

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[®], un enzima estratto dal veleno di serpente (Agkistrodom C Contortrix) ^{4,5}. 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 