

STACHROM® PLASMINOGEN

Determinación colorimétrica del plasminógeno

- Contenido del kit:
 - 6 viales de Reactivo 1 (Streptokinase)
 - 6 viales de Reactivo 2 (Substrate)

(REF 00658)



Diciembre 2013

Español 6

1/ UTILIZACIÓN DEL KIT

El kit **STA® - Stachrom® Plasminogen** está destinado para determinar cuantitativamente el nivel de actividad del plasminógeno en el plasma mediante el método del sustrato cromogénico sintético (4) en STA-R® y STA Compact®.

2/ INFORMACIÓN SOBRE PLASMINÓGENO

Bioquímica del plasminógeno

El plasminógeno es una glicoproteína de peso molecular aproximado de 90 000 daltons (7). Se sintetiza en el hígado y se compone de una sola cadena polipeptídica (7). En el plasma, el plasminógeno existe ya sea en forma libre o enlazada a HRP (histidine rich glycoprotein), α_2 -antiplasmina o fibrinógeno (7). El aminoácido con terminal N del plasminógeno nativo es el ácido glutámico (Glu-plasminógeno) (9). El Lys-plasminógeno del cual aminoácido de terminal N es la lisina, se genera mediante la acción de la plasmina (9).

Bajo la influencia de los tejidos o activadores de plasma, el plasminógeno se convierte en plasmina por la ruptura de un enlace arginina-valina, lo que lleva a su transformación en una molécula dos cadenas, unidas por puentes de disulfuro (7). El sitio activo de la plasmina se encuentra en el terminal C de la molécula del plasminógeno y contiene un residuo de serina (7). El papel principal de la plasmina es degradar la fibrina y en segundo lugar el fibrinógeno (7).

Interés clínico

Existen dos tipos de deficiencias congénitas del plasminógeno:

- Cuantitativas o de tipo I: estas deficiencias se identifican mediante la disminución simultánea tanto de los niveles funcionales como de los antígenicos del plasminógeno. Estas deficiencias son las más frecuentes;
- Cualitativas o de tipo II: estas deficiencias se caracterizan por un nivel funcional significativamente inferior al nivel antígeno (8).

Para algunos autores, la deficiencia de plasminógeno es un factor de riesgo de trombosis. Para otros, esta deficiencia no es por sí misma trombotogénica, sino que constituye un factor que aumenta el riesgo clínico de otro trastorno hemostático (8).

El nivel del plasminógeno plasmático aumenta durante los estados infecciosos, inflamatorios, y disminuye durante los trastornos hepáticos y tratamientos trombolíticos (9).

3/ PRINCIPIO DEL TEST

El procedimiento consta de dos pasos:

- Se añade un exceso de estreptoquinasa (Reactivo 1) a la muestra cuyo plasminógeno se desea determinar. La estreptoquinasa y el plasminógeno forman un complejo, el cual tiene una actividad similar a la de la plasmina (1);
- La cantidad de complejo estreptoquinasa-plasminógeno formado se evalúa mediante su acción sobre el sustrato sintético CBS 30.41 (Reactivo 2). La cuantificación se logra por la cantidad de p-nitroanilina liberada, medida a 405 nm.

En estas condiciones, la reacción es insensible a los inhibidores de plasma (2, 3).

4/ COMPOSICIÓN DEL KIT

Cada estuche de STA® - Stachrom® Plasminogen contiene una hoja con código de barras. Este código de barras contiene las siguientes informaciones: número de lote, referencia del kit, referencia del reactivo, fecha de caducidad.

- Reactivo 1:** aproximadamente 15 000 UI de estreptoquinasa por vial, liofilizado. Esta estreptoquinasa se estabiliza con albúmina humana.
- Reactivo 2:** sustrato cromógeno CBS 30.41, H-D-But-CHA-Lys-pNA, 2 AcOH en torno a 16,5 μ moles por frasco (5), liofilizado.

Algunos reactivos de este kit contienen productos de origen humano y/o animal. Cuando se ha utilizado plasma humano en la preparación de estos reactivos, se excluye previamente la presencia del antígeno HbS, de los anticuerpos anti-HCV, anti-HIV 1 y anti-HIV 2 con los correspondientes análisis. Sin embargo, ningún test puede garantizar de manera absoluta la ausencia de agentes infecciosos. Por eso, estos reactivos de origen biológico han de ser manipulados con las precauciones habituales, ya que se trata de productos potencialmente infecciosos.

5/ PRECAUCIONES

El estuche intacto se debe conservar a 2-8 °C. Sólo para uso diagnóstico *in vitro*. Estos reactivos sólo deben ser utilizados por personal autorizado del laboratorio. Utilizar únicamente reactivos de un mismo kit o de un mismo lote. El estuche STA® - Stachrom® Plasminogen esta diseñado especialmente para los aparatos de la línea STA® que pueden utilizar estos reactivos. Antes de cualquier utilización, leer con atención el "Manual del Operador" del instrumento utilizado. Tener cuidado en el manejo de estos reactivos y las muestras. Los residuos se eliminarán con arreglo a la reglamentación local vigente.

6/ OBTENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LA MUESTRA

La obtención de la muestra debe ajustarse a las recomendaciones para las pruebas de hemostasia.

- Obtención de sangre en solución de citrato trisódico 0,109 M: 1 vol. de citrato por 9 vol. de sangre.
- Centrifugación: 15 minutos a 2000-2500 g.
- Conservación del plasma: 24 horas a 20 ± 5 °C.
 - 1 mes a -20 °C. Atemperar la muestra a 37 °C el tiempo necesario y suficiente para que la descongelación sea completa.

7/ CONSERVACIÓN Y PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Conservados a 2-8 °C en su embalaje original, los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el estuche.

- Reactivo 1**
Reconstituir cada vial con 3 ml de agua destilada. Dejar que la solución se establezca durante 60 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C). Luego, agitar suavemente. Estabilidad tras la reconstitución: 7 días a 2-8 °C en su vial original en STA-R® y STA Compact®.
- Reactivo 2**
Reconstituir cada vial con 3 ml de agua destilada. Dejar que la solución se establezca durante 60 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C). Luego, agitar suavemente. Estabilidad tras la reconstitución: 7 días a 2-8 °C en su vial original en STA-R® y STA Compact®.
No se debe congelar.

8/ REACTIVOS Y MATERIALES AUXILIARES

- STA® - Owren-Koller** (REF 00360).
- STA® - Unicalibrator** (REF 00675).
- STA® - System Control** [N] + [P] (REF 00678): controles normal y anormal.
- STA-R® o STA Compact®.
- Equipamiento habitual en los laboratorios de análisis clínicos.

9/ PROCEDIMIENTO

9.1. Calibración

La calibración se lleva a cabo con la ayuda de los estuches STA® - Unicalibrator. Preparar STA® - Unicalibrator y transferir al aparato las informaciones contenidas en los códigos de barras de la hoja. Los estándares son preparados automáticamente por el analizador, diluyendo con STA® - Owren-Koller de acuerdo a los parámetros ingresados en el instrumento para la dosificación.

La curva de calibración se puede ver en la pantalla del instrumento con la ayuda del menú "Calibración" (ver el "Manual del Operador").

9.2. Plasmas a analizar

Los plasmas a testar han de estar sin diluir. Introducirlos en el instrumento (ver el "Manual del Operador" del instrumento utilizado). El instrumento realizará automáticamente las diluciones en STA® - Owren-Koller.

Seleccionar el (los) test(s) a efectuar en los plasma de pacientes.

9.3. Controles

Los controles son necesarios para verificar la exactitud y la reproducibilidad de los resultados. Utilizar los estuches STA® - System Control [N] + [P]. Preparar estos reactivos de control y transferir la información contenida en los códigos de barras impresos en su respectivo inserto al instrumento. Estos controles se utilizan sin diluir; el instrumento realizará automáticamente la dilución con STA® - Owren-Koller.

9.4. Dosificación

Para la realización de la dosificación, seguir los protocolos descritos en los "Standardized Operating Procedures" del instrumento.

La determinación del plasminógeno en el plasma a ensayar se realiza automáticamente por el analizador a 405 nm tan pronto se cargan las muestras. Si cualquiera de los resultados del paciente queda fuera del rango de trabajo de la dosificación, el instrumento reevalúa automáticamente la muestra en según una dilución apropiada, siempre que esta opción haya sido introducida en la configuración de la prueba (ver el "Manual del Operador").

10/ RESULTADOS

El nivel de plasminógeno (%) de las muestras analizadas aparece en tiempo real en la pantalla del aparato (ver el "Manual del Operador"). El resultado debe interpretarse en función del estado clínico y biológico del paciente.

Si el aparato señala que los resultados obtenidos para los controles se sitúan fuera del intervalo de valores indicado en la hoja incluida en el estuche, es preciso asegurarse del buen funcionamiento de todo el sistema: condiciones de ensayo, reactivos, plasmas en los que se efectúa el test, calibración, etc. Si es necesario, repetir las muestras

11/ LIMITACIONES

- Se ha demostrado que la hemoglobina hasta 7 g/l, la bilirrubina hasta 900 μ moles/l, los triglicéridos hasta 10 g/l y el producto de degradación de la fibrina inferior a 130 μ g/ml no interfieren con la determinación.
- La presencia de aptinina en el plasma a analizar da como resultado una subestimación del nivel de plasminógeno.

12/ INTERVALO DE REFERENCIA

El nivel plasmático de plasminógeno en adultos suele estar comprendido entre el 80 y el 120 % (6). Sin embargo, cada laboratorio debería establecer sus propios valores normales.

El nivel del plasminógeno en bebés recién nacidos suele ser bajo (9). El ensayo de plasminógeno es importante para la interpretación biológica del nivel de productos de degradación del fibrinógeno (PDF) en los casos de coagulación intravascular diseminada (CID) (4).

13/ CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Intervalo de medición - Límite de detección

En la STA®, la determinación es lineal hasta una actividad de 160 % de plasminógeno; el valor del límite de detección es 11 %.

Reproducibilidad

Se han realizado estudios de reproducibilidad, a partir de muestras normales y anormales. Los resultados obtenidos en STA® están indicados en las tablas siguientes:

	Reproducibilidad intra-serie		Reproducibilidad inter-serie	
Muestra	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4
n	21	21	10	10
$\bar{X}$ (%)	93	41	98	46
SD (%)	1,8	0,7	2,3	1,6
CV (%)	1,9	1,8	2,4	3,4

BIBLIOGRAFÍA

- REDDY K.N.N., MARKUS G.: "Mechanism of activation of human plasminogen by streptokinase. Presence of active center in streptokinase-plasminogen complex". J. Biol. Chem., **247**, 1683-1691, 1972.
- STEINBUCH M., FRIESS A., DROUET J., AMOUCH P.: "Absence of interaction between streptokinase/plasmin(ogen) complexes and α_2 -macroglobulin (α_2 M)" in "Proc. of the Vth Congress on Thrombosis and Haemostasis", Paris, Abst. 455, 1975.
- SORIA J., SORIA C., SAMAMA M.: "Dosage du plasminogène à l'aide d'un substrat chromogène tripeptidique". Pathol. Biol., **24**, 725-729, 1976.
- SORIA J., SORIA C., SAMAMA M.: "A plasminogen assay using a chromogenic synthetic substrate: results from clinical work and from studies of thrombolysis" in "Progress in Chemical Fibrinolysis and Thrombolysis", 3, Davidson J.F., Rowan R.M., Samama M.M., Desnoyers P.C., New-York: Raven Press, 337-346, 1978.
- MARTINOLI J.L., SVENDSEN L.: "Chromogenic substrates for plasmin and plasmin-like enzymes: a new generation" in "Proc. of the 6th International Congress on Fibrinolysis", Lausanne, Abst. 121, 1982.
- SORIA J., SORIA C., BERTRAND O., DUNN F., SAMAMA M., BACHMANN F.: "The amidolytic activity of the SK-plasminogen complex is enhanced by a potentiator which is generated in the presence of vascular plasminogen activator - Role of fibrin degradation products". Thromb. Haemostasis, **47**, 3, 193-196, 1982.
- SAMAMA M., CONARD J., HORELLOU M.H., LECOMPTE T.: "Physiologie et exploration de l'hémotase". Paris: Doin, 178-192, 1990.
- DE MAISTRE E., WAHL D., LECOMPTE T., SAMAMA M.M.: "Déficit en plasminogène et thrombophilie". Sang Thromb. Vaiss., **7**, 493-498, 1995.
- SAMPOL J., ARNOUX D., BOUTIERE B.: "Manuel d'hémotase". Paris: Editions scientifiques et médicales Elsevier, 57-59, 1995.

Los cambios significativos son indicados por las líneas punteadas en el margen.

DIAGNOSTICA STAGO S.A.S.
8 rue des Frères Chausson
92600 Asnières sur Seine (France)
+33 (0)1 46 88 20 20
webmaster@stago.com



Las informaciones y/o las imágenes contenidas en este documento están protegidas por copyright y otros derechos de propiedad intelectual. © 2013, Diagnostica Stago, todos derechos reservados. Los logotipos y/o los nombres de los productos de Diagnostica Stago son marcas registradas. Español

Distribuido por



958 412 886



629 636 705



<http://www.cromakit.es/>

Calle Tucumán 8 Nave B 18200 Maracena (Granada)

