneggiato come raccomandato per qualsiasi campione umano potenzialmente infettivo.

Questo prodotto contiene materiale di origine *animale*. Poiché nessun metodo di analisi conosciuto può fornire una garanzia completa che i prodotti derivati da campioni animali non trasmettano agenti patogeni trasmessi per via ematica, questo reagente deve essere maneggiato come raccomandato per qualsiasi campione potenzialmente infettivo.

Il Tampone di diluizione contiene azoturo di sodio che può reagire con tubature in piombo o rame formando azoturi metallici altamente esplosivi. I materiali scartati in un lavandino devono essere sciacquati con abbondante acqua al fine di evitare l'accumulo di azoturo.

| | | | | |
|-----------------------|----------|---|--|-----------|
| Tampone di diluizione | Pericolo |  | CONT | Imidazolo |
| | | | H315, H319, H360, P202, P280, P273, P305 + P351 + P338, P310 | |

Dichiarazioni di pericolo: H315 Provoca irritazione cutanea.
H319 Provoca grave irritazione oculare.
H360 Può nuocere alla fertilità o al feto.

Dichiarazioni precauzionali:

P202 Non manipolare prima di aver letto e compreso tutte le avvertenze.

P264 Lavare accuratamente dopo la manipolazione.

P280 Indossare guanti protettivi/indumenti protettivi/protezioni oculari/protezioni per il viso.

P302 + P352 IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: Lavare con abbondante acqua.

P332 + P313 In caso di irritazione cutanea: Consultare un medico.

P305 + P351 + P338 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.



P337 + P313 Se l'irritazione degli occhi persiste: Consultare un medico.

PREPARAZIONE E CONSERVAZIONE DEI REAGENTI

I reagenti liofilizzati sono stabili fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta, se conservati a 2-8 °C.



1. Attivatore ACTICLOT

Ricostituire con 1,5 ml di acqua deionizzata di tipo I. Mescolare/capovolgere per consentire la completa dissoluzione. L'attivatore ricostituito è stabile per:

| | | | |
|---|-------|--------|--------|
|  | 4 ore | 48 ore | 3 mesi |
|  | 37 °C | 2-8 °C | -20 °C |



2. Plasma carente di Proteina C

Ricostituire con 1,5 ml di acqua deionizzata di tipo 1. Mescolare/capovolgere per consentire la completa dissoluzione. Il plasma carente di Proteina C ricostituito è stabile per:

| | |
|---|--------|
|  | 4 ore |
|  | 2-8 °C |



3. Plasma di controllo della Proteina C

Ricostituire con 0,5 ml di acqua deionizzata di tipo 1. Mescolare/capovolgere per consentire la completa dissoluzione. Il plasma di controllo della Proteina C ricostituito è stabile per:

| | |
|---|--------|
|  | 4 ore |
|  | 2-8 °C |

4. Tampone di diluizione

Diluire il concentrato di tampone di diluizione a 50 ml con acqua deionizzata di tipo 1. La forza lavoro del tampone di diluizione è stabile per:

| | | |
|---|-------------|--------|
|  | 1 settimana | 1 mese |
|  | 18-25 °C | 2-8 °C |

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

Vedere "Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-based Coagulation Assays; Approved Guidelines-Fifth Edition", CLSI Document H21-A5, Vol. 28, No. 5, 2008.³

Nove volumi di sangue vengono raccolti in 1 volume di citrato trisodico da 0,1 M e centrifugati a 3000 x g per 10 minuti. Il plasma deve essere conservato a 2-8 °C e testato entro 2 ore. In alternativa, il plasma si può conservare a -20 °C per 1 mese e scongelare una volta a 37 °C, 30 minuti prima dell'uso.

PROCEDURA

Materiali forniti - Vedere Reagenti

Materiale richiesto ma non fornito

Acqua deionizzata o distillata di Tipo 1
Soluzione di cloruro di calcio da 0,025 M
Timer di coagulazione
Cilindro graduato da 50 ml
Pipetta per volumi variabili (100-1000 µl)

Calibrazione del test

Per la preparazione degli standard di calibrazione della Proteina C si deve utilizzare il plasma normale di un pool di almeno 10 donatori normali, raccolto nello stesso modo del plasma da analizzare. In alternativa, per preparare gli standard di calibrazione si possono utilizzare diluizioni del plasma di controllo della Proteina C.

Preparare gli standard di calibrazione della Proteina C per il plasma e i campioni di plasma del paziente come segue. Utilizzare gli standard e i campioni subito dopo la preparazione.

| Standard/Campione | Volume di plasma normale del pool | Volume del tampone di diluizione |
|-----------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
| 100% | 100 µl | 400 µl |
| 50% | 250 µl | 250 µl |
| 25% | 250 µl | 250 µl |
| 12,5% | 250 µl | 250 µl |
| | | |
| Campione del paziente | 50 µl | 450 µl |

Procedura di test

ACTICLOT C può essere eseguito manualmente o utilizzando analizzatori di coagulazione semiautomatici o automatici.

Metodo con analizzatori di coagulazione automatici

BioMedica Diagnostics offre applicazioni dello strumento per eseguire ACTICLOT C su diversi analizzatori di coagulazione. Queste applicazioni possono contenere dati di programmazione ed esecuzione specifici della piattaforma che differiscono da quelli forniti nelle presenti Istruzioni per l'uso. In questi casi, le informazioni contenute nell'applicazione dello strumento sostituiscono quelle contenute nelle presenti Istruzioni per l'uso. Per le istruzioni d'uso complete consultare il manuale dello strumento specifico del produttore.

Metodo end-point manuale

Trasferire l'attivatore ACTICLOT e 25 mm di soluzione di cloruro di calcio nei pozzetti di reagente a 37 °C.

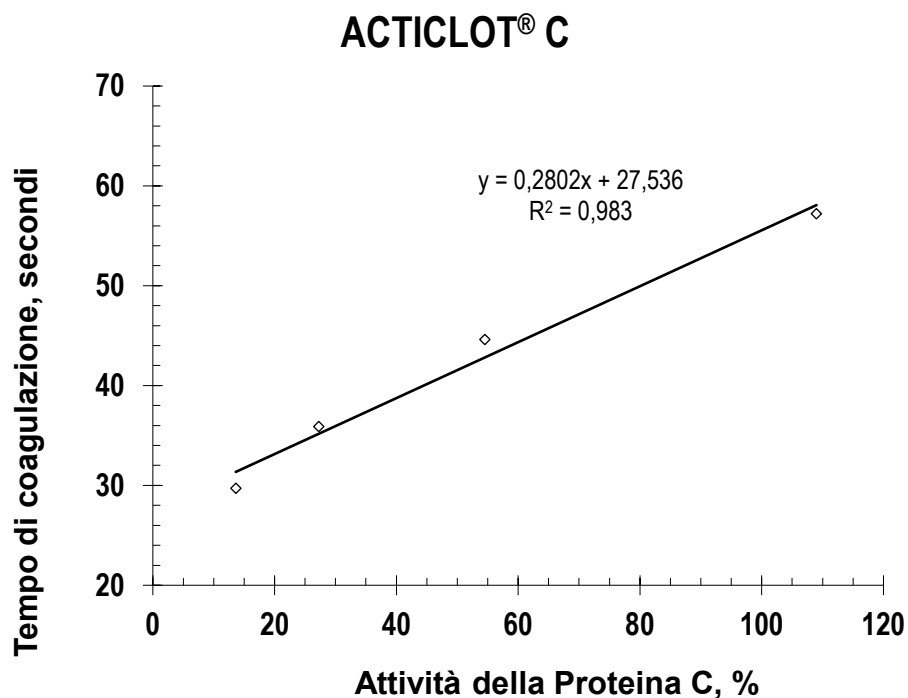
1. Aggiungere 0,1 ml di plasma carente di Proteina C + 0,1 ml di diluizione standard o campione del paziente in una cuvetta di coagulazione.
2. Incubare a 37 °C per 2 minuti.
3. Aggiungere 0,1 ml di attivatore ACTICLOT.
4. Incubare a 37 °C per 5 minuti.
5. Aggiungere 0,1 ml di soluzione di cloruro di calcio da 0,025 M.
6. Avviare il timer di coagulazione e annotare il tempo di coagulazione.
7. Ottenere determinazioni doppie per ciascuna diluizione di plasma.

RISULTATI

Curva standard rappresentativa

Una curva standard è costruita tracciando il tempo medio di coagulazione per ciascuno standard di Proteina C rispetto alla sua corrispondente attività in percentuale. Ogni volta che si esegue il test è necessario generare una curva standard. Tracciare la linea del miglior adattamento tra i punti, tipicamente un'equazione lineare, per l'analisi dei dati.

La seguente curva standard è esclusivamente a scopo dimostrativo.



CALCOLO DEI RISULTATI

Determinare la % di Proteina C nel campione di test interpolando dalla curva standard e moltiplicando il risultato per due per correggere la diluizione. Nel caso di pazienti con lupus anticoagulante o attività della Proteina C elevata in modo anomalo, laddove siano state testate diluizioni multiple di pazienti, correggere il livello di Proteina C per la diluizione. Devono essere concordi i livelli corretti di Proteina C di almeno due diluizioni.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Il plasma di controllo della Proteina C incluso nel kit è stato valutato rispetto a un materiale di riferimento riconosciuto a livello internazionale e può essere testato quale parte del programma di controllo della qualità del laboratorio. Il plasma di controllo deve essere incluso nell'esecuzione ogniqualvolta vengano utilizzati reagenti appena ricostituiti. Il livello ottenuto per il plasma di controllo deve rientrare nell'intervallo specificato dal fornitore o dal laboratorio. Se il plasma di controllo non produce livelli di Proteina C che rientrano nell'intervallo specificato, l'esecuzione essere ripetuta. Contattare BioMedica Diagnostics se nemmeno il test ripetuto produce livelli di Proteina C entro i limiti accettabili.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

I pazienti con lupus anticoagulante devono essere sottoposti a test a diluizioni multiple, poiché i livelli di Proteina C artificialmente elevati possono essere dovuti a tempi di coagulazione prolungati.

I pazienti con livelli elevati in modo anomalo di FVIII:C possono presentare livelli di Proteina C erroneamente bassi, poiché si potrebbero ottenere tempi di coagulazione più brevi del plasma carente di Proteina C. Questi campioni devono essere testati a diluizioni multiple.

SOSTANZE INTERFERENTI

Le seguenti sostanze ai livelli indicati potrebbero interferire con ANTICLOT C.

| Sostanza | Concentrazione |
|--|----------------|
| Eparina non frazionata (ENF) | > 4 unità/ml |
| Eparina a basso peso molecolare (EBPM) | > 2 unità/ml |
| Emoglobina | > 500 mg/dl |
| Bilirubina | > 21 mg/dl |
| Trigliceridi | > 900 mg/dl |

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Accuratezza

In uno studio clinico di confronto tra ACTICLOT C e una Proteina C ELISA, sono stati ottenuti i seguenti risultati:

Concentrazione della Proteina C nel plasma (% normale, media \pm S.D.)

| Condizione patologica | N | ACTICLOT C | Proteina C ELISA |
|----------------------------------|----|-----------------|------------------|
| Normale | 40 | 89,0 \pm 17,0 | 94,0 \pm 16,0 |
| DIC | 10 | 29,4 \pm 11,9 | 34,2 \pm 13,0 |
| Patologia del fegato | 10 | 18,6 \pm 9,6 | 20,1 \pm 14,6 |
| Carenza di Proteina C, congenita | 10 | 37,9 \pm 7,1 | 45,0 \pm 8,1 |
| Neonati* | 12 | 21,9 \pm 5,3 | 19,3 \pm 8,0 |
| Eparinizzato | 10 | 93,7 \pm 16,1 | 93,5 \pm 14,2 |
| Warfarin | 20 | 23,2 \pm 9,0 | 57,7 \pm 15,7 |

*Es. Sindrome da distress respiratorio, sepsi, trombosi, insufficienza renale

Correlazione tra ACTICLOT C e Proteina C ELISA (esclusi pazienti sottoposti a warfarin):

| Regressione | Coefficiente di correlazione | Errore di stima standard |
|----------------------|------------------------------|--------------------------|
| $y = 0,93x + 0,0014$ | 0,952 | 0,086 |

Precisione













Il coefficiente di variazione di ACTICLOT C è stato determinato utilizzando campioni preparati miscelando plasma immunodepleto di Proteina C con plasma normale del pool per ottenere livelli di Proteina C del 10%, 50% e 100%.

| Livello di Proteina C | Variazione intra-test | Variazione inter-test |
|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 100% | 5,9% | 2,4% |
| 50% | 4,7% | 3,9% |
| 10% | 9,1% | 9,3% |

RIFERIMENTI

1. Stocker, K., Fischer, H., Mejer, J., Brogil, M. and Svendsen, L: Characterization of the protein C activator Protac from the venom of the Southern Copperhead (*Agkistrodon contortrix*) snake. *Toxicol.* 1987, 25: 239-252.
2. Martinoli, J. L. and Stocker, K. Fast functional protein C assay using Protac, a novel protein C activator. *Thromb. Res.* 1986, 43: 253- 264.
3. *Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guidelines-Fifth Edition*, CLSI Document H21-A5, Vol. 28, No. 5, 2008.

DEFINIZIONI DEI SIMBOLI

| | | | |
|---|---|--|---|
|  | Consultare le istruzioni per l'uso |  | Avvertenza |
|  | Dispositivo medicale diagnostico in vitro |  | Limite di temperatura Conservare da 2 a 8 °C |
|  | Numero di lotto |  | Numero di catalogo |
|  | Data di scadenza |  | Produttore |
|  | Contenuto sufficiente per <n> test |  | Contiene... |
|  | Marchio CE |  | Rappresentante autorizzato nell'Unione europea |