



# Chrom Protein C

Para la determinación cuantitativa de proteína C por método cromogénico

## SIGNIFICACION CLINICA

La proteína C es una proteína vitamina K dependiente que, junto con su cofactor proteína S, actúa como un inhibidor de la coagulación, a través de la regulación de los factores V y VIII activados. Es una serin proteasa que se activa a proteína C activada por acción del complejo trombina-trombomodulina en la superficie de las células endoteliales. La deficiencia de proteína C tanto hereditaria como adquirida puede conducir a manifestaciones tromboticas con distinto grado de severidad. La manifestación más frecuente de la enfermedad es la trombosis venosa profunda de los miembros inferiores, complicada o no con una embolia pulmonar.

## FUNDAMENTOS DEL METODO

La proteína C en el plasma es activada por el veneno de serpiente Agkistrodon contortrix. La cantidad de proteína C activada se determina midiendo la velocidad de hidrólisis de un sustrato cromogénico específico de la proteína C (Pad-Pro-Arg-pNA). La liberación de p-nitroanilina se mide a 405 nm y es proporcional al nivel de proteína C.

## REACTIVOS PROVISTOS

**A. Reactivo A:** sustrato cromogénico de la proteína C (Pad-Pro-Arg-pNA), 6 µmoL. Liofilizado.

**B. Reactivo B:** activador de proteína C conteniendo 0,8 Unidades/vial de extracto de veneno de serpiente. Liofilizado.

**C. Reactivo C:** 6,1 g/L buffer Tris, 12,7 g/L NaCl y 0,1% albúmina, pH 8,4.

**Calibrador 1:** standard de proteína C (ver concentración en el rótulo). Liofilizado.

**Calibrador 2:** standard de proteína C (ver concentración en el rótulo). Liofilizado.

**Calibrador 3:** standard de proteína C (ver concentración en el rótulo). Liofilizado.

## REACTIVOS NO PROVISTOS

- Agua destilada

- Coagulation Control N y Coagulation Control P de Wiener lab.

## INSTRUCCIONES PARA SU USO

**Reactivo C:** listo para usar.

**Reactivos A, B y Calibradores:** reconstituir con el volumen de agua destilada indicado en el rótulo. Tapar y dejar reposar 30 minutos. Mezclar suavemente, sin agitar hasta obtener una solución homogénea.

## PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Los Calibradores han sido preparados a partir de material no reactivo para HBsAg, anticuerpos contra HCV y anticuerpos contra HIV 1+2. Sin embargo, al igual que las muestras de sangre, debe manejarse como si se tratara de material infectivo. Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

## ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Los Reactivos Provistos son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Una vez reconstituidos son estables:

Reactivo	37°C	TA (< 25°C)	2-10°C	-20°C
Reactivo A	8 horas	1 semana	1 mes	6 meses
Reactivo B	-	3 días	1 semana	6 meses
Calibrador 1-3	-	8 horas	2 días	6 meses

## MUESTRA

Plasma citratado

**a) Recolección:** obtener sangre cuidadosamente (evitando estasis o trauma) y colocar en un tubo con anticoagulante en proporción 9 + 1 exacta (ejemplo: 4,5 mL de sangre + 0,5 mL de anticoagulante). Mezclar suavemente. Centrifugar durante 15 minutos a 2.500 g separando el plasma antes de los 30 minutos.

**b) Aditivos:** para obtener el plasma debe emplearse Anti-coagulante TP de Wiener lab. o citrato de sodio 130 mmol/L (3,8%) o 109 mmol/l (3,2%).

**c) Sustancias interferentes conocidas:** no debe emplearse EDTA o heparina para obtener plasma.

No se observan interferencias por heparina hasta 2 UI/mL. Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

**d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** el plasma debe mantenerse a temperatura ambiente hasta el momento de efectuar la prueba. Este período no debe prolongarse más de 4 horas. En caso de no poder procesarse en este lapso, el plasma puede congelarse hasta 6 meses a -20°C.

## MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Tubos de hemólisis.

- Pipetas o micropipetas para medir los volúmenes indicados.
- Cronómetro.
- Baño de agua termostatzado a 37°C
- Espectrofotómetro o analizador de coagulación.

#### CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 405 nm
- Temperatura de reacción: 37°C
- Tiempo de reacción: 8 minutos
- Volumen final: 1.15 mL para técnica de punto final y 0.75 mL para técnica cinética.

#### PROCEDIMIENTO

##### Técnica cinética

Buffer Sustrato 1:6: diluir el Reactivo A 1:6 con Reactivo C (1 parte de Reactivo A + 5 partes de Reactivo C). Pre-calentar a 37°C. En un tubo marcado D (Desconocido) o C (Calibrador) colocar:

	D o C
<b>Muestra</b>	50 uL
<b>Reactivo B</b>	100 uL

Mezclar e incubar exactamente 5 minutos a 37°C. Luego agregar:

<b>Buffer Sustrato 1:6</b>	0,60 mL
----------------------------	---------

Mezclar y leer la absorbancia a 405 nm durante 3 minutos ( $\Delta A/\text{min}$ ) registrando las absorbancias cada minuto. Calcular la actividad de Proteína C (%) utilizando el cambio de absorbancia por minuto e interpolando en la curva de calibración.

#### CURVA DE CALIBRACION

Graficar la absorbancia obtenida para cada calibrador ( $\Delta A/\text{min}$  ó A) en función del % de proteína C de cada Calibrador indicado en el rótulo. La concentración de proteína C en el plasma del paciente se determina por interpolación en la curva de calibración.

#### VALORES DE REFERENCIA

70-130 %

Cada laboratorio debe establecer sus propios valores de referencia a partir de las técnicas e instrumental empleado.

#### METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Coagulation Control N y Coagulation Control P de Wiener lab.

#### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas y Estabilidad e instrucciones de almacenamiento en MUESTRA.

Se requiere una nueva calibración para cada lote de reactivos y para cada instrumento utilizado.

Valores de heparina en plasma superiores a 2 UI heparina/mL afectan los resultados del ensayo.

#### PERFORMANCE

**a) Reproducibilidad:** se determinó con diferentes muestras (en series y día a día). Se obtuvieron los siguientes resultados:

##### Precisión intraensayo

Nivel	D.S.	C.V.
106,2%	2,23%	2,10%
22,2%	1,32%	5,95%

##### Precisión interensayo

Nivel	D.S.	C.V.
106,2%	2,87%	2,70%
22,2%	1,31%	5,90%

**b) Rango de medición:** 10 - 170%

#### PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Referirse a las adaptaciones específicas de cada analizador.

#### PRESENTACION


3 x 1 mL Reactivo A  
 3 x 1 mL Reactivo B  
 1 x 60 mL Reactivo C  
 1 x 1 mL Calibrador 1  
 1 x 1 mL Calibrador 2  
 1 x 1 mL Calibrador 3  
 (Cód. 1705013)

#### BIBLIOGRAFIA

- Walker FJ (1981) Regulation of activated protein C by protein S. The role of phospholipid in factor Va inactivation, J BiolChem, 256: 11128-31.
- Taylor FB, Lockhart MS (1985) A new function for activated protein C: activated protein C prevents inhibition of plasminogen activators by releasate from mononuclear leukocytes--platelet suspensions stimulated by phorbol diester, Thromb Res,37(1): 155-64.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2008) Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Haemostasis Assays: Approved Guideline, 5<sup>th</sup> ed. CLSI: H21-A5.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4<sup>th</sup> ed., 2001.


## SÍMBOLOS

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.

 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea

 Uso diagnóstico "in vitro"


 Contenido suficiente para <n> ensayos

 Fecha de caducidad

 Límite de temperatura (conservar a)

 No congelar

 Riesgo biológico


 Volumen después de la reconstitución

 Contenido


 Número de lote

 Elaborado por:

 Nocivo

 Corrosivo / Cáustico

 Irritante

 Consultar instrucciones de uso


 Calibrador

 Control

 Control Positivo

 Control Negativo

 Número de catálogo

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.  
Riobamba 2944  
2000 - Rosario - Argentina  
<http://www.wiener-lab.com.ar>  
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola  
Bioquímica  
Producto Autorizado A.N.M.A.T.  
PM-1102-105



**Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina