

## Test cromogenico per la misurazione dell'attività della Proteina C nel plasma.

### PRINCIPIO

C'è una proteina plasmatica, la vitamina K dipendente, che inibisce e regola la coagulazione attraverso specifiche scissioni dei fattori Va e VIIIa, rimuovendo la loro attività procoagulante.

Usando il kit Proteina C, la Proteina C plasmatica è misurata seguendo una specifica attivazione di Protac<sup>®</sup>, un enzima estratto dal veleno di serpente (Agkistrodom C Contortrix)<sup>4,5</sup>. Quindi Proteina C (aPC) fende l'idrolisi del substrato specifico SaPC-21by, rilasciando para-nitroanilina (pNA), C'è un rapporto diretto tra lo sviluppo del colore e dell'attività della Proteina C nel plasma testato.

**CAMPIONE:** Effettuare il prelievo venoso evitando emolisi e contaminazioni. Miscelare immediatamente il sangue con l'anticoagulante 9 volumi di sangue e 1 volume di soluzione di Citrato di sodio (0,11 mol/L). Centrifugare a 2500 giri/minuto per 15". Prelevare il sovrantante. Non usare EDTA o eparina..

### Note

Se il test non è eseguito in giornata, conservare il plasma a 2-8°C per 48 ore. Per periodi più lunghi congelare il campione.

### REATTIVI

#### Reagente 1 : Protac

Un'enzima purificato, estratto dal veleno di serpente Agkistrodon C Contortrix, stabilizzato liofilo, in grado di attivare specificamente la Proteina C

#### Reagente 2 : PCa-2

6 umol, PAD-Pro-Arg-pNA.AcOH

#### Reagente 3 : Buffer

Tris (6,1 g/l)-NaCl (12,7 g/l)-Albumina (0,1%)-Buffer pH 8.4

### PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

Il glicole polietilenico non è pericoloso.

*Ogni donatore utilizzato per la preparazione di standard e controlli è stato controllato per la presenza di HIV (1/2) ed Epatite B/C, secondo metodi approvati dalla FDA, ed è stato accertato negativo. Tuttavia, il materiale deve essere trattato come se fosse potenzialmente infetto.*

**Attenzione:** Evitare l'ingestione ed il contatto con pelle, occhi e mucose.

### PREPARAZIONE DEI REATTIVI

Ricostituire il flacone di R1 con 1 mL di Acqua Bidistillata.

Ricostituire il flacone di R2 con 1 mL di Acqua Bidistillata.

### CONSERVAZIONE E STABILITÀ

I reattivi sono stabili fino alla scadenza, se conservati a 2-8°C.

### SMALTIMENTO RIFIUTI

Il prodotto deve essere smaltito secondo le locali normative in materia di gestione dei rifiuti.

### INTERFERENZE

- Nessuna interferenza significativa si osserva per le concentrazioni di eparina fino a 2 IE eparina/ml.
- La presenza di anticorpi della proteina C anti-umani nel plasma possono inibire la Proteina C e l'attività amidolitica durante il dosaggio.
- Al fine di ottenere le prestazioni ottimali del test, le istruzioni di lavoro devono essere attentamente osservate. Ogni laboratorio deve verificare le prestazioni nelle sue esatte condizioni di lavoro

### PROCEDIMENTO per MINICLOT 4 PLUS

Lunghezza d'onda

λ 405 nm

Temperatura di lavoro

37°C

### OPERAZIONE PRELIMINARE:

- 0) Dispensare 25 µL di campione in una cuvetta.
- 1) Aggiungere 50 µL di R1 e premere enter.
- 2) Attendere 300 secondi di incubazione.
- 3) Miscelare in una cuvetta a parte 50 µL di Reagente R2 + 250 µL di Reagente R3
- 4) Alla fine dei 300 secondi di incubazione aggiungere i 300 µL appena preparati alla cuvetta contenente Campione + R1 e premere enter.
- 5) Attendere la fine del periodo di lettura per il risultato.

### CALCOLO DEI RISULTATI

Il coagulometro MINICLOT 4 PLUS esegue automaticamente il calcolo dei risultati che verranno visualizzati sul display al termine della procedura automatica e dopo il suono del beep. Tali risultati possono essere stampati tramite stampante termica integrata allo strumento

### VALORI DI RIFERIMENTO (cfr Bibliografia 1)

Valori normali : 70 – 140 %

Poiché i valori normali dipendono dall'età, dal sesso, dalla dieta, dall'area geografica e da altri fattori, ogni laboratorio deve stabilire i propri valori normali per questa procedura.


### BIBLIOGRAFIA

- Tsiang M et al. Functional requirements for inhibition of Thrombin by Antithrombin III in the presence and absence of heparin. The journal of biological Chemistry vol. 272 N° 18 12024-12029 (1997)
- Odegard O R et al. Heparin cofactor activity measured with an amidolytic method. Thromb res 6, 287-294 (1975)
- Mann K.G. Biochemistry and Physiology of blood coagulation. Thrombosis and Haemostasis vol 82 N°2 165-174 (1999)
- Demers C et al. An Antithrombin III assay based on factor Xa inhibition provides a more reliable test to identify congenital antithrombin III deficiency than an assay based on thrombin inhibition. Thromb Haemostas 69, 231-235 (1993)
- Leslie B. et al. Investigation of anticoagulant mechanism of a covalent antithrombin-heparin complex. The Journal of Biological Chemistry vol. 273 N°52 34730-34736 (1999)
- Mortensen J.Z. Inherited ATIII deficiency. Fast and slow inactivation of thrombin and Factor Xa Tgromb. Res. 33, 511-515 (1984)
- Tran T H et al. Influence of heparin cofactor II (HCII) in the determination of Antithrombin III (AT). Thromb Res. 40, 571-576 (1985)


### Simbologia

Consultare istruzioni per l'uso 

Dispositivo medico-diagnostico in vitro 

Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/97/CE) 

Limite temperatura di conservazione 

Rischio biologico 

Fabbricante 