

Aplicación

Test Cromogénico automatizado para la determinación cuantitativa de la Proteína C en plasma humano citratado para los Sistemas de Coagulación IL.

Principio

La Proteína C es una proteína dependiente de la Vitamina K que está presente en el plasma como zimógeno. *In vivo*, la trombina activa la Proteína C en presencia de Trombomodulina.^{1,2} *In vitro*, la Proteína C puede activarse por la fracción proteica derivada del veneno de la serpiente *Agkistrodon contortrix*.^{3,4} La deficiencia de Proteína C está asociada con trombosis venosa recurrente, especialmente en adultos jóvenes.⁵ Las deficiencias adquiridas de Proteína C están asociadas con hepatopatías, con terapia anticoagulante oral y con coagulación intravascular diseminada.^{6,7} El kit Proteína C es un ensayo basado en un sustrato cromogénico sintético.

El nivel de Proteína C en el plasma de los pacientes se mide automáticamente en los sistemas de coagulación IL en dos etapas:

1. Incubación del plasma con el activador de la Proteína C.
2. Cuantificación de la Proteína C activada usando un sustrato cromogénico sintético. La Paranitroanilina liberada se mide ópticamente a 405 nm, siendo su nivel directamente proporcional a la actividad de la Proteína C de la muestra.

Composición

El kit Proteína C consta de:

- B** Diluent (N° Cat. 0020300530): 1 x 8 mL vial de solución concentrada conteniendo Cloruro Sódico al 0,9% con conservante.
 - A** Proteína C activador (N° Cat. 0020300510): 2 x 2,5 mL viales de fracción liofilizada derivada del veneno de la serpiente *Agkistrodon contortrix* (1 unidad/vial), tampón y albúmina de suero bovino con conservante.
 - S** Cromogénico sustrato (N° Cat. 0020300520): 2 x 2,5 mL viales de sustrato cromogénico liofilizado S-2966 pyr-Glu-Pro-Arg-pNA.HCl (3,75 mg/vial), Inhibidor de la Trombina sintético I-2581 (0,125 mg/vial) y estabilizantes.
- Etiquetas de código de barras (Cat.No.303534): 3 etiquetas de código de barras lineales para pegarlas en el 10mL vial de diluyente diluido (no incluido en el kit). El código de barras contiene el número de lote y la fecha de caducidad del diluyente concentrado.

PRECAUCIÓN:

Indicaciones de Peligro: ninguna

Frasas de Riesgo: ninguna

Frasas de Seguridad: ninguna

El diluyente contiene ácido sódico que puede reaccionar con tuberías metálicas dando lugar a espumas explosivas. Tomar las precauciones adecuadas para su desecho.

Este reactivo es para diagnóstico *in vitro*.

Preparación

Diluent: Diluir la cantidad necesaria de diluyente concentrado para su análisis, 1:10 (1+9) con agua destilada tipo II de acuerdo a CLSI.⁸ Mezclar antes de usar.

Etiquetas de código de barras: Pegar las etiquetas de código de barras en un vial de 10mL de diluyente diluido (no incluido en el kit). El código de barras lineal contiene el número de lote y la fecha de caducidad del diluyente concentrado.

Proteína C activador: Disolver el contenido de cada vial con 2,5 mL de agua destilada tipo II de acuerdo a CLSI.⁸ Correr al vial y homogenizar suavemente. Asegurarse de la completa disolución del producto. Mantener el reactivo entre 15 y 25°C durante 30 minutos. Mezclar suavemente por inversión del vial antes de su uso.

EL ACTIVADOR DE LA PROTEÍNA C QUE CONTIENE ESTE KIT DEBE USARSE SOLAMENTE PARA EL ENSAYO PROTEÍNA C.

Cromogénico sustrato: Disolver el contenido de cada vial con 2,5 mL de agua destilada tipo II de acuerdo a CLSI.⁸ Correr al vial y homogenizar suavemente. Asegurarse de la completa disolución del producto. Mantener el reactivo entre 15 y 25°C durante 30 minutos. Mezclar suavemente por inversión del vial antes de su uso.

Conservación y estabilidad de los reactivos

Los reactivos que no hayan sido abiertos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el vial si se mantienen a 2-8°C.

Diluent - El reactivo, una vez abierto, debe mantenerse a 2-8°C en el vial original.

Proteína C activador - Estabilidad después de la reconstitución: 7 días a 15°C, 3 meses a 2-8°C en el vial original o 5 días a 15°C en los sistemas ACL Futura y ACL Advance y en el Familia ACL TOP⁹.

Cromogénico sustrato - Estabilidad después de la reconstitución: 7 días a 15°C, 3 meses a 2-8°C en el vial original o 5 días a 15°C en los sistemas ACL Futura y ACL Advance y en el Familia ACL TOP.

Para obtener una estabilidad óptima del reactivo reconstituido, sugerimos que acabado el trabajo, conserve el reactivo 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.

Recolección y Preparación de las muestras

Recoger nuevo 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.⁹

Reactivos adicionales y plasmas de control

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

	América y Pacífico: Rim N° Cat.	Europa N° Cat.
Plasma Calibrador	0020003700	0020003700
Control Normal	0020003120/0020003110	0020003110
Control de Técnicas Especiales Nivel 1	0020011000	0020011000
Control de Técnicas Especiales Nivel 2	0020012000	0020012000
Control Anormal Bajo	0020003220/0020003210	0020003210
Agente de limpieza	0009832700	0009832700

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.¹⁰ Tanto el Control Normal, como el Control Anormal Bajo y los Controles de Técnicas Especiales Nivel 1/2 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.¹¹

Resultados

Los resultados de la Proteína C se informan en actividad (%). Referirse al Manual del Operador para información adicional.

Limitaciones/Interferencias

Concentraciones de Heparina (Heparina no fraccionada o Heparina de bajo peso molecular) hasta 2 U/mL, Hemoglobina hasta 200 mg/dL, Triglicéridos hasta 500 mg/dL, y Bilirrubina hasta 5 mg/dL, no alteran los resultados de la Proteína C en los sistemas ACL Classic (100-7000) y ACL Futura/ACL Advance.

Concentraciones de Heparina (Heparina no fraccionada o Heparina de bajo peso molecular) hasta 2 U/mL, Hemoglobina hasta 200 mg/dL, Triglicéridos hasta 880 mg/dL, y Bilirrubina hasta 21 mg/dL, no alteran los resultados de la Proteína C en el Familia ACL TOP.

Muestras patológicas que han sido sometidas a activación por contacto pueden producir resultados falsos de nivel elevado de Proteína C. Por ejemplo, una actividad equivalente a 200-300 U/L de Calcitrina resultará en una elevación del 10-20% en la actividad detectada de Proteína C. Se conoce que la Aprotinina inhibe la Proteína C activada, por lo que una baja actividad de Proteína C puede observarse en pacientes tratados con Aprotinina.

Valores esperados

Los niveles de actividad de Proteína C en individuos sanos están aproximadamente entre el 70 - 140 %. Los niveles de Proteína C son bajos en neonatos y niños pequeños, y durante la adolescencia aumentan hasta niveles propios del adulto.¹²

Debido a la existencia de múltiples variables que pueden afectar a los resultados, se aconseja que cada laboratorio establezca 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.

ACL Classic (100-7000)	Media (actividad %)	CV % (Intraserie)	CV % (Total)
Control Normal	99,0	1,57	1,90
Control Anormal Bajo	30,1	1,75	2,45
Control Anormal Alto	19,5	3,34	6,40

ACL B/910000/ ELITE/ELITE PRO	Media (actividad %)	CV % (Intraserie)	CV % (Total)
Control Normal	95,4	1,68	2,26
Control Anormal Bajo	51,1	1,77	2,44
Control Anormal Alto	22,8	3,31	5,06

ACL Futura ACL Advance	Media (actividad %)	CV % (Intraserie)	CV % (Total)
Control Normal	96,0	1,46	3,94
Control Anormal Bajo	27,4	1,66	2,92
Control Anormal Alto	16,7	2,43	7,23

Familia ACL TOP	Media (actividad %)	CV% (Intraserie)	CV% (Total)
Control Normal	120,4	2,6	3,3
Control Anormal Bajo	30,9	3,0	4,3
Control Anormal Alto	18,4	3,7	4,7

Correlación:

Sistema	Pendiente	Intersección	r	Método de Comparación
ACL Classic (100-7000)	0,955	0,204	0,990	COAMATIC® Proteína C, Chromogénix, AB
ACL Futura	0,984	-1,017	0,996	COAMATIC® Proteína C, Chromogénix, AB
ACL Advance			0,990	HemoSL® Proteína C en ACL Advance
Familia ACL TOP	1,145	-0,323		

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

Linealidad:

Sistema	10 - 120 (actividad %)	10 - 150 (actividad %)
Familia ACL y ACL Futura/ACL Advance		
Familia ACL TOP		

Bibliography / Literatur / Bibliografie / Bibliographie / Bibliografia / Literatur / Literaturbibliografie

1. Kisiel W. Human plasma Protein C - Isolation, Characterization and Mechanism of Activation by Alpha Thrombin. *J. Clin. Invest.* 1979; 64:761-769.
2. Smerlin J. Structure and Function of Protein C. *Seminars in Thrombosis and Haemostasis* 1984; 10(2): 109-121.
3. Francis Jr. RB, Patch M.J. A Functional Assay for Protein C in Human Plasma. *Thrombosis Research* 1983; 32: 605-613.
4. Martinoli JL, Stocker K. Fast Functional Protein C Assay Using Protac, A Novel Protein C Activator. *Thrombosis Research* 1986; 43: 253-264.
5. Griffin JH, Mosher DF, Zimmerman TS, Klase AJ. Protein C, an Antithrombotic Protein, is Reduced in Hospitalized Patients with Intravascular Coagulation. *Blood* 1982; 60: 261-264.
6. Mannucci PM, Viganò S. Deficiency of Protein C and Inhibitor of Blood Coagulation. *Lancet* 1982; 2: 463-467.
7. Comp PC, Nixon R, Esmon CT. Determinations of Functional Levels of Protein C, an Antithrombotic Protein, using Thrombin/Trombomodulin Complex. *Blood* 1984; 63: 16-21.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Preparation and Testing of Reagent Water in the Clinical Laboratory; Approved Guideline. Fourth Edition, CLSI Document C3-A4; Vol. 26 No.22.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation and Molecular Haemostasis Assays; Approved Guideline - Fifth Edition, CLSI Document H21-A5; Vol. 28 No. 5.
10. Zucker S, Cathay MH, West B. Preparation of Quality Control Specimens for Coagulation. *Am. J. Clin. Pathol.* 1970; 53: 924-927.
11. Westgard JO, Barry PL. Cost-Effective Quality Control: Managing the Quality and Productivity of Analytical Process. *ANCC Press* 1986.
12. Kotliko-Marchant K, Comp P. Laboratory Issues in Diagnosing Abnormalities of Protein C, Thrombomodulin, and Endothelial Cell Protein C Receptor. *Arch Pathol Lab med* 2002; 126:1337-1348.

The Instrumentation Laboratory logo, HemosIL, ACL, ACL Futura, ACL ELITE and ACL TOP are trademarks of Instrumentation Laboratory Company and/or one of its subsidiaries or parent companies, and may be registered in the United States Patent and Trademark Office and in other jurisdictions.

©1999 Instrumentation Laboratory
Issued August 2014