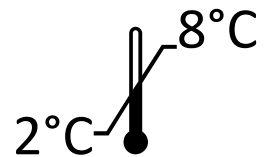


ACTICLOT[®] C

REF ACC-45



Obelis s.a
Bd. Général Wahis 53, 1030 Brussels, BELGIUM

USO PRETENDIDO

O ACTICLOT® C destina-se à medição da atividade da Proteína C no plasma humano por meio de um ensaio de coagulação de ponto final. O ensaio destina-se ao uso diagnóstico *in vitro*.

EXPLICAÇÃO DO TESTE

A Proteína C é uma proteína anticoagulante dependente da vitamina K que normalmente circula como um zimogênio inativo. Depois da ativação, a Proteína C inativa os fatores V e VIII, prolongando assim o tempo de coagulação. Embora a Proteína C possa ser ativada pela trombina, a taxa de ativação *in vitro* é lenta. Sob tais condições, a proteína inibidora da Proteína C inativa a Proteína C tão rápido quanto ela é ativada.

PRINCÍPIO DO MÉTODO

O veneno da serpente-mocassim-cabeça-de-cobre, *Agkistrodon contortrix*, contém um ativador rápido da Proteína C.¹ No ACTICLOT C, o Reagente ativador, formulado com o ativador da Proteína C isolado deste veneno, converte a Proteína C humana em sua protease ativa em 5 minutos.² O Reagente ativador também é formulado para ativar os fatores de contato da via intrínseca. Com este reagente, o tempo de coagulação do plasma normal é muito longo, superior a 100 segundos, enquanto o tempo de coagulação de um plasma deficiente em Proteína C é essencialmente o mesmo que o tempo de coagulação de um teste TTPa, cerca de 30–40 segundos. Quando um plasma de teste desconhecido for misturado ao plasma deficiente em Proteína C, o nível de Proteína C será proporcional ao prolongamento do tempo de coagulação.

REAGENTES

O kit contém reagentes suficientes para realizar 90 testes usando um analisador de coagulação automático, 45 testes se um método manual de ponto final for usado.

1. Ativador ACTICLOT: 3 frascos, 1,5 ml (liofilizado)


2. **Plasma Deficiente em Proteína C:** 3 frascos, 1,5 ml (liofilizado)
3. **Plasma de Controle de Proteína C:** 3 frascos, 0,5 ml (liofilizado)
4. **Tampão de Diluição:** 3 frascos, 5,0 ml, concentração de 10 vezes

AVISO

Este produto contém material de origem *humana* que foi considerado não reativo para o Antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg), Vírus da hepatite C (VHC) e Vírus da imunodeficiência humana tipo 1 e tipo 2 (HIV-1, HIV-2) usando métodos registrados. Uma vez que nenhum método de teste conhecido pode fornecer uma garantia total de que os produtos derivados de amostras humanas não transmitirão HBsAg, VHC, HIV-1, HIV-2 ou outros agentes patogênicos sanguíneos, esse produto deverá ser manuseado conforme recomendado para quaisquer amostras humanas potencialmente infecciosas.

Este produto contém material de origem *animal*. Uma vez que nenhum método de teste conhecido pode fornecer uma garantia total de que os produtos derivados de amostras animais não transmitirão agentes patogênicos sanguíneos, esse reagente deverá ser manuseado conforme recomendado para quaisquer amostras potencialmente infecciosas.

O Tampão de diluição contém azida de sódio que pode reagir com encanamentos de chumbo ou cobre para formar azidas de metal altamente explosivas. Os materiais descartados em uma pia devem ser enxaguados com um grande volume de água para evitar o acúmulo de azida.

Tampão de diluição	Perigo		CONT	
			Imidazol	
H315, H319, H360, P202, P280, P273, P305 + P351 + P338, P310				

Declarações de perigo:

- H315 Provoca irritação à pele.
- H319 Provoca irritação ocular grave.
- H360 Pode prejudicar a fertilidade ou o feto.



Declarações de precaução: P202 Não manuseie o produto antes de ter lido e compreendido todas as precauções de segurança.
P264 Lave as mãos cuidadosamente após o manuseio.
P280 Use luvas de proteção/roupa de proteção/proteção ocular/proteção facial.
P302 + P352 EM CASO DE CONTATO COM A PELE: Lave com água em abundância.
P332 + P313 Em caso de irritação cutânea: consulte um médico.
P305 + P351 + P338 EM CASO DE CONTATO COM OS OLHOS: Enxágue cuidadosamente com água durante vários minutos. No caso de uso de lentes de contato, remova-as, se for fácil. Continue enxaguando.
P337 + P313 Se a irritação ocular persistir: consulte um médico.

PREPARAÇÃO E ARMAZENAMENTO DE REAGENTES

Os reagentes liofilizados são estáveis até a data de vencimento indicada no rótulo quando armazenados entre 2°C e 8°C.



1. Ativador ACTICLOT

Reconstitua com 1,5 ml de água deionizada tipo 1. Misture/agite para permitir a dissolução completa. O Ativador reconstituído é estável por:

	4 horas	48 horas	3 meses
	37°C	2°C–8°C	-20°C



2. Plasma Deficiente em Proteína C

Reconstitua com 1,5 ml de água deionizada tipo 1. Misture/agite para permitir a dissolução completa. O plasma reconstituído deficiente em Proteína C é estável por:

	4 horas
	2°C–8°C



3. Plasma de Controle de Proteína C

Reconstitua com 0,5 ml de água deionizada tipo 1. Misture/agite para permitir a dissolução completa. O plasma reconstituído de controle de Proteína C é estável por:

	4 horas
	2°C–8°C

4. Tampão de Diluição

Dilua o concentrado do tampão de diluição em 50 ml com água desionizada tipo 1. O tampão de diluição de força de trabalho é estável por:

	1 semana	1 mês
	18°C–25°C	2°C–8°C

COLETA E PREPARO DE AMOSTRAS

Consulte “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 volumes de sangue são coletados em 1 volume de citrato trissódico 0,1 M e centrifugados a 3.000 x g por 10 minutos. O plasma deve ser armazenado entre 2°C e 8°C e analisado em 2 horas. Alternativamente, o plasma pode ser armazenado a –20°C por 1 mês e descongelado uma vez a 37°C, 30 minutos antes do uso.

PROCEDIMENTO

Materiais Fornecidos – Consultar Reagentes

Materiais Necessários, Mas Não Fornecidos

Água deionizada tipo 1 ou água destilada
Solução de cloreto de cálcio 0,025 M
temporizador de coagulação
Cilindro graduado de 50 ml
pipetador de volume variável (100–1.000 µL)

Calibração de Ensaio

O pool de plasma normal de pelo menos 10 doadores normais que foi coletado da mesma maneira que o plasma a ser testado deve ser usado para a preparação de padrões de calibração de Proteína C. Alternativamente, as diluições do plasma de controle da Proteína C podem ser usadas para preparar os padrões de calibração.

Prepare os padrões de calibração da Proteína C do plasma e as amostras de plasma do paciente como se segue. Use os padrões e amostras imediatamente após a preparação.

Padrão/Amostra	Volume de Pool de Plasma Normal	Volume do Tampão de Diluição
100%	100 µL	400 µL
50%	250 µL	250 µL
25%	250 µL	250 µL
12,5%	250 µL	250 µL
Amostra do Paciente	50 µL	450 µL

Procedimento de Ensaio

O ACTICLOT C pode ser realizado manualmente ou por meio de analisadores de coagulação semiautomatizados ou automatizados.

Método de Analisadores de Coagulação Automatizados

A BioMedica Diagnostics oferece aplicações do instrumento para executar o ACTICLOT C em vários analisadores de coagulação. Essas aplicações do instrumento podem conter dados de programação e desempenho específicos da plataforma que diferem dos dados fornecidos nestas Instruções de uso. Nesses casos, as informações contidas na aplicação do instrumento substituem as informações desta Instrução de uso. Consulte o manual do instrumento do fabricante específico para obter as instruções de operação completas.

Método de Ponto Final Manual

Transfira o Ativador ACTICLOT e a solução de cloreto de cálcio 25 mM para os poços de reagente a 37°C.

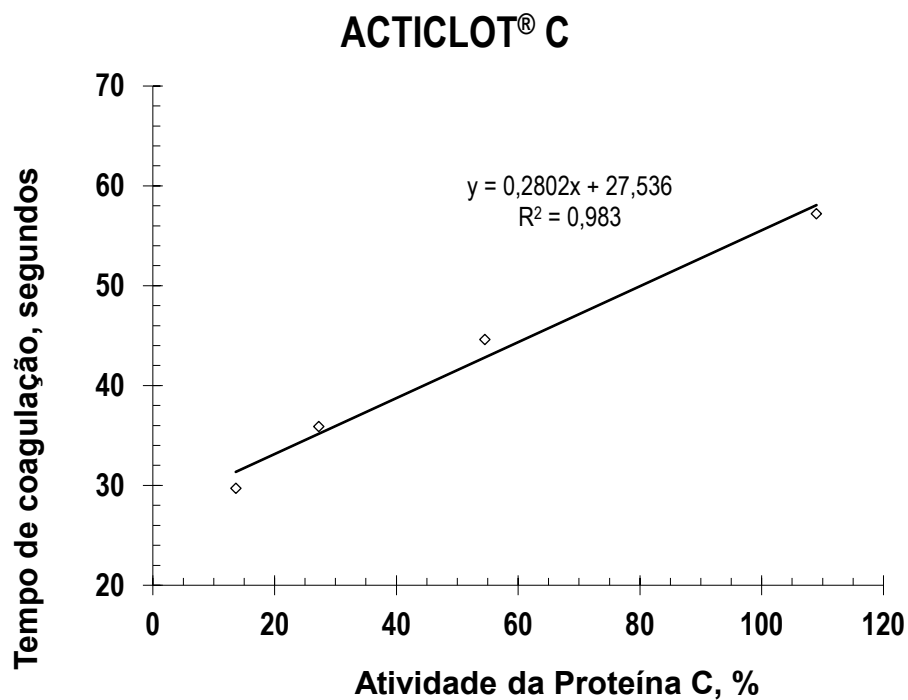
1. Adicione 0,1 ml de Plasma deficiente em Proteína C + 0,1 ml de diluição padrão ou amostra do paciente a uma cubeta de coagulação.
2. Incube a 37°C por 2 minutos.
3. Adicione 0,1 ml de Ativador ACTICLOT.
4. Incube a 37°C por 5 minutos.
5. Adicione 0,1 ml de solução de cloreto de cálcio 0,025 M.
6. Inicie o temporizador de coagulação e observe o tempo de coagulação.
7. Obtenha determinações duplicadas para cada diluição de plasma.

RESULTADOS

Curva Padrão Representativa

Uma curva padrão é construída ao traçar o tempo médio de coagulação de cada padrão de Proteína C em relação a sua atividade correspondente em porcentagem. Uma curva padrão deve ser gerada cada vez que o ensaio é realizado. Desenhe a linha de melhor ajuste entre os pontos, normalmente uma equação linear, para análise de dados.

A seguinte curva padrão destina-se apenas para fins demonstração.



CÁLCULO DE RESULTADOS

Determine a % de Proteína C na amostra de teste ao interpolar a partir da curva padrão e ao multiplicar o resultado por dois para corrigir a diluição. No caso de pacientes com anticoagulantes lúpicos ou atividade anormalmente alta de Proteína C, onde várias diluições de pacientes foram analisadas, corrija o nível de Proteína C da diluição. Os níveis corrigidos de Proteína C de pelo menos duas diluições devem estar de acordo.

CONTROLE DE QUALIDADE

O plasma de controle de Proteína C incluído no kit foi avaliado em comparação com um material de referência reconhecido internacionalmente e pode ser analisado como parte de um programa de controle de qualidade do laboratório. O plasma de controle deve ser incluído na corrida sempre que forem usados reagentes reconstituídos recentemente. O nível obtido para o plasma de controle deve estar dentro da faixa especificada pelo fornecedor ou laboratório. Se o plasma de controle não gerar os níveis de Proteína C dentro do intervalo especificado, a corrida deverá ser repetida. Entre em contato com a BioMedica Diagnostics se o ensaio repetido do controle não gerar os níveis de Proteína C dentro dos limites aceitáveis.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Pacientes com Anticoagulantes lúpicos devem ser testados em várias diluições, pois níveis de Proteína C artificialmente elevados podem ser inferidos a partir de tempos de coagulação prolongados.

Pacientes com níveis anormalmente elevados de FVIII:C podem apresentar níveis de Proteína C imprecisamente baixos, pois podem ser obtidos tempos de coagulação mais curtos do plasma deficiente em Proteína C. Essas amostras devem ser testadas em várias diluições.

SUBSTÂNCIAS INTERFERENTES

As seguintes substâncias podem interferir com o ACTICLOT C nos níveis indicados.

Substância	Concentração
Hemoglobina	>500 mg/dl
Bilirrubina, Conjugado	>20 mg/dl
Bilirrubina, Não conjugado	>20 mg/dl
Triglicerídeos	>750 mg/dl

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Precisão

Em um estudo clínico comparando ACTICLOT C a um ELISA de Proteína C, os seguintes resultados foram obtidos:

Concentração de Proteína C Plasmática (% de normal, média \pm DP)

Condição patológica	N	ACTICLOT C	ELISA de Proteína C
Normal	40	89,0 \pm 17,0	94,0 \pm 16,0
DIC	10	29,4 \pm 11,9	34,2 \pm 13,0
Doença hepática	10	18,6 \pm 9,6	20,1 \pm 14,6
Deficiência de Proteína C, congênita	10	37,9 \pm 7,1	45,0 \pm 8,1
Neonatos*	12	21,9 \pm 5,3	19,3 \pm 8,0
Heparinizado	10	93,7 \pm 16,1	93,5 \pm 14,2
Varfarina	20	23,2 \pm 9,0	57,7 \pm 15,7

*por exemplo, síndrome do desconforto respiratório, sepse, trombose, insuficiência renal

Correlação entre ACTICLOT C e ELISA de Proteína C (pacientes com varfarina não incluídos):

Regressão	Coefficiente de correlação	Erro padrão de estimativa
$y = 0,93x + 0,0014$	0,952	0,086

Precisão











O coeficiente de variação de ACTICLOT C foi determinado usando amostras preparadas pela mistura de plasma imunodepletado de Proteína C com pool de plasma normal para obter níveis de proteína C de 10%, 50% e 100%.

Nível de Proteína C	Variação intraensaio	Variação interensaio
100%	5,9%	2,4%
50%	4,7%	3,9%
10%	9,1%	9,3%

REFERÊNCIAS

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.

DEFINIÇÕES DOS SÍMBOLOS

	Consulte as Instruções de uso		Aviso
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro		Limitação de temperatura Armazenar entre 2°C e 8°C
	Número do lote		Número de catálogo
	Data de expiração		Fabricante
	Contém o suficiente para <n> testes		Contém...
	Marca CE		Representante autorizado na União Europeia