

## COAMATIC® Protein C - 82 2098 63

### Intended use

This kit is for the quantitative determination of Protein C activity in human citrated plasma.

### Background and summary

Protein C is a vitamin K dependent plasma protein which plays an important role in the anticoagulant regulatory mechanisms. It circulates as a zymogen and is converted to an active serine protease, activated Protein C (APC), by the action of thrombin in presence of thrombomodulin. APC regulates the coagulation system by proteolytic cleavage and inactivation of activated factors V and VIII. Hereditary and/or acquired Protein C deficiency has been shown to be a risk factor for development of venous thrombosis.

### Measurement principle

Protein C in plasma is activated by a specific enzyme from Southern Copperhead Snake venom. The amount of activated protein C is determined by the rate of hydrolysis of the chromogenic substrate S-2366. The pNA release measured at 405 nm is proportional to the Protein C level in the range from 0-120% of normal plasma.

Protein C     **Protein C Activator** → APC

S-2366 **APC** → Peptide + pNA

### Reagents

- S-2366 6 mg** Lyophilized chromogenic substrate pyroGlu-Pro-Arg-pNA-HCl. 2 vials
- Protein C activator 1.2 U** Lyophilized venom enzyme from Southern Copperhead Snake (Agkistrodon Contortrix Contortrix), with bovine serum albumin (stabilizer) and Ciprofloxacin® (preservative). 2 vials

### PRECAUTION AND WARNINGS

S-2366:

**Hazard class: none**

**Hazard Statements: none**

**Precautionary Statements: none**

Protein C Activator:



**Danger**

**Hazard class: Resp. Sens. 1, H334 - Skin Sens. 1, H317**

**Hazard Statements:** H334: May cause allergy or asthma symptoms or breathing difficulties if inhaled. H317: May cause an allergic skin reaction.

**Precautionary Statements:** P261: Avoid breathing dust. P280: Wear protective gloves/protective clothing/ eye protection/face protection. P304+P341: IF INHALED: If breathing is difficult, remove victim to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing. P302+P352: IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water. P342+P311: If experiencing respiratory symptoms: Call a POISON CENTER or doctor/ physician. P333+P313: If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention. P501: Dispose off contents/container in accordance with local/regional/national/international regulations.

Protein C activator 1.2 U contains bovine material. All donor animals were sourced from BSE-free herds. The cattle received ante- and post mortem health inspection by a veterinarian, and they were apparently free from infectious and contagious material. However, the material should be treated as potentially infectious. This product is for *in vitro* diagnostic use.

### Reagent preparation

- For microplate and test tube techniques reconstitute each reagent with 7.2 mL of water (see REAGENTS 3.) Replace the stopper and swirl gently. Make sure of the complete reconstitution of the product. Keep reagent at 15-25°C for 10-30 min and invert before use.
- NOTE: Other reagent reconstitution volumes may apply for automated methods. Reagents are not interchangeable between lots.

### Reagents required but not provided

- Deionized water, filtered through 0.22 µm or NCCLS type II water®.
- Human normal plasma with a Protein C activity of 100%.
- Different standard dilutions are obtained by diluting normal plasma with water (see REAGENTS 3). A lyophilized preparation of human normal plasma, calibrated against International standard for Protein C is recommended.
- Acetic acid 20% or citric acid 2%.

### Materials required but not provided:

- Spectrophotometer 405 nm (405 nm and 490 nm for microplate procedure)
- Incubator 37°C ± 0.2°C
- Microplates\* or semi-micro cuvettes
- Centrifuge, 2000 x g
- Plastic test tubes
- Stopwatch

## COAMATIC® Protein C - 82 2098 63

### Verwendungszweck

Zur quantitativen Bestimmung der Protein C-Aktivität in menschlichem Citratplasma

### Grundlagen und Zusammenfassung

Protein C ist ein Vitamin-K-abhängiges Plasmaprotein, das zu den wichtigsten Inhibitoren der plasmatischen Gerinnung zählt. Im Plasma zirkuliert Protein C als Zymogen; durch Einwirkung von Thrombin in Anwesenheit von Thrombomodulin wird es in eine aktive Serineprotease umgewandelt, das sogenannte aktivierte Protein C (APC). APC reguliert das Gerinnungssystem durch proteolytische Spaltung und Inaktivierung der aktivierten Faktoren V und VIII. Es konnte gezeigt werden, daß ein hereditärer oder erworbener Protein C-Mangel einen Risikofaktor für die Entstehung von Venenthrombosen darstellt.

### Testprinzip

Das im Plasma enthaltene Protein C wird durch ein spezifisches Enzym aus dem Schlangengift der Agkistrodon c. contortrix aktiviert. Der Gehalt an aktiviertem Protein C wird durch die Geschwindigkeit der Hydrolyse des chromogenen Substrates S-2366 gemessen. Die bei 405 nm gemessene pNA-Freisetzung ist in einem Bereich von 0 bis 120% der Norm eines Normalplasmas dem Protein C-Gehalt der Probe proportional.

Protein C     **Protein C-Aktivator** → APC

S-2366 **APC** → Peptid + pNA

### Reagenzien

- S-2366 6 mg** Lyophilisiertes chromogenes Substrat pyroGlu-Pro-Arg-pNA-HCl 2 Flaschen
- Protein C activator 1.2 U** Lyophilisiertes Enzym aus dem Schlangengift der Agkistrodon Contortrix Contortrix mit Rinderserumalbumin (Stabilisator) und Ciprofloxacin® Konservierungsmittel. 2 Flaschen

### ACHTUNG: INFEKTIONSRISSIKO

S-2366:

**Gefahrenklasse:** keine

**Gefahrenhinweise:** keine

**Sicherheitssätze:** keine

Protein C Activator:



**Gefahrenklasse:** Sens. Atemw. 1, H334 - Sens. Haut 1, H317

**Gefahrenhinweise:** H334: Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen. H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen

**Sicherheitssätze:** P261: Einatmen von Staub. P280: Schutzhandschuhe/Schutzbekleidung Augenschutz/ Gesichtsschutz tragen. P304+P341:BEI EINATMEN: Bei Atembeschwerden an die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert. P302+P352: BEI KONTAKT MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen. P342+P311: Bei Symptomen der Atemwege: GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. P333+P313: Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. P501: Inhalt/ Behälter gemäß lokaler/regionaler/ nationaler/internationaler Vorschriften zuführen.

Protein C-Aktivator enthält bovines Material. Alle Spendertiere stammen aus BSE-freien Herden. Die Tiere durchliefen eine ante- und post-mortem Gesundheitsüberprüfung durch einen Veterinär. Dabei zeigten sie sich offensichtlich frei von infektiösem und ansteckendem Material. Dennoch sollten die Materialien als potentiell infektiöses behandelt werden.

Dieses Produkt ist nur für die *in vitro* Diagnostik geeignet.

### Lösen der Reagenzien

Manuelle Methoden (Mikrotiterplatten und Halb-Mikro-Ansatz): mit 7,2 mL Wasser rekonstituieren (siehe REAGENZ 3). Vorsichtig schwenken. Das Produkt muß vollständig gelöst sein. Reagenz 10-30 Minuten bei 15-25°C stehen lassen und vor Gebrauch vorsichtig mischen.

ANMERKUNG: Bei automatisierten Methoden sind unter Umständen andere Rekonstitutionsvolumina erforderlich. Reagenzien unterschiedlicher Chargen sind untereinander nicht austauschbar.

### Zusätzlich benötigte Reagenzien, nicht im Kit enthalten

- Entionisiertes Wasser (filtriert (0,22 µm) oder Wasser nach NCCLS Typ II®
- Humanes Normalplasma mit einer Protein C-Aktivität von 100% Durch Verdünnung von Normalplasma mit Wasser werden verschiedene Standardverdünnungen hergestellt (siehe REAGENZ 3). Empfehlenswert ist ein lyophilisiertes humanes Normalplasma-Präparat, welches gegen ein internationale Protein C-Standardplasma kalibriert wurde.
- 20% Essigsäure oder 2% Zitronensäure
- Zusätzlich benötigtes Material, nicht im Kit enthalten**
  - Spektrophotometer 405 nm (405 nm und 490 nm für die Mikroplatten-Methode)
  - Incubator 37°C ± 0.2°C
  - Mikroplatten\* oder Halbmikrotitervetten
  - Zentrifuge 2000 x g
  - Kunststoff-Teströhrchen
  - Stoppuhr

## COAMATIC® Protein C - 82 2098 63

### PORTUGUÊS - Revisão do folheto 12/2014

Para a revisão actual deste folheto informativo em Português, contacte o representante da Chromogenix da sua área.

### PRECAUÇÕES E ADVERTÊNCIAS:

S-2366:

**Classe de perigo:** nenhuma

**Advertências de perigo:** nenhuma

**Recomendações de prudência:** nenhuma

Protein C Activator:



**Perigo**

**Classe de perigo:** Resp. Sens. 1, H334 - Skin Sens. 1, H317

**Advertências de perigo:** H334, H317

**Recomendações de prudência:** P261, P280, P304+P341, P302+P352, P342+P311, P333+P313, P501
Protein C activator 1.2 U contém material bovino. Todos os doadores animais foram fornecidos a partir de manadas sem BSE. O gado recebeu uma inspeção de saúde ante- e post-mortem, efectuada por um veterinário, e aparentemente não tinham material infeccioso e contagioso. Contudo, o material deve ser tratado como potencialmente infeccioso.

Este reagente destina-se a utilização em diagnóstico *in vitro*.

## COAMATIC® Protein C - 82 2098 63

### SVENSK - Instick revision 12/2014

För aktuell revision av detta insticksblad på svenska ber vi Er att kontakta Chromogenix distributör.

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER OCH VARNINGAR: **S-2366:**

S-2366:

**Faroklass:** Ingen

**Säkerhet statements:** Ingen

**Skyddsangivelser:** Ingen

**Protein C Activator:**

**Faroklass:** Resp. Sens. 1, H334 - Skin Sens. 1, H317



**Fara**

**Säkerhet statements:** H334, H317

**Skyddsangivelser:** P261, P280, P304+P341, P302+P352, P342+P311, P333+P313, P501
Protein C-aktivator 1.2 U innehåller bovint material. Alla donatordjur kom från BSE-fria herdar. Nötkreaturens hälsa kontrollerades ante och post mortem av en veterinär och de var uppenbarligen fria från infektiöst och smittsamt material. Materialet skall dock betraktas som potentiellt infektiöst.

Denna produkt är för *in vitro* diagnostiskt användande

### Symbols used / Verwendete Symbole / Simbolos utilizados / Symboles utilisés / Simboli impiegati / Simbolos utilizados / Χρησιμοποιηθέντα σύμβολα

<b>IVD</b>	<b>LOT</b>				<b>CONTROL</b>		<b>EC</b> <b>REP</b>
In Vitro Diagnostic Medical Device	Batch code	Use by	Temperature limitation	Consult instructions for use	Control	Manufacturer	Authorised Representative in the European Community
In Vitro Diagnostikum	Chargenbezeichnung	Verwendbar bis	Zulässiger	Gebrauchsanweisung beachten	Kontrollen	Hersteller	Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
Dispositif medical de diagnostique in vitro	Código de lote	Fecha de caducidad	Temperaturrebereich	Consulte las instrucciones de uso	Control	Fabricante	Representante autorizado en la Comunidad Europea
Produto sanitario para diagnóstico in vitro	Code du lot	Limite de validade	Limite de temperatura	Consulte les instructions d'utilisation	Contrôle	Fabricant	Mandataire dans la Communauté européenne
Dispositivo medicodiagnostico in vitro	Codice del lotto	Utiliser jusque	Limites de température	Consultare le istruzioni per l'uso	Controllo	Fabbricatore	Mandatario nella Comunità Europea
Dispositivo médico para utilização em diagnóstico in vitro	Número de lote	Utilizzare entro	Limite di temperatura	Consultar as instruções de utilização	Controlo	Fabricado por	Representante autorizado Representant i det
Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik	Data límite de utilización	Produktet må kun bruges inden for	Limite de temperatura	Se istruzioni for brug	Kontrol	Producent	Europeisk Fællesskab
In vitro diagnostisk medicinsk produkt	Utilização	Anvendelsesdato	Temperaturbegrensning	Til anvendelse inden for brug	Kontrol	Tilvebringer	Auktoriseret repræsentant
Παράγον για διαγνωστική χρήση	Αρ. Παρτίδας	Ανvändningsdatum	Τemperatur gräns	Σε χρήση εσωτερικά	Κонтроль	Κατασκευαστής	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος
		Ανvändning	Περιορισμός θερμοκρασίας	χρήσης	Контроль		
		Χρήση έως			έλεγχου		

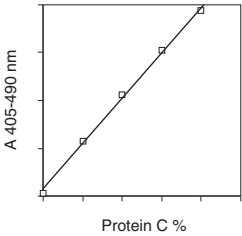


### ENGLISH - Inert revision 12/2014



### Calculation

Plot the absorbance (A) for the standard samples against their protein C activity on linear graph paper. Plot A on the Y axis and % protein C on the X axis. Connect the standard points with the best fitting straight line. Samples are evaluated based on this standard curve. An example of a typical standard curve (microplate method) is shown below.



### Performance Characteristics

**Limitations/interfering factors**
Addition of anti-human Protein C antibodies to normal plasma inhibits >98% of the amidolytic activity. Heparin levels ≤ 3 IU/mL do not interfere in the assay. Aprotinin inhibits activated Protein C. A low Protein C activity in aprotinin treated patients is thus expected. Sample blank activities should be determined and subtracted in plasmas from patients on Streptokinase therapy as well as in plasmas where contact factor activation is suspected, such as in plasmas from DIC patients or from individuals on oral contraceptives where cold activation may occur. The sample blank activity is determined by substituting the Protein C activator with the same volume of sterile water.

### Precision

The repeatability of the method has been determined on Cobas Mira.

Mean activity	Within run CV (%)	Mean activity	Between runs CV (%)
99%	0.8% n=21	103%	1.7% n=5 N=7
47%	1.6% n=21	49%	2.8% n=5 N=7

n=number of replicates per series, N=number of series

These results have been obtained at Chromogenix laboratories and should be considered as examples only. Other laboratories are requested to establish their own precision data.

### Correlation

The assays show a strong correlation with Coatest Protein C:

Coamatic Protein C (microplate)		
% PC (microplate) = 8.2 + 0.99x (Coatest)	r=0.98	n=45
Coamatic Protein C (Cobas Mira)		
% PC (Cobas Mira) = -3.7 + 0.98x (Coatest)	r=0.99	n=49
Coamatic Protein C (ACL)		
% PC (ACL) = 0.3 + 1.07x (Coatest)	r= 0.97	n=45

### Recommended measuring range

The relationship between normal pNA, measured as absorbance at 405 nm, and the level of Protein C is linear in the 0-120% range of released plasma.

### Detection limit

The assays allow detection of at least 5% Protein C.

### Sensitivity: System

Cobas Mira ΔAbs per 1% Protein C activity: 0.0013 ΔAbs

**Determinations/Kit**

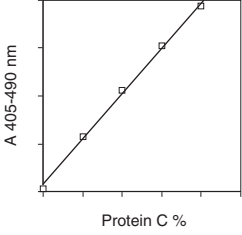
Microplate method: 2 x 144 Test tube method: 2 x 36

## DEUTSCH - Packungsbeilage Version 12/2014



### Ergebnisse

**Extinktionen (E)** der Standardproben gegen die Protein C-Konzentrationen dieser Standardproben auf lineares graphisches Papier auftragen. Die Extinktionen (E) werden auf der Y-Achse, die Protein C-Aktivität (in % auf der X-Achse eingetragen. Eine Gerade durch die Schnittpunkte ziehen. Man erhält eine Standardkurve, an der die Protein C-Konzentrationen der Proben abgelesen werden. Beispiel für eine typische Standardkurve (Mikroplatten-Methode):



### Testeigenschaften

#### GRENZEN DES VERFAHRENS / INTERFERENZEN

Durch Zugabe von Antikörpern gegen humanes Protein C zu Normalplasma wird > 98% der amidolytischen Aktivität gehemmt. Heparin-Konzentrationen < 3 U/ml, führen zu keiner Beeinträchtigung der Protein C-Meßergebnisse. Aprotinin hemmt das aktivierte Protein C; bei Aprotinin-behandelten Patienten wird die Protein C-Aktivität daher voraussichtlich niedrig sein.

Bei Streptokinase-behandelten Patienten sollten Probenleerwerte mitgeführt und abgezogen werden, ebenso bei Verdacht auf Kontaktaktivierung (z. B. bei Patienten mit Verbrauchskoagulopathie) oder bei Personen, welche orale Kontrazeptiva einnehmen und bei denen eine Kälteaktivierung eintreten kann. Ein Probenleerwert wird bestimmt, indem der Protein C-Aktivator durch das gleiche Volumen an sterilem Wasser ersetzt wird.

#### Präzision

Die Präzision dieser Analysenmethode wurde mit dem Cobas Mira bestimmt.

Mittlere Aktivität	Intra-assay VK (%)	Mittlere Aktivität	Inter-assay VK (%)
99%	0,8% n=21	103%	1,7% n=5 N=7
47%	1,6% n=21	49%	2,8% n=5 N=7

n = Zahl der Messungen pro Serie, N = Zahl der Serien
Diese Ergebnisse wurden in den Laboratorien von Chromogenix ermittelt und dienen lediglich als Beispiel. Jedes Labor muß seine eigenen Präzisions-Daten ermitteln.

#### Korrelation

Der Assay zeigt eine sehr gute Korrelation mit Coatest® Protein C:

Coamatic Protein C (Mikroplatte)		
% PC (Mikroplatte) = 8.2 + 0.99x (Coatest)	r=0,98	n=45
Coamatic Protein C (Cobas Mira)		
% PC (Cobas Mira) = 3.7 + 0.98x (Coatest)	r=0,99,	n=49
Coamatic Protein C (ACL)		
% PC (ACL) = 0.3 + 1,07 (Coatest)	r=0,97,	n=45

#### Linearität und meßbereich

Das Verhältnis zwischen pNA-Freisetzung, gemessen als Extinktionsänderung (ΔE/min) oder Extinktion (E) , und der Protein C-Konzentration ist in dem Bereich 0 bis 120% der Normalplasma-Aktivität linear.

#### Untere nachweisgrenze

Mit dem Test sind Protein C-Aktivitäten ab 5% nachweisbar.

#### Sensitivität: System

Cobas Mira: ΔAbs per 1% Protein C Aktivität: 0.0013 ΔAbs

**Anzahl der Bestimmungen/Kit**

Mikroplatten-Methode: 2 x 144 Halb-Mikro-Ansatz: 2 x 36

### Bibliography / Literatur / Bibliografía / Bibliographie / Bibliografia / Bibliografia / Litteratur / Litteraturförteckning / Βιβλιογραφία

- STOCKNER K et al. Protein C activators in snake venoms. Behring Inst Mitt 79, 37-47 (1986).
- EXNER T and VAAJSJKI R. Characterisation and some properties of the Protein C activator from Agkistrodon Contortrix venom. Thromb Haemost 59, 40-44 (1988).
- PABINGER I. Clinical relevance of Protein C. Blut 53, 63-75 (1986).
- VINAZZER H and PANGRAZ U. Protein C: Comparison of different assays in normal and abnormal plasma samples. Thromb Res 46, 1-8 (1987).
- WENDEL H P et al. Aprotinin in therapeutic doses inhibits chromogenic peptide substrate assays for Protein C. Thromb Res 74, 543-548 (1994).
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Specifications for reagent water used in the clinical laboratory, NCCLS Approved Standard: ASC-3.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Collection, transport and processing of blood specimens for coagulation testing and performance of coagulation assays, NCCLS Document H21-A2, vol. 11 No. 23.
- ZUCKER S, CATHEY M H, WEST B. Preparation of Quality control specimens for coagulation. Am J Clin Pathol 53, 924-927 (1970).
- WESTGARD J O, BARRY P L. Cost-effective quality control: Managing the quality and productivity of analytical process. AACCC press (1988).

- Vortex mixer
- Calibrated pipettes
- Linear graph paper
- \*NOTE: Do not use microplates intended for coating!

### Storage conditions and stability

The sealed reagents are stable at 2-8°C until the expiry date printed on the label.

- S-2366
  - Stability after reconstitution: 3 months at 2-8°C in the original vial.
- Protein C activator
  - Stability after reconstitution: 3 months at 2-8°C in the original vial.

### Specimen collection

Nine parts of freshly drawn venous blood are collected into one part trisodium citrate. Centrifugation: 2000 x g for 10-20 minutes at 20-25°C. Refer to NCCLS document H21-A2 for further instructions on specimen collection, handling and storage.7

### Quality control</





# COAMATIC® Protein C - 82 2098 63

---

Printed Insert Sheet: 302109  
Revision: R5  
Issued: 12/2014  
C.O.: 450850

## ***LANGUAGES***

---

ENGLISH  
DEUTSCH  
ESPAÑOL  
FRANÇAIS  
ITALIANO  
PORTUGÊS  
DANSK  
SWENSK  
GREEK

## ***TECHNICAL SPECS***

---

PAPER: White paper, 50-60 g/m<sup>2</sup> weight. SIZE: 11 x 17" (280 x 432 mm.).  
PRINT: Front/Back. PRINT COLOR: Top rule Orange Pantone 137, all remaining type in black  
Back - All type in black.