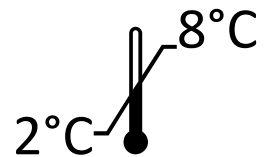


ACTICLOT[®] C

REF ACC-45



Obelis s.a
Bd. Général Wahis 53, 1030 Bruselas, BÉLGICA

USO PREVISTO

ACTICLOT® C está hecho para la medición de la actividad de la proteína C en plasma humano mediante una prueba de coagulación de punto final. La prueba es para uso diagnóstico *in vitro*.

EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

La proteína C es una proteína anticoagulante dependiente de la vitamina K que normalmente circula como un zimógeno inactivo. Después de la activación, la proteína C desactiva los factores V y VIII, prolongando así el tiempo de coagulación. Aunque la proteína C puede activarse mediante la trombina, la velocidad de activación *in vitro* es lenta. En dichas condiciones, la proteína inhibidora de la Proteína C, desactiva la proteína C tan rápido como esta es activada.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El veneno de la serpiente de cabeza de cobre *Agkistrodon contortrix* contiene un activador rápido de la Proteína C.¹ En el ACTICLOT C, el reactivo Activador, formulado con el activador de la Proteína C aislado de este veneno, convierte la Proteína C humana en su proteasa activa en 5 minutos.² El reactivo Activador también está formulado para activar los factores de contacto de la vía intrínseca. Con este reactivo, el tiempo de coagulación del plasma normal es muy largo, mayor de 100 segundos, mientras que el tiempo de coagulación de un plasma deficiente en proteína C es esencialmente el mismo que el tiempo de coagulación de una prueba APTT, aproximadamente de 30-40 segundos. Cuando un plasma de prueba desconocido se mezcla con plasma deficiente en proteína C, el nivel de proteína C es proporcional a la prolongación del tiempo de coagulación.

REACTIVOS

El kit contiene reactivos suficientes para realizar 90 pruebas utilizando un analizador de coagulación automatizado, 45 pruebas si se utiliza un método de punto final manual.


1. **Activador ACTICLOT:** 3 viales, 1,5 ml (liofilizados)
2. **Plasma deficiente en proteína C:** 3 viales, 1,5 ml (liofilizados)
3. **Plasma de control de Proteína C:** 3 viales, 0,5 ml (liofilizados)
4. **Tampón de dilución:** 3 viales, 5,0 ml, 10X de concentrado

ADVERTENCIA

Este producto contiene material de origen *humano* que se ha encontrado que no es reactivo para el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg), del virus de la hepatitis C (VHC) y del virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 y tipo 2 (VIH-1, VIH-2) utilizando métodos registrados. Como ningún método de prueba conocido puede proporcionar una garantía completa de que los productos derivados de muestras humanas no transmitirán HBsAg, VHC, VIH-1, VIH-2 u otros patógenos transmitidos por la sangre, este producto debe manipularse como se recomienda para cualquier muestra humana potencialmente infecciosa.

Este producto contiene material de origen *animal*. Como ningún método de prueba conocido puede proporcionar una garantía completa de que los productos derivados de muestras de animales no transmitirán patógenos transmitidos por la sangre, este reactivo debe manipularse como se recomienda para cualquier muestra potencialmente infecciosa.

El tampón de dilución contiene azida de sodio que puede reaccionar con las tuberías de plomo o de cobre para formar azidas metálicas altamente explosivas. Los materiales desechados en un fregadero deben enjuagarse con un gran volumen de agua para evitar la acumulación de azida.

Tampón de dilución	Peligro		CONT	
			Imidazol	
H315, H319, H360, P202, P280, P273, P305 + P351 + P338, P310				



Declaraciones de peligro:	H315	Provoca irritación cutánea.
	H319	Provoca irritación ocular grave.
	H360	Puede causar daños a la fertilidad o al feto.
Declaraciones cautelares:	P202	No manipular hasta que se hayan leído y entendido todas las precauciones de seguridad.
	P264	Lavarse exhaustivamente después de la manipulación.
	P280	Usar guantes protectores, ropa protectora, protección ocular, protección facial.
	P302 + P352	EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con abundante agua.
	P332 + P313	Si se produce irritación cutánea: Obtenga asesoramiento/atención médica.
	P305 + P351 + P338	EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuague cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quítese los lentes de contacto, si los hay y es fácil quitárselos. Continúe enjuagando.
	P337 + P313	Si persiste la irritación ocular: Obtenga asesoramiento/atención médica.

PREPARACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE REACTIVOS

Los reactivos liofilizados son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta cuando se almacenan de 2° C - 8° C.



1. Activador ACTICLOT

Reconstituya con 1,5 ml de agua desionizada Tipo I. Mezclar/revolver para permitir una disolución completa. El Activador reconstituido es estable por:

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



2. Plasma deficiente en proteína C:

Reconstituya con 1,5 ml de agua desionizada Tipo I. Mezclar/revolver para permitir una disolución completa. El plasma deficiente de proteína C reconstituida es estable por:

	4 horas
	2° C-8° C



3. Plasma de control de Proteína C:

Reconstituya con 0,5 ml de agua desionizada Tipo 1. Mezclar/revolver para permitir una disolución completa. El plasma de control de la proteína C reconstituida es estable por:

	4 horas
	2° C-8° C

4. Tampón de dilución

Diluya el concentrado de tampón de dilución hasta 50 ml con agua desionizada Tipo 1. El tampón de dilución a la concentración de trabajo es estable durante:

	1 semana	1 mes
	18° C-25° C	2° C-8° C

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Consulte “Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-based Coagulation Assays; Approved Guidelines-Fifth Edition”, documento CLSI H21-A5, vol. 28, N° 5, 2008.³

Se mezclan nueve volúmenes de sangre con 1 volumen de 0,1 M de citrato trisódico y se centrifugan a 3000 x g durante 10 minutos. El plasma debe almacenarse a 2° C-8° C y analizarse en un lapso de 2 horas. Alternativamente, el plasma puede almacenarse a -20° C durante 1 mes y descongelarse una vez a 37° C, 30 minutos antes de su uso.

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados – Ver reactivos

Material requerido, pero no suministrado

Agua desionizada Tipo 1, o agua destilada
0,025 M de solución de cloruro de calcio
temporizador de coagulación
Cilindro graduado de 50 ml
pipeteador de volumen variable (100-1000 µL)

Calibración de la prueba

Para la preparación de los estándares de calibración de la Proteína C se debe usar plasma normal conjunto de al menos 10 donantes normales que se haya recolectado de la misma forma que el plasma a analizar. Alternativamente, se pueden usar diluciones del plasma de control de la Proteína C para preparar los estándares de calibración.

Prepare los estándares de calibración de la Proteína C en plasma y de las muestras de plasma del paciente de la siguiente manera: Utilice los estándares y las muestras inmediatamente después de la preparación.

Estándar/muestra	Volumen de plasma normal conjunto	Volumen del tampón de dilución
100%	100 µl	400 µl
50%	250 µl	250 µl
25%	250 µl	250 µl
12,5%	250 µl	250 µl
Muestra del paciente	50 µl	450 µl

Procedimiento de ensayo

El ACTICLOT C puede realizarse manualmente, o utilizando analizadores de coagulación semiautomáticos o automatizados.

Método de los analizadores de coagulación automatizados

BioMedica Diagnostics ofrece aplicaciones instrumentales para realizar el ACTICLOT C en varios analizadores de coagulación. Estas aplicaciones de los instrumentos pueden contener datos de programación y rendimiento específicos de la plataforma que difieren de los que se proporcionan en estas instrucciones de uso. En estos casos, la información contenida en la aplicación del instrumento sustituye a la información de la presente instrucción de uso. Por favor, consulte el manual del instrumento del fabricante específico para obtener las instrucciones de funcionamiento completas.

Método de punto final manual

Transfiera el Activador ACTICLOT y la solución de cloruro de calcio de 25 mM a los pozos de reactivos a 37° C.

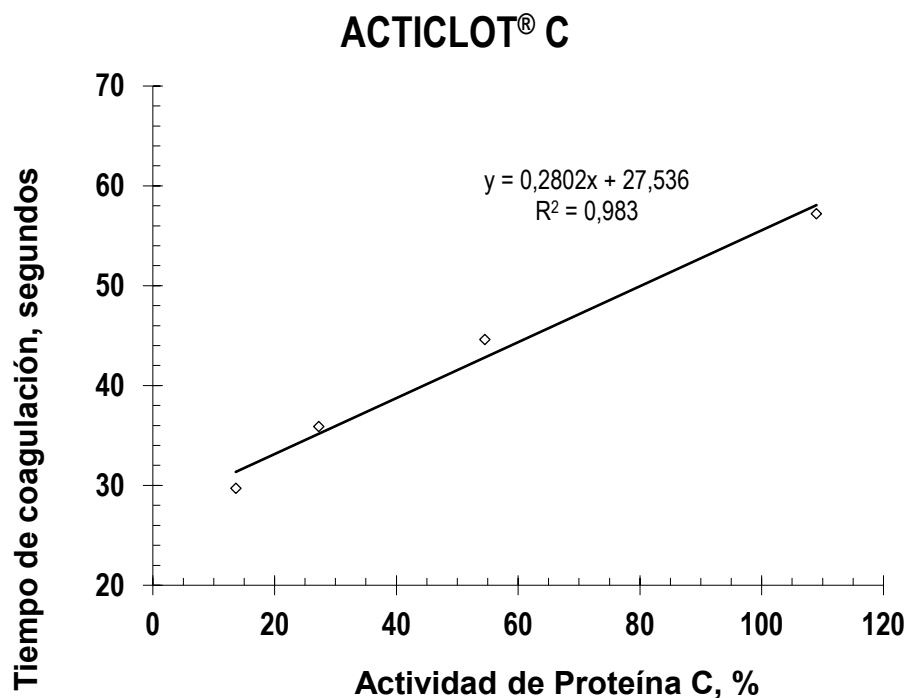
1. Añada 0,1 ml de plasma deficiente de proteína C + 0,1 ml de dilución estándar o muestra del paciente a una cubeta de coagulación.
2. Incube a 37° C durante 2 minutos.
3. Añada 0,1 ml de activador ACTICLOT.
4. Incube a 37° C durante 5 minutos.
5. Añada 0,1 ml de solución de cloruro de calcio 0,025 M.
6. Inicie el temporizador de coagulación y observe el tiempo de coagulación.
7. Obtenga determinaciones duplicadas para cada dilución de plasma.

RESULTADOS

Curva estándar representativa

Una curva estándar se construye graficando el tiempo medio de coagulación para cada estándar de Proteína C versus su actividad correspondiente en porcentaje. Se debe generar una curva estándar cada vez que se realiza la prueba. Dibuje la línea de mejor ajuste entre los puntos, típicamente una ecuación lineal, para el análisis de datos.

La siguiente curva estándar es solo para fines de demostración.



CÁLCULO DE RESULTADOS

Determine el % de Proteína C en la muestra de prueba interpolando de la curva estándar y multiplicando el resultado por dos para corregir la dilución. En el caso de pacientes con anticoagulantes tipo lupus o con actividad anormalmente alta de la Proteína C, donde se analizaron múltiples diluciones de pacientes, corrija el nivel de Proteína C para la dilución. Los niveles corregidos de Proteína C de al menos dos diluciones deben concordar.

CONTROL DE CALIDAD

El plasma de control de la proteína C incluido en el kit se evaluó frente a un material de referencia reconocido internacionalmente y puede ensayarse como parte del programa de control de calidad de un laboratorio. El plasma de control debe incluirse en el proceso siempre que se usen reactivos recién reconstituidos. El nivel obtenido para el plasma de control debe estar dentro del rango especificado por el vendedor o el laboratorio. Si el plasma de control falla en producir los niveles de proteína C dentro del rango especificado, se debe repetir el proceso. Póngase en contacto con BioMedica Diagnostics si los ensayos repetidos del control no producen niveles de proteína C dentro de límites aceptables.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Las pruebas de los pacientes con anticoagulantes de tipo lupus deben realizarse en diluciones múltiples, ya que se pueden inferir niveles de Proteína C artificialmente altos a partir de tiempos de coagulación prolongados.

Los pacientes con niveles anormalmente altos de FVIII:C pueden presentar niveles de proteína C inexactamente bajos ya que se pueden obtener tiempos de coagulación más cortos del plasma deficiente de proteína C. Estas muestras deben analizarse en múltiples diluciones.

SUSTANCIAS INTERFERENTES

Las siguientes sustancias en los niveles indicados pueden interferir con el ACTICLOT C.

Sustancia	Concentración
Heparina no fraccionada (UFH)	> 4 unidades/ml
Heparina de bajo peso molecular (LMWH)	> 2 unidades/ml
Hemoglobina	> 500 mg/dL
Bilirrubina	> 21 mg/dL
Triglicéridos	> 900 mg/dL

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Exactitud

En un estudio clínico que comparó ACTICLOT C con un ELISA de Proteína C, se obtuvieron los siguientes resultados:

Concentración de Proteína C en plasma (% del normal, media + D.E.)

Condición patológica	N	ACTICLOT C	Proteína C ELISA
Normal	40	89,0 ± 17,0	94,0 ± 16,0
DIC	10	29,4 ± 11,9	34,2 ± 13,0
Enfermedad hepática	10	18,6 ± 9,6	20,1 ± 14,6
Deficiencia de proteína C, congénita	10	37,9 ± 7,1	45,0 ± 8,1
Neonatos*	12	21,9 ± 5,3	19,3 ± 8,0
Heparinizada	10	93,7 ± 16,1	93,5 ± 14,2
Warfarina	20	23,2 ± 9,0	57,7 ± 15,7

*p.ej. síndrome de dificultad respiratoria, sepsis, trombosis, insuficiencia renal

Correlación entre el ACTICLOT C y la proteína C ELISA (no se incluyen los pacientes con warfarina):

Regresión	Coefficiente de Correlación	Error estándar de estimación
$y = 0,93x + 0,0014$	0,952	0,086

Precisión




El coeficiente de variación de ACTICLOT C se determinó utilizando muestras de plasma preparadas mezclando plasma de Proteína C que se ha vuelto inmunodeficiente con plasma normal agrupado para obtener niveles de Proteína C de 10%, 50% y 100%.

Nivel de proteína C	Variación intraprueba	Variación interprueba
100%	5,9%	2,4%
50%	4,7%	3,9%
10%	9,1%	9,3%

REFERENCIAS

1. Stocker, K., Fischer, H., Mejer, J., Brogil, M. y 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. y Stocker, K. Fast functional protein C assay using Protac, a novel protein C activator. *Thromb. Res.* 1986, 43: 253-264.
3. Consulte “Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guidelines-Fifth Edition” (Recolección, transporte y procesamiento de muestras de sangre para pruebas de coagulación basadas en plasma y pruebas de hemostasia molecular; Directrices aprobadas-Quinta edición), documento CLSI H21-A5, vol. 28, N° 5, enero de 2008.

DEFINICIONES DE SÍMBOLOS

	Consulte las instrucciones de uso		Advertencia
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro		Limitación de temperatura Almacenar entre 2° C y 8° C.
	Número de lote		Número de catálogo
	Fecha de caducidad		Fabricante
	Contiene suficiente para <n> pruebas		Contiene...
	marca de CE		Representante autorizado en la Unión Europea.