

ProClot - 0008468310

Aplicación

Técnica coagulativa automatizada para la determinación cuantitativa de la actividad funcional de la Protina C en plasma humano citratado en los Sistemas de Coagulación de IL.

Principio

La Protina C es una glicoproteína vitamino-K dependiente que está presente en el plasma como un ziógeno. Su activación fisiológica *in vivo* es llevada a cabo por la Trombina en presencia de Trombomodulina.^{1,2} La Protina C activada (PCa) desarrolla su acción anticoagulante por inactivación de los Factores Va y VIIIa.³ en presencia de iones calcio, fosfolípidos y de su cofactor, la Protina S. El efecto anticoagulante produce una prolongación del tiempo de coagulación. El déficit congénito de Protina C está asociado a trombosis venosa de repetición y embolismo pulmonar, especialmente en gente joven.² Déficits adquiridos de Protina C se observan en hepatopatías, terapia anticoagulante oral y en procesos de Coagulación Intravascular Diseminada (CID).^{4,5,6}

El Test ProClot es una técnica coagulativa que determina la actividad funcional de la Protina C y que se basa en la prolongación del Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TPPA) en presencia de Protina C activada. La utilización del TPPA para medir el efecto anticoagulante de la Protina C activada se debe a su sensibilidad a los niveles de Factor V y Factor VIII. La Protina C de la muestra es activada por el (Protac®), el cual es un rápido activador *in vitro* de la Protina C derivado del veneno de la culebra americana copperhead *Agkistrodon contortrix contortrix*.⁷

Composición

El kit ProClot consta de:

- A** **Protin C activator** (Cat. No. 0008468324): 4 x 1,5 mL viales de fracción proteica liofilizada derivada del veneno de la culebra americana copperhead *Agkistrodon contortrix contortrix* (Protac®) con estabilizantes.
- B** **Protin C deficiente plasma** (Cat. No. 0008468322): 4 x 1 mL viales de plasma humano liofilizado al que se le ha eliminado artificialmente la Protina C.
- P** **Protin C control plasma** (Cat. No. 0008468320): 2 x 1 mL viales de plasma humano liofilizado que contiene una concentración baja de Protina C.

PRECAUCIÓN:

El material usado en este producto ha sido verificado por los métodos aprobados por la FDA y anclado no reactivo al Antígeno de Superficie de la Hepatitis B (HBsAg), Anti-HCV y antisueros HIV. Manejar con precaución como si fuese potencialmente infeccioso.⁸

Indicaciones de Peligro: **Ninguna**

Frases de Riesgo: **Ninguna**

Frases de Seguridad: **Ninguna**

Este reactivo es para diagnóstico *in vitro*.

Preparación

Protin C activator: Disolver el contenido de cada vial con 1,5 mL de agua destilada CLSI CLRW®. Cerrar el vial y homogeneizar suavemente. Asegurarse de la completa disolución del producto. Mantener el reactivo entre 15 y 25°C durante 30 minutos. Mezclar por inversión del vial antes de su uso. No agitar. EL ACTIVADOR DE PROTEÍNA C QUE CONTIENE ESTE KIT DEBERA SER USADO SOLAMENTE PARA ANALISIS DE PROCLLOT.

Protin C deficiente plasma: Disolver el contenido de cada vial con 1 mL de agua destilada CLSI CLRW®. Cerrar el vial y homogeneizar suavemente. Asegurarse de la completa disolución del producto. Mantener el reactivo entre 15 y 25°C durante 30 minutos. Mezclar por inversión del vial antes de su uso. No agitar.

Protin C control plasma: Disolver el contenido de cada vial con 1 mL de agua destilada CLSI CLRW®. Cerrar el vial y homogeneizar suavemente. Asegurarse de la completa disolución del producto. Mantener el reactivo entre 15 y 25°C durante 30 minutos. Mezclar por inversión del vial antes de su uso. No agitar.

Working diluent: A 4,3 partes de diluyente ProClot añadir 1 parte de activador de Protina C.

Conservación y estabilidad de los reactivos

Antes de ser reconstituídos, el reactivo y el control, son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el vial, si se mantienen entre 2-8°C.

Protin C activator - Estabilidad después de la reconstitución: 15 días a 2-8°C o 60 días a -20°C en el vial original.

Protin C deficiente plasma - Estabilidad después de la reconstitución: 4 horas a 15-25°C, 4 horas a 15° en el Familia ACL TOP® o 7 días a -20°C en el vial original.

Protin C control plasma - Estabilidad después de la reconstitución: 4 horas a 15-25°C o 7 días a -20°C en el vial original.

Working diluent - Estabilidad después de la preparación: 8 horas a 2-8°C.

Notas:

- Los plasmas y los reactivos congelados se deberán descongelar a 37°C. Homogeneizar suavemente antes de su uso. No re congelar.
- Para obtener una estabilidad óptima de los reactivos, sugerimos que acabado al trabajo, conserve los reactivos en su vial original almacenado en nevera entre 2 y 8°C.

Método de Ensayo

Seguir las Instrucciones de la técnica de acuerdo al Manual del Operador de los Instrumentos IL o bien al Manual de Aplicaciones.

Nota: Se recomienda calibrar el test en cada sesión analítica si se utiliza la Familia ACL TOP.

Recolección y Preparación de las muestras

Recoger nueva porción de sangre recién extraída por punción venosa y una parte de anticoagulante citrato trisódico. Para la recolección, manejo y conservación del plasma seguir las recomendaciones del documento H21-A5 de la CLSI.¹⁸

Reactivos adicionales y plasmas de control

Los siguientes reactivos no se suministran con el kit y deberán pedirse por separado.

	Americas y Pacific Rim	Europa
	N° Cat.	N° Cat.
Diluyente ProClot	0008468600	0008468600
Plasma de Calibración	0020003700	0020003700
Plasma Control Normal	0020003220/0020003110	0020003110
Control Anormal Bajo	0020003220/0020003210	0020003210
APTT-SP (líquido)	0020006900	0020006900
Agente de Limpieza	0009831700	0009831700

Control de Calidad

Se recomienda el uso de los controles de plasma normales y anormales de IL para realizar un completo programa de Control de Calidad.¹¹ Tanto el Control Normal, como el Control Anormal Bajo al Control de protina C, están diseñados específicamente para este programa. Cada laboratorio debe establecer su propia media y desviación estándar, así mismo establecer un programa de Control de Calidad para monitorizar los resultados de su laboratorio. Los controles deben ser usados como mínimo una vez dentro del turno de 8 horas, de acuerdo a la normativa de Buenas Prácticas en el Laboratorio. Referirse al Manual del Operador para información adicional. Consultar la publicación de Westgard y col. para una identificación y resolución de situaciones anormales del Control de Calidad.¹²

Trazabilidad de los calibradores y controles

Los valores Informados fueron determinados después de realizar múltiples series en los sistemas de Coagulación de IL usando un lote específico de reactivo y un Estándar Interno de Plasma Calibrador. Dicho Estándar está valorado respecto al estándar de protina C Internacional actual, indicado en la ficha técnica.

ESPAÑOL - Revisión folleto 06/2014

Resultados

Los resultados del test de ProClot se informan en segundos, Actividad (%) y ratio. Referirse al Manual del Operador para más información.

Limitaciones/interferencias

No existe interferencia en los resultados de ProClot en los sistemas ACL Centrífugos y ACL Futura/ACL Advance, por niveles de heparina (UF) hasta 2 U/mL. No existe interferencia en los resultados de ProClot en los sistemas ACL Futura/ACL Advance, por niveles de hemoglobina hasta 150 mg/dL, bilirrubina hasta 20 mg/dL, o triglicéridos hasta 500 mg/dL. Los resultados de Protina C en la Familia ACL TOP no son afectados por la heparina (UF) hasta 1,5 U/mL, heparina (LMW) hasta 0,7 U/mL, hemoglobina hasta 200 mg/dL, bilirrubina hasta 25 mg/dL, y triglicéridos hasta 600 mg/dL.

Los resultados del test ProClot pueden verse afectados por la presencia en la muestra del paciente del Anticoagulante Lúpico (AL), concentraciones altas de Factor VIII (> 250%) y por la presencia de una Resistencia a la Protina C Activada (APC-R/Factor V Leiden).^{13,14} sobrelido en pacientes homocigóticos para esta mutación genética. Si se sospecha que una muestra puede estar afectada por alguno de los puntos anteriormente mencionados, sugerimos probar diluciones 1:2, 1:4 con Plasma deficiente en protina C. Después de su análisis los valores obtenidos se multiplicarán por 2 ó 4 según la dilución realizada.

Valores esperados

Los niveles de actividad Protina C en individuos sanos están aproximadamente entre el rango 70 - 140%. Los niveles de Protina C son bajos en neonatos y durante la infancia e incrementan hasta niveles propios de adultos durante la adolescencia.¹⁵

Debido a las variables que pueden afectar los resultados, cada laboratorio debe verificar su propio rango de normalidad.

Características técnicas

Precisión:

La precisión intraserie y total (serie a serie y día a día) fue realizada en diferentes series y utilizando muestras normales y anormales.

Familia ACL	Medio (Actividad %)	CV % (Intraserie)	CV % (Total)
Control Normal	100	2,72	4,57
Control Anormal Bajo	32,0	2,56	7,34
Control Anormal Alto	17,2	5,47	10,48

ACL Futura

ACL Advance	Medio (Actividad %)	CV % (Intraserie)	CV % (Total)
Control Normal	114	2,08	4,74
Control Anormal Bajo	28,7	5,06	8,61
Control Anormal Alto	14,4	6,11	9,24

Familia ACL TOP

	Medio (Actividad %)	CV % (Intraserie)	CV % (Total)
Control Normal	112	5,8	7,0
Control Anormal Bajo	30,3	5,9	6,5
Control Anormal Alto	16,3	6,2	8,3

Correlación:

Sistema	Pendiente	Intersección	r	Método de Referencia
Familia ACL	0,9207	1,479	0,941	IL ProChrom
ACL Futura				
ACL Advance	1,2	-8,80	0,987	IL ProClot en ACL
Familia ACL TOP	1,035	0,941	0,975	IL ProClot en ACL Futura/ACL Advance

Estos resultados de precisión y correlación se obtuvieron utilizando lotes específicos de reactivos y controles.

Líneaalidad:

Sistema

Sistemas de Coagulación de IL 10 - 150 (Actividad %)