



Instructions for Use

MRX Red Free Protein S, K5009



Contents

<u>English [EN]</u>	<u>3</u>
<u>Dansk [DA]</u>	<u>7</u>
<u>Deutsch [DE]</u>	<u>11</u>
<u>Español [ES]</u>	<u>16</u>
<u>Soumi [FI]</u>	<u>21</u>
<u>Italiano [IT]</u>	<u>25</u>
<u>Norsk [NO]</u>	<u>30</u>
<u>Svenska [SV]</u>	<u>34</u>

Instructions for Use [EN]

MRX Red Free Protein S

REF K5009

For *In vitro* Diagnostic Use.

1 Intended use

Latex immunoassay for quantitative determination of Free Protein S (FPS) in citrated human plasma as an aid in diagnosis of Protein S deficiency. Intended to be used by professional laboratory personnel using coagulation analysers with turbidimetric detection in the 600 - 800 nm wavelength range.

2 Background and principle of method

Protein S is a vitamin K dependent glycoprotein with anticoagulant properties.^{1,2,3,4} In the presence of calcium, Protein S acts as a cofactor to, and forms a complex with, Activated Protein C (APC). The complex adheres to negatively charged phospholipid membranes which increases the anticoagulant activity of APC.^{4,5} Protein S deficiencies, both congenital and acquired, are associated with increased risks of deep vein thrombosis (DVT) and pulmonary embolism (PE).^{6,7}

The normal total concentration of Protein S in human plasma is 20 – 25 mg/L. Approximately two thirds of this is bound to C4 Binding Protein (C4BP), while the remaining non-bound fraction is free Protein S.^{2,8}

MRX Red Free Protein S consists of Protein S specific monoclonal antibodies coupled to sub-micron sized polystyrene particles. MRX Red Free Protein S is only sensitive to free Protein S and will not react with protein S bound to C4BP. When the reagent is exposed to a plasma sample containing free Protein S, the particles will agglutinate, giving rise to increased light-scattering. When exposed to the appropriate wavelength of light, the increase in measured turbidity, or light-scattering, is proportional to the amount of FPS in the sample.

3 Components

MRX Red Free Protein S consists of:

- Latex Reagent: 3 × 2.5 mL polystyrene microparticles, coated with monoclonal antibodies, suspended in buffer with stabilisers (porcine origin) and preservatives.
- Reaction Buffer: 3 × 4 mL containing buffer, Heterophilic Blocking Reagent (HBR) and preservatives.

4 Warnings and precautions

Wear suitable clothing for protection. Avoid contact with skin and eyes. Do not empty into drains. Waste must be disposed of in accordance with local regulations.

The Latex Reagent contains synthetic polymer microparticles. Therefore, ensure that no residues are released into wastewater or the environment. Do not rinse the container before disposal.

The Latex Reagent and Reaction Buffer contain material of animal origin and should be handled as potentially infectious.

The Latex Reagent and Reaction Buffer contain sodium azide (less than 0.1%) and 2-methylisothiazol-3(2H)-one (less than 0.0015%) to prevent microbial growth; use proper disposal procedures.

EUH208: Contains 2-methylisothiazol-3(2H)-one. May produce an allergic reaction.

EUH210: Safety data sheet available on request.

5 Preparation

- Latex Reagent: Ready to use. As the microparticles will settle during storage, swirl the vial gently a few times every day before use to ensure a homogenous suspension. Do not shake.
- Reaction Buffer: Ready to use. Swirl the vial gently a few times before use.

6 Storage and stability

- Latex Reagent: Store at 2 - 8 °C. Do not freeze. After opening, stable for 4 weeks at 2 - 8 °C in the closed original vial, provided no contamination occurs.
- Reaction Buffer: Store at 2 - 8 °C. Do not freeze. After opening, stable for 4 weeks at 2 - 8 °C in the closed original vial, provided no contamination occurs.

7 Specimen collection and preparation

Venous blood is collected in 3.2% sodium citrate at a ratio of 9 parts blood to 1 part anticoagulant (1:10 ratio). The ratio is critical. Trauma or stasis during blood sampling should be avoided. Inverse immediately after sampling. The presence of any clots in a specimen is a cause for rejection. Centrifuge to produce platelet-poor plasma and use for analysis. Refer to CLSI guideline H21-A5 for further instructions on specimen collection, handling and storage⁹.

8 Procedure

For each instrument, refer to its operator's manual and to the instrument-specific application sheet.

9 Material required but not provided

Coagulation analyser capable of turbidimetric detection in the 600 - 800 nm wavelength range, pipettes and the following:

Calibrator	REF
MRX Free Protein S Calibrator	K5044
Control material	REF
MRX Specialty Normal Control	K5021
MRX Specialty Abnormal Control	K5022
Solutions	REF
Phosphate buffered saline (PBS) for dilution, e.g. MRX PBS Diluent	K5047
Deionised water for reconstitution, e.g. MRX Laboratory Water	K5036

10 Quality control

To maintain consistent assay results, it is recommended that control plasmas are assayed at regular intervals. MRX Specialty Controls (K5021/K5022) are recommended for MRX Red Free Protein S. Each laboratory should establish a control range to determine the allowable variation in the

day-to-day performance of the test, as well as appropriate intervals for analysing controls in accordance with good laboratory practice. Recalibration is suggested, as a minimum, whenever control plasmas are not within the acceptable range and each time a new batch of reagent is used.

11 Results

The results are reported in % FPS, where 100% corresponds to 1 IU/mL FPS of the WHO 2nd International Standard (NIBSC code 03/228).

Samples that are reported above the measuring range should be manually diluted and re-analysed. No result outside the measuring range should be used in forming a diagnosis or for patient management.

12 Expected values

Normal Free Protein S levels for females are typically in the 54 - 155% range, while levels for males are somewhat higher in the 68 - 176% range.¹⁰

Results from FPS concentrations determination in plasma samples from 122 healthy female blood donors and 138 healthy male blood donors using MRX Red Free Protein S are presented below. The analysis was performed using a Sysmex CS-2100i instrument.

No of samples	Mean FPS	95% reference interval
122 (female)	81%	35 - 127% FPS
138 (male)	94%	57 - 130% FPS

Due to inter-laboratory variation, each laboratory should set its own reference interval.

13 Limitations and interfering substances

The results should be used together with other clinical and diagnostic information in forming a diagnosis and for patient management.

During pregnancy, the level of Free Protein S in plasma may be altered and, consequently, there is a risk of incorrect results when analysing free Protein S on samples from pregnant women. The recommendation from the International Society of Thrombosis and Haemostasis (ISTH) is, therefore, to not analyse free Protein S during pregnancy.¹¹ If free Protein S is analysed during pregnancy, despite the recommendations not to, the analysis must be repeated postpartum. With regards to the ISTH recommendations, MRX Red Free Protein S should

not be used to analyse free Protein S on samples from pregnant women.

Turbid or opalescent plasma may cause erratic results and should be interpreted with caution: dilute the sample and re-assay. MRX Red Free Protein S is insensitive to the following substances on Sysmex CS-instrument series:

Interfering substance	Tolerance
Bilirubin	Up to 40 mg/dL
Haemoglobin	Up to 1000 mg/dL
Triglycerides	Up to 1500 mg/dL
Unfractionated heparin	Up to 330 U/dL
Low molecular weight heparin	Up to 330 U/dL

Specimens from patients who have received preparations of mouse monoclonal antibodies for diagnosis or therapy may contain anti-mouse antibodies (HAMA), which may cause over-estimation of free Protein S values. The presence of rheumatoid factor may result in falsely elevated free Protein S values. The Reaction Buffer includes HBR that reduces unspecific reactions, but users should be aware that there still is a possibility of over-estimated free Protein S values for samples with HAMA or rheumatoid factor.

The monoclonal antibodies in MRX Red Free Protein S have been screened for their specificity for Free Protein S. When purified C4BP is added to normal plasma samples, in amounts that are stoichiometrically equivalent to the normal FPS plasma concentration, the signal reported by MRX Red Free Protein S is fully quenched.

14 Analytical performance characteristics

The following performance data was obtained with a Sysmex CS-2100i instrument. Performance will depend on the instrument used.

MRX Red Free Protein S has a measuring range of 5-150% FPS. When compared to another microparticle enhanced immunoassay, MRX Red Free Protein S correlates as follows:

$$y \text{ (MRX Red Free Protein S on Sysmex CS-2100i)} = 1.0 \times x \text{ (Siemens Innovance FPS on Sysmex CS-2100i)} - 0.7;$$

$$r^2 = 0.91.$$

Precision:

Sample	Mean FPS	Repeatability CV
Level 1	25%	2.0%
Level 2	45%	1.8%
Level 3	95%	3.0%

15 Reporting of incidents

Any serious incidents that occur in relation to this device shall be reported to Nordic Biomarker as well as the national competent authority in which the user is established.

16 Additional information

A paper copy of these Instructions for Use is available on request. Contact your local distributor.

The instrument-specific application sheet is available from your local distributor.

17 References

1. DI SCIPIO, Richard G., et al. A comparison of human prothrombin, factor IX (Christmas factor), factor X (Stuart factor), and protein S. *Biochemistry*, 1977, 16.4: 698-706.
2. DAHLBÄCK, Björn., et al. The Protein C Anticoagulant System. *The Molecular Basis of Blood Disease*. 3rd ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, pp. 614-656, 2000.
3. DAHLBÄCK, Björn. Protein S and C4b-binding protein: components involved in the regulation of the protein C anticoagulant system. *Thrombosis and haemostasis*, 1991, 66.07: 049-061.
4. WALKER, Frederick J. Regulation of activated protein C by a new protein. A possible function for bovine protein S. *Journal of Biological Chemistry*, 1980, 255.12: 5521-5524.
5. HACKENG, Tilman M., et al. Protein S binding to human endothelial cells is required for expression of cofactor activity for activated protein C. *Journal of Biological Chemistry*, 1993, 268.6: 3993-4000.
6. NIXON, R. R., et al. Familial protein S deficiency is associated with recurrent thrombosis. *The Journal of clinical investigation*, 1984, 74.6: 2082-2088.
7. SCHWARZ, Hans Peter, et al. Plasma protein S deficiency in familial thrombotic disease. *Blood*, 1984, 64.6: 1297-1300.
8. REZENDE, Suely Meireles; SIMMONDS, Rachel Elizabeth; LANE, David Anthony. Coagulation, inflammation, and apoptosis: different roles for protein S and the protein S-C4b binding protein complex. *Blood*, 2004, 103.4: 1192-1201.
9. CLSI. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline – Fifth Edition. CLSI document H21-A5. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.

10. C. DYKES, Anne, et al. A study of Protein S antigen levels in 3788 healthy volunteers: influence of age, sex and hormone use, and estimate for prevalence of deficiency state. *British journal of haematology*, 2001, 113.3: 636-641.
11. MARLAR, Richard A., et al. Recommendations for clinical laboratory testing for protein S deficiency: Communication from the SSC committee plasma coagulation inhibitors of the ISTH. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2021, 19.1: 68-74.

18 Definition of symbols



Manufacturer



Consult electronic instructions for use

nordicbiomarker.com/IFU



CE mark



Use-by date



In vitro diagnostic medical device



Temperature limit



Catalogue number



Biological risks



Batch code



Contains biological material of animal origin

19 Revision history

Version	Changes to previous version
12.0	Section 3 and 13: Addition of HBR. Section 4: Revised handling conditions due to the presence of synthetic polymer microparticles and material of animal origin. Section 18: Addition of symbol Biological risks.

Brugsanvisning [DA]

MRX Red Free Protein S

REF K5009

Kun til *In vitro*-diagnosticering.

1 Anvendelsesområde

Latex-immunoassay til kvantitativ bestemmelse af frit protein S (FPS) i citreret plasma fra mennesker som hjælp til diagnosticering af protein S-mangel. Beregnet til brug af professionelt laboratoriepersonale, der anvender koagulationsanalyser med turbidimetrisk detektion i bølglængdeområdet 600-800 nm.

2 Baggrund og metodeprincip

Protein S er et K-vitaminafhængigt glykoprotein med antikoagulerende egenskaber^{1,2,3,4}, og ved tilstedeværelse af calcium fungerer protein S som en medvirkende faktor og danner et kompleks med aktiveret protein C (APC). Komplekset klæber til negativt ladede fosfolipidmembraner, hvilket øger APC's antikoagulerende aktivitet.^{4,5} Protein S-mangler, både medfødte og erhvervede, er forbundet med øget risiko for dyb venetrombose (DVT) og lungeemboli (PE).^{6,7}

Den normale samlede koncentration af Protein S i plasma hos mennesker er 20-25 mg/L. Ca. to tredjedele af dette er bundet til C4-bindingsprotein (C4BP), mens den resterende ikke-bundne fraktion er frit Protein S.^{2,8}

MRX Red Free Protein S består af protein S-specifikke monoclonale antistoffer koblet til submikronstore polystyrenpartikler. MRX Red Free Protein S er kun følsom over for frit protein S og reagerer ikke med protein S bundet til C4BP. Når reagenset i udsættes for en plasmaprøve, der indeholder gratis protein S, vil partiklerne klumpe sammen, hvilket giver anledning til øget lysspredning. Når den udsættes for den relevante bølglængde af lys, er stigningen i den målte turbiditet eller lysspredning proportional med mængden af FPS i prøven.

3 Komponenter

MRX Red Free Protein S består af:

- Latex Reagent: 3 × 2,5 mL polystyren-mikropartikler, belagt med monoclonale antistoffer, suspenderet i buffer med stabilisatorer (fra svin) og konserveringsmidler.
- Reaction Buffer: 3 × 4 mL indeholdende buffer, heterofil blokeringsreagens (HBR) og konserveringsmidler.

4 Advarsler og forholdsregler

Bær egnet beklædning til beskyttelse. Undgå kontakt med øjne og hud. Må ikke hældes i afløb. Affald skal bortskaffes i overensstemmelse med de lokale bestemmelser.

Latex Reagent indeholder syntetiske polymer-mikropartikler. Sørg derfor for, at der ikke udledes rester til spildevandet eller miljøet. Skyl ikke beholderen før bortskaffelse.

Latex Reagent og Reaction Buffer indeholder materiale af animalsk oprindelse og skal håndteres som potentielt smittefarligt.

Latex Reagent og Reaction Buffer indeholder natriumazid (mindre end 0,1 %) og 2-metylisotiazol-3(2H)-on (mindre end 0,0015 %) for at forhindre mikrobiel vækst; der skal anvendes korrekte bortskaffelsesprocedurer.

EUH208: Indeholder 2-methylisothiazol-3(2H)-one. Kan give en allergisk reaktion.

EUH210: Sikkerhedsdatablad kan fås efter anmodning.

5 Forberedelse

- Latex Reagent: Klar til brug. Da mikropartiklerne vil sætte sig under opbevaring, skal du omrøre hætteglasset forsigtigt et par gange hver dag før brug for at sikre en homogen suspension. Må ikke rystes.
- Reaction Buffer: Klar til brug. Vend forsigtigt hætteglasset et par gange før brug.

6 Opbevaring og stabilitet

- Latex Reagent: Opbevares ved 2 - 8 °C. Må ikke fryses. Efter åbning er det stabilt i 4 uger ved 2-8 °C i den lukkede originale hætteglas, forudsat at der ikke forekommer kontaminering.
- Reaction Buffer: Opbevares ved 2 - 8 °C. Må ikke fryses. Efter åbning er det stabilt i 4 uger ved 2-8 °C i den lukkede originale hætteglas, forudsat at der ikke forekommer kontaminering.

7 Prøvetagning og prøveforberedelse

Veneblod opsamles i 3,2% natriumcitrat i et forhold på 9 dele blod til 1 del antikoagulant (1:10-forhold). Forholdet er afgørende. Traumer eller stase under udtrækning bør undgås. Omvendt umiddelbart efter prøvetagning. Tilstedeværelse af en størknet masse i en prøve er årsag til afvisning. Centrifuger for at fremstille trombocytfattigt plasma, og brug det til analyse. Se CLSI-retningslinje H21-A5 for yderligere instruktioner om prøveudtagning, håndtering og opbevaring⁹.

8 Procedure

For hvert instrument henvises der til brugervejledningen og til det instrumentspecifikke-applikationsark.

9 Materiale, der er anmodet om, men som ikke medfølger

Koagulationsanalysator, der kan foretage turbidimetrisk detektion i bølglængdeområdet 600-800 nm, pipetter og følgende:

Kalibrator	REF
MRX Free Protein S Calibrator	K5044
Kontrolmateriale	REF
MRX Specialty Normal Control	K5021
MRX Specialty Abnormal Control	K5022

Løsninger	REF
Phosphatbufferet saltvand (PBS) til fortynding, f.eks. MRX PBS Diluent	K5047
Deioniseret vand til rekonstituering, f.eks. MRX Laboratory Water	K5036

10 Kvalitetskontrol

For at opretholde konsistente analyseresultater anbefales det, at kontrolplasmaer analyseres med regelmæssige mellemrum. MRX Specialty Controls (K5021/K5022) anbefales til MRX Red Free Protein S. Hvert laboratorium bør fastlægge et kontrolinterval for at bestemme den tilladte variation i testens daglige ydeevne samt passende intervaller for analyse af kontroller i overensstemmelse med god laboratoriepraksis. Det anbefales som minimum at foretage en ny kalibrering, når kontrolplasmaerne ikke ligger inden for det acceptable område, og hver gang der anvendes et nyt reagensparti.

11 Resultater

Resultaterne angives i % FPS, hvor 100 % svarer til 1 IU/mL FPS i's WHO 2. internationale standard for protein S (NIBSC-kode 03/228).

Prøver, der rapporteres over måleområdet, skal fortyndes manuelt og analyseres på ny. Ingen resultater uden for måleområdet bør anvendes til at stille en diagnose eller til patientbehandling.

12 Forventede værdier

Normale niveauer af frit protein S for kvinder ligger typisk i intervallet 54-155 %, mens niveauerne for mænd er noget højere i intervallet 68-176 %.¹⁰

Resultaterne fra bestemmelse af FPS-koncentrationer i plasmaprøver fra 122 raske kvindelige bloddonorer og 138 raske mandlige bloddonorer ved hjælp af MRX Red Free Protein Ser præsenteret nedenfor. Analysen blev udført ved hjælp af et Sysmex CS-2100i-instrument.

Antal prøver	Gennemsnitlig FPS	95 % referenceinterval
122 (kvinde)	81 %	35 - 127 % FPS
138 (mand)	94 %	57 - 130 % FPS

På grund af variationer mellem laboratorier bør hvert laboratorium fastsætte sit eget referenceinterval.

13 Begrænsninger og interfererende stoffer

Resultaterne bør anvendes sammen med andre kliniske og diagnostiske oplysninger til at stille en diagnose og til patientbehandling.

Under graviditet kan niveauet af frit protein S i plasma være ændret, og der er derfor risiko for ukorrekte resultater ved analyse af frit protein S i prøver fra gravide kvinder. Anbefalingen fra International Society of Thrombosis and Haemostasis (ISTH) er derfor, at man ikke må analysere frit protein S under graviditet.¹¹ Hvis der analyseres frit protein S under graviditeten på trods af anbefalingerne om ikke at gøre det, skal analysen gentages efter fødslen. Med hensyn til anbefalingerne fra ISTH bør MRX Free Protein S ikke anvendes til at analysere frit protein S i prøver fra gravide kvinder.

Uklar eller opalescent plasma kan forårsage uregelmæssige resultater og bør fortolkes med forsigtighed. Fortynd prøven og gentag analysen. MRX Red Free Protein S er ufølsom over for følgende stoffer på Sysmex CS-instrumenter:

Interfererende stof	Tolerance
Bilirubin	Op til 40 mg/dL
Hæmoglobin	Op til 1000 mg/dL
Triglycerid	Op til 1500 mg/dL
Ufraktioneret heparin	Op til 330 U/dL
Heparin med lav molekylvægt	Op til 330 U/dL

Prøver fra patienter, der har modtaget præparater af monoklonale antistoffer fra mus til diagnosticering eller terapi, kan indeholde antimus-antistoffer (HAMA), hvilket kan medføre en overvurdering af værdierne for frit protein S. Tilstedeværelsen af reumatoid faktor kan resultere i falsk forhøjede værdier for frit protein S. Reaction Buffer inkluderer HBR, der reducerer uspecifikke reaktioner, men brugerne skal være opmærksomme på, at der stadig er mulighed for overestimerede frit Protein S-værdier for prøver med HAMA eller reumatoid faktor.

De monoklonale antistoffer i MRX Red Free Protein S er blevet screenet for deres specificitet for frit protein S. Når rensed C4BP tilsættes til normale plasmaprøver i mængder, der er støkiometrisk ækvivalente med den normale FPS-plasmakoncentration, slukkes det signal, der rapporteres af MRX Red Free Protein S, fuldstændigt.

14 Analytiske præstationsegenskaber

Følgende data om ydeevne blev opnået med et Sysmex CS-2100i-instrument. Udførelsen vil afhænge af det anvendte instrument.

MRX Red Free Protein S har et måleområde på 5-150 % FPS. Sammenlignet med et andet mikropartikelforstærket immunoassay, korrelerer MRX Red Free Protein S som følger:

y (MRX Red Free Protein S på Sysmex CS-2100i) = 1.0 x (Siemens Innovance FPS på Sysmex CS-2100i) - 0.7; $r^2 = 0.91$.

Præcision:

Eksempel	Gennemsnitlig FPS	Repetérbarhed CV
Niveau 1	25 %	2,0 %
Niveau 2	45 %	1,8 %
Niveau 3	95 %	3,0 %

15 Indberetning af hændelser

Enhver alvorlig hændelse, der opstår i forbindelse med dette udstyr, skal rapporteres til Nordic Biomarker og til den nationale kompetente myndighed, hvor brugeren er etableret.

16 Yderligere oplysninger

En papirudgave af denne brugsanvisning kan fås på anmodning. Kontakt din lokale forhandler.

Det instrumentspecifikke anvendelsesblad kan fås hos din lokale forhandler.

17 Referencer

1. DI SCIPIO, Richard G., et al. A comparison of human prothrombin, factor IX (Christmas factor), factor X (Stuart factor), and protein S. *Biochemistry*, 1977, 16.4: 698-706.
2. DAHLBÄCK, Björn., et al. The Protein C Anticoagulant System. *The Molecular Basis of Blood Disease*. 3rd ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, pp. 614-656, 2000.
3. DAHLBÄCK, Björn. Protein S and C4b-binding protein: components involved in the regulation of the protein C anticoagulant system. *Thrombosis and haemostasis*, 1991, 66.07: 049-061.
4. WALKER, Frederick J. Regulation of activated protein C by a new protein. A possible function for bovine protein S. *Journal of Biological Chemistry*, 1980, 255.12: 5521-5524.
5. HACKENG, Tilman M., et al. Protein S binding to human endothelial cells is required for expression of cofactor activity for activated protein C. *Journal of Biological Chemistry*, 1993, 268.6: 3993-4000.

6. NIXON, R. R., et al. Familial protein S deficiency is associated with recurrent thrombosis. *The Journal of clinical investigation*, 1984, 74.6: 2082-2088.
7. SCHWARZ, Hans Peter, et al. Plasma protein S deficiency in familial thrombotic disease. *Blood*, 1984, 64.6: 1297-1300.
8. REZENDE, Suely Meireles; SIMMONDS, Rachel Elizabeth; LANE, David Anthony. Coagulation, inflammation, and apoptosis: different roles for protein S and the protein S–C4b binding protein complex. *Blood*, 2004, 103.4: 1192-1201.
9. CLSI. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline – Fifth Edition. CLSI document H21-A5. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
10. C. DYKES, Anne, et al. A study of Protein S antigen levels in 3788 healthy volunteers: influence of age, sex and hormone use, and estimate for prevalence of deficiency state. *British journal of haematology*, 2001, 113.3: 636-641.
11. MARLAR, Richard A., et al. Recommendations for clinical laboratory testing for protein S deficiency: Communication from the SSC committee plasma coagulation inhibitors of the ISTH. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2021, 19.1: 68-74.

18 Definition af symboler



Producent



Se den elektroniske brugsanvisning

nordicbiomarker.com/IFU



CE-mærkning



Sidste anvendelsesdato



Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik



Temperaturgrænse



Katalognummer



Biologiske risici



Batch-kode



Indeholder biologisk materiale af animalsk oprindelse

19 Revisionshistorik

Version	Ændringer i forhold til den tidligere version
12,0	Afsnit 3 og 13: Tilføjelse af HBR. Afsnit 4: Ændrede håndteringsbetingelser på grund af tilstedeværelsen af syntetiske polymermikropartikler og materiale af animalsk oprindelse. Afsnit 18: Tilføjelse af symbol Biologiske risici.

Gebrauchsanweisung [DE]

MRX Red Free Protein S

REF K5009

Zur Verwendung als *In-vitro*-Diagnostikum.

1 Verwendungszweck

Latex-Immunoassay zur quantitativen Bestimmung von freiem Protein S (FPS) in zitriertem Humanplasma als Hilfsmittel zur Diagnose von Protein-S-Mangel. Zur Verwendung durch professionelles Laborpersonal auf Koagulationsanalysatoren mit turbidimetrischer Nachweisfunktion im Wellenlängenbereich von 600–800 nm.

2 Hintergrund und Prinzip der Methode

Protein S ist ein Vitamin-K-abhängiges Glykoprotein mit gerinnungshemmenden Eigenschaften.^{1,2,3,4} Bei Vorhandensein von Calcium wirkt Protein S als Cofaktor zu aktiviertem Protein C (APC) und bildet einen Komplex damit. Der Komplex haftet an negativ geladenen Phospholipidmembranen, was die gerinnungshemmende Aktivität des APC erhöht.^{4,5} Sowohl angeborene als auch erworbene Protein-S-Mängel sind mit einem erhöhten Risiko von tiefen Venenthrombosen (TVT) und Lungenembolien (LE) verbunden.^{6,7}

Die normale Gesamtkonzentration von Protein S in humanem Plasma beträgt 20–25 mg/l. Etwa zwei Drittel davon sind an C4-bindendes Protein (C4BP) gebunden, während es sich bei dem restlichen, nicht gebundenen Anteil um freies Protein S handelt.^{2,8}

MRX Red Free Protein S besteht aus Protein-S-spezifischen monoklonalen Antikörpern, die an Polystyrolpartikel in Submikrongröße gekoppelt sind. MRX Red Free Protein S ist nur empfindlich gegenüber freiem Protein S und reagiert nicht mit an C4BP gebundenem Protein S. Wenn das Reagenz einer Plasmaprobe ausgesetzt wird, die freies Protein S enthält, agglutinieren die Partikel, was zu einer erhöhten Lichtstreuung führt. Bei Bestrahlung mit Licht der entsprechenden Wellenlänge nimmt die gemessene Trübung bzw. Lichtstreuung proportional zur Menge des FPS in der Probe zu.

3 Komponenten

MRX Red Free Protein S besteht aus:

- Latex Reagent: 3 × 2,5 ml Polystyrol-Mikropartikel, beschichtet mit monoklonalen Antikörpern, suspendiert in Puffer mit Stabilisatoren (porcinen Ursprungs) und Konservierungsmitteln.
- Reaction Buffer: 3 × 4 ml mit Puffer, heterophilem Blockierungsreagenz (HBR) und Konservierungsmitteln.

4 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Geeignete Schutzkleidung tragen. Kontakt mit Haut und Augen vermeiden. Nicht in Ausgüsse entleeren. Abfall muss gemäß den örtlichen Vorschriften entsorgt werden.

Das Latex Reagent enthält Mikropartikel aus synthetischen Polymeren. Sorgen Sie deshalb dafür, dass keine Rückstände ins Abwasser oder in die Umwelt gelangen. Der Behälter darf vor der Entsorgung nicht ausgespült werden.

Das Latex Reagent und der Reaction Buffer enthalten Material tierischen Ursprungs und müssen als potenziell infektiös behandelt werden.

Latex Reagent und Reaction Buffer enthalten Natriumazid (weniger als 0,1 %) und 2-Methylisothiazol-3(2H)-on (weniger als 0,0015 %), um mikrobielles Wachstum zu verhindern. Die Produkte ordnungsgemäß entsorgen.

EUH208: Enthält 2-Methylisothiazol-3(2H)-on. Kann eine allergische Reaktion hervorrufen.

EUH210: Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich.

5 Vorbereitung

- Latex Reagent: Sofort einsatzbereit. Da sich die Mikropartikel während der Lagerung absetzen, das Fläschchen vor der Verwendung einige Male am Tag vorsichtig schwenken, um eine homogene Suspension zu gewährleisten. Nicht schütteln.
- Reaction Buffer: Sofort einsatzbereit. Das Fläschchen vor der Verwendung einige Male vorsichtig schwenken.

6 Lagerung und Stabilität

- Latex Reagent: Bei 2–8 °C lagern. Nicht einfrieren. Nach dem Öffnen 4 Wochen lang bei 2–8 °C im verschlossenen Originalfläschchen stabil, sofern keine Kontamination auftritt.
- Reaction Buffer: Bei 2–8 °C lagern. Nicht einfrieren. Nach dem Öffnen 4 Wochen lang bei 2–8 °C im verschlossenen Originalfläschchen stabil, sofern keine Kontamination auftritt.

7 Probenentnahme und -vorbereitung

Venöses Blut wird in 3,2%igem Natriumcitrat in einem Verhältnis von 9 Teilen Blut zu 1 Teil Antikoagulans (1:10-Verhältnis) entnommen. Dieses Verhältnis ist entscheidend. Verletzungen oder Stauungen bei der Blutentnahme sind zu vermeiden. Direkt nach der Entnahme umdrehen. Das Vorhandensein eines Gerinnsels in der Probe ist ein Grund, die Probe zu verwerfen. Zentrifugieren, um thrombozytenarmes Plasma für die Analyse zu gewinnen. Weitere Anweisungen zur Entnahme, Handhabung und Lagerung von Proben finden sich in der CLSI-Richtlinie H21-A5⁹.

8 Verfahren

Für jedes Instrument wird auf die Bedienungsanleitung und auf das instrumentenspezifische Anwendungsblatt verwiesen.

9 Erforderliches Material, das nicht im Lieferumfang enthalten ist

Koagulationsanalysator mit turbidimetrischer Nachweisfunktion im Wellenlängenbereich von 600–800 nm, Pipetten und Folgendes:

Kalibrator	REF
MRX Free Protein S Calibrator	K5044

Kontrollmaterial	REF
MRX Specialty Normal Control	K5021
MRX Specialty Abnormal Control	K5022

Lösungen	REF
Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS) zur Verdünnung, z. B. MRX PBS Diluent	K5047
Deionisiertes Wasser zur Rekonstitution, z. B. MRX Laboratory Water	K5036

10 Qualitätskontrolle

Um konsistente Testergebnisse zu erhalten, wird empfohlen, das Kontrollplasma in regelmäßigen Abständen zu testen. MRX Specialty Controls (K5021/K5022) werden für MRX Red Free Protein S empfohlen. Jedes Labor sollte einen Kontrollbereich festlegen, um die zulässigen Schwankungen bei der täglichen Leistung des Tests zu bestimmen, sowie geeignete Intervalle für die Analyse der Kontrollen in Übereinstimmung mit der guten Laborpraxis. Eine Neukalibrierung wird mindestens immer dann empfohlen, wenn das Kontrollplasma nicht innerhalb des zulässigen Bereichs liegt, und jedes Mal, wenn eine neue Charge des Reagenzes verwendet wird.

11 Ergebnisse

Die Ergebnisse werden in % FPS angegeben, wobei 100 % 1 IE/ml FPS gemäß 2. internationalen WHO-Standard (NIBSC-Code 03/228) entsprechen.

Proben, deren Werte über dem Messbereich liegen, sollten manuell verdünnt und erneut analysiert werden. Ein Ergebnis außerhalb des Messbereichs darf nicht zur Erstellung einer Diagnose oder zur Behandlung eines Patienten herangezogen werden.

12 Erwartete Werte

Normale Werte für freies Protein S liegen bei Frauen typischerweise im Bereich von 54–155 %, während die Werte bei Männern etwas höher liegen, nämlich im Bereich von 68–176 %.¹⁰

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Bestimmung der FPS-Konzentrationen in Plasmaproben von 122 gesunden weiblichen und 138 gesunden männlichen Blutspendern unter Verwendung von MRX Red Free Protein S dargestellt. Die Analyse wurde mit dem Instrument Sysmex CS-2100i durchgeführt.

Anzahl der Proben	FPS-Mittelwert	95 %-Referenzintervall
122 (weiblich)	81 %	35–127 % FPS
138 (männlich)	94 %	57–130% FPS

Aufgrund der Schwankungen zwischen den Laboren sollte jedes Labor sein eigenes Referenzintervall festlegen.

13 Einschränkungen und Störsubstanzen

Die Ergebnisse sollten zusammen mit anderen klinischen und diagnostischen Informationen zur Erstellung einer Diagnose und zur Behandlung von Patienten herangezogen werden.

Während der Schwangerschaft kann der Gehalt an freiem Protein S im Plasma verändert sein. Folglich besteht bei der Analyse von freiem Protein S bei schwangeren Frauen das Risiko für fehlerhafte Ergebnisse. Die Empfehlung der International Society of Thrombosis and Haemostasis (ISTH) lautet daher, während der Schwangerschaft kein freies Protein S zu analysieren.¹¹ Wird freies Protein S trotz dieser Empfehlung während der Schwangerschaft analysiert, muss die Analyse nach der Geburt wiederholt werden. Im Hinblick auf die ISTH-Empfehlungen sollte MRX Red Free Protein S nicht zur Analyse von freiem Protein S in Proben von schwangeren Frauen verwendet werden.

Trübes oder schillerndes Plasma kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen und sollte mit Vorsicht interpretiert werden: Die Probe muss verdünnt und der Test wiederholt werden. MRX Red Free Protein S ist auf Instrumenten der Serie Sysmex CS unempfindlich gegenüber den folgenden Substanzen:

Störsubstanz	Toleranz
Bilirubin	Bis zu 40 mg/dl
Hämoglobin	Bis zu 1000 mg/dl
Triglyceride	Bis zu 1500 mg/dl
Unfraktioniertes Heparin	Bis zu 330 U/dl
Niedermolekulares Heparin	Bis zu 330 U/dl

Proben von Patienten, die Präparate von monoklonalen Maus-Antikörpern zur Diagnose oder Therapie erhalten haben, können Anti-Maus-Antikörper (HAMA) enthalten, die zu einer Überschätzung der Werte für freies Protein S führen können. Ein vorhandener Rheumafaktor kann zu fälschlich erhöhten Werten für freies Protein S führen. Der Reaction Buffer enthält HBR, das unspezifische Reaktionen reduziert; Anwender sollten sich jedoch

bewusst sein, dass bei Proben mit HAMA oder Rheumafaktor weiterhin die Möglichkeit überschätzter Werte für freies Protein S besteht.

Die monoklonalen Antikörper in MRX Red Free Protein S wurden auf ihre Spezifität für freies Protein S hin untersucht. Wenn gereinigtes C4BP zu normalen Plasmaproben in einer Menge hinzugefügt wird, die stöchiometrisch der normalen FPS-Plasmakonzentration entspricht, wird das von MRX Red Free Protein S gemeldete Signal vollständig gequencht.

14 Analytische Leistungsmerkmale

Die folgenden Leistungsdaten wurden mit dem Instrument Sysmex CS-2100i ermittelt. Die Leistung hängt von dem verwendeten Instrument ab. MRX Red Free Protein S weist einen Messbereich von 5–150 % FPS auf. Im Vergleich zu einem anderen, mit Mikropartikeln verstärkten Immunassays weist MRX Red Free Protein S folgende Korrelation auf:

$$y \text{ (MRX Red Free Protein S auf Sysmex CS-2100i)} = 1,0 \times \text{(Siemens Innovance FPS auf Sysmex Cs-2100i)} - 0,7; \\ r^2 = 0,91.$$

Genauigkeit:

Probe	FPS-Mittelwert	Reproduzierbarkeit (VK)
Stufe 1	25 %	2,0 %
Stufe 2	45 %	1,8 %
Stufe 3	95 %	3,0 %

15 Melden von Vorfällen

Alle schwerwiegenden Vorfälle im Zusammenhang mit diesem Produkt sind Nordic Biomarker sowie der zuständigen nationalen Behörde, in der der Anwender niedergelassen ist, zu melden.

16 Zusätzliche Informationen

Ein Papierexemplar dieser Gebrauchsanweisung ist auf Anfrage erhältlich. Wenden Sie sich an Ihren örtlichen Händler.

Das instrumentenspezifische Anwendungsblatt ist bei Ihrem örtlichen Händler erhältlich.

17 Literaturangaben

1. DI SCIPIO, Richard G., et al. A comparison of human prothrombin, factor IX (Christmas factor), factor X (Stuart factor), and protein S. *Biochemistry*, 1977, 16.4: 698-706.
2. DAHLBÄCK, Björn., et al. The Protein C Anticoagulant System. *The Molecular Basis of Blood Disease*. 3rd ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, pp. 614-656, 2000.
3. DAHLBÄCK, Björn. Protein S and C4b-binding protein: components involved in the regulation of the protein C anticoagulant system. *Thrombosis and haemostasis*, 1991, 66.07: 049-061.
4. WALKER, Frederick J. Regulation of activated protein C by a new protein. A possible function for bovine protein S. *Journal of Biological Chemistry*, 1980, 255.12: 5521-5524.
5. HACKENG, Tilman M., et al. Protein S binding to human endothelial cells is required for expression of cofactor activity for activated protein C. *Journal of Biological Chemistry*, 1993, 268.6: 3993-4000.
6. NIXON, R. R., et al. Familial protein S deficiency is associated with recurrent thrombosis. *The Journal of clinical investigation*, 1984, 74.6: 2082-2088.
7. SCHWARZ, Hans Peter, et al. Plasma protein S deficiency in familial thrombotic disease. *Blood*, 1984, 64.6: 1297-1300.
8. REZENDE, Suely Meireles; SIMMONDS, Rachel Elizabeth; LANE, David Anthony. Coagulation, inflammation, and apoptosis: different roles for protein S and the protein S-C4b binding protein complex. *Blood*, 2004, 103.4: 1192-1201.
9. CLSI. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline – Fifth Edition. CLSI document H21-A5. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
10. C. DYKES, Anne, et al. A study of Protein S antigen levels in 3788 healthy volunteers: influence of age, sex and hormone use, and estimate for prevalence of deficiency state. *British journal of haematology*, 2001, 113.3: 636-641.
11. MARLAR, Richard A., et al. Recommendations for clinical laboratory testing for protein S deficiency: Communication from the SSC committee plasma coagulation inhibitors of the ISTH. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2021, 19.1: 68-74.

18 Definition von Symbolen



Hersteller



Elektronische Gebrauchsanweisung
beachten

nordicbiomarker.com/IFU



CE-Kennzeichnung



Verfallsdatum



Medizinisches In-vitro-
Diagnostikum



Temperaturgrenzwert



Katalognummer



Biologische Risiken



Chargencode



Enthält biologisches Material
tierischen Ursprungs

19 Versionsverlauf

Version	Änderungen zur vorherigen Version
12.0	<p>Abschnitt 3 und 13: HBR hinzugefügt.</p> <p>Abschnitt 4: Handhabungsbedingungen aufgrund des Vorhandenseins von synthetischen Polymer-Mikropartikeln und Material tierischen Ursprungs überarbeitet.</p> <p>Abschnitt 18: Symbol Biologische Risiken hinzugefügt.</p>

Instrucciones de uso [ES]

MRX Red Free Protein S

REF K5009

Para uso diagnóstico *in vitro*.

1 Uso previsto

Inmunoensayo de látex para la determinación cuantitativa de la proteína S libre (FPS) en plasma humano citratado como ayuda en el diagnóstico de la deficiencia de proteína S. Destinado al personal profesional de laboratorio que utiliza analizadores de coagulación con detección turbidimétrica en el rango de longitudes de onda de 600 a 800 nm.

2 Antecedentes y principio del método

La proteína S es una glucoproteína dependiente de la vitamina K con propiedades anticoagulantes.^{1,2,3,4} En presencia de calcio, la proteína S actúa como cofactor y forma un complejo con la proteína C activada (APC). El complejo se adhiere a las membranas de fosfolípidos con carga negativa, lo que aumenta la actividad anticoagulante de la APC.^{4,5} Las deficiencias de la proteína S, tanto congénitas como adquiridas, se asocian a un mayor riesgo de trombosis venosa profunda (TVP) y embolia pulmonar (EP).^{6,7}

La concentración total normal de proteína S en el plasma humano es de 20 a 25 mg/L. Aproximadamente dos tercios de esta están unidos a la proteína de unión al C4 (C4BP), mientras que la fracción restante no unida es proteína S libre.^{2,8}

MRX Red Free Protein S se compone de anticuerpos monoclonales específicos de la proteína S acoplados a partículas de poliestireno de tamaño submicrónico. MRX Red Free Protein S solo es sensible a la proteína S libre y no reacciona con la proteína S unida a C4BP. Cuando el reactivo se expone a una muestra de plasma que contiene proteína S libre, las partículas se aglutinan, dando lugar a un aumento de la dispersión de luz. Cuando se expone a la longitud de onda de luz adecuada, el aumento de turbidez medido, o dispersión de la luz, es proporcional a la cantidad de FPS en la muestra.

3 Componentes

MRX Red Free Protein S se compone de:

- Latex Reagent: 3 × 2,5 mL de micropartículas de poliestireno, recubiertas con anticuerpos monoclonales, suspendidas en tampón con estabilizadores (de origen porcino) y conservantes.
- Reaction Buffer: 3 × 4 mL con tampón, reactivo de bloqueo heterofílico (HBR) y conservantes.

4 Advertencias y precauciones

Use ropa adecuada para protegerse. Evite el contacto con la piel y los ojos. No vacíe en los desagües. Los residuos deben eliminarse de acuerdo con la normativa local.

El Latex Reagent contiene micropartículas de polímero sintético. Por lo tanto, asegúrese de que no se liberen residuos en las aguas residuales ni en el medio ambiente. No enjuague el recipiente antes de desecharlo.

El Latex Reagent y el Reaction Buffer contienen material de origen animal y deben manipularse como potencialmente infecciosos.

Latex Reagent y Reaction Buffer contienen azida sódica (menos del 0,1 %) y 2-metilisotiazol-3(2H)-ona (menos del 0,0015 %) para evitar el crecimiento microbiano; utilice los procedimientos de eliminación adecuados.

EUH208: Contiene 2-metilisotiazol-3(2H)-ona. Puede producir una reacción alérgica.

EUH210: Hoja de datos de seguridad disponible a petición.

5 Preparación

- Latex Reagent: Listo para usar. Dado que las micropartículas se asientan durante el almacenamiento, se debe girar suavemente el vial unas cuantas veces cada día antes de su uso para asegurar una suspensión homogénea. No agitar.
- Reaction Buffer: Listo para usar. Gire el vial suavemente unas cuantas veces antes de su uso.

6 Almacenamiento y estabilidad

- Latex Reagent: Conservar a 2-8 °C. No congelar. Una vez abierto, es estable durante 4 semanas a 2-8 °C en el vial original cerrado, siempre que no se produzca contaminación.
- Reaction Buffer: Conservar a 2-8 °C. No congelar. Una vez abierto, es estable durante 4 semanas a 2-8 °C en el vial original cerrado, siempre que no se produzca contaminación.

7 Recogida de muestras y preparación

La sangre venosa se recoge en citrato de sodio al 3,2 % en una proporción de 9 partes de sangre por 1 parte de anticoagulante (proporción 1:10). La proporción es fundamental. Deben evitarse los traumatismos o la estasis durante la toma de muestras de sangre. Invertir inmediatamente después del muestreo. La presencia de cualquier coágulo en una muestra es una causa de rechazo. Centrifugar para producir plasma pobre en plaquetas y utilizarlo para el análisis. Consultar la directriz H21-A5 del CLSI para obtener más instrucciones sobre la recogida, manipulación y almacenamiento de las muestras⁹.

8 Procedimiento

Para cada instrumento, consulte el manual del operador y la hoja de aplicación específica del instrumento.

9 Material necesario pero no suministrado

Analizador de coagulación con capacidad de detección turbidimétrica en el rango de longitudes de onda de 600-800 nm, pipetas y lo siguiente:

Calibrador	REF
MRX Free Protein S Calibrator	K5044

Material de control	REF
MRX Specialty Normal Control	K5021
MRX Specialty Abnormal Control	K5022

Soluciones	REF
Solución salina tamponada con fosfato (PBS) para la dilución, por ejemplo, MRX PBS Diluent	K5047
Agua desionizada para la reconstitución, por ejemplo, MRX Laboratory Water	K5036

10 Control de calidad

Para mantener la consistencia de los resultados del ensayo, se recomienda ensayar plasmas de control a intervalos regulares. Se recomiendan MRX Specialty Controls (K5021/K5022) para MRX Red Free Protein S. Cada laboratorio debe establecer un rango de control para determinar la variación aceptable en los resultados diarios de la prueba, así como los intervalos apropiados para analizar los controles de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio. Se sugiere recalibrar, como mínimo, siempre que los plasmas de control no estén dentro del rango aceptable y cada vez que se utilice un nuevo lote de reactivo.

11 Resultados

Los resultados se indican en % de FPS, donde el 100 % corresponde a 1 UI/mL de FPS del 2º estándar internacional de la OMS (código NIBSC 03/228). Si los resultados de una muestra están por encima del rango de medición, la muestra debe diluirse manualmente y volver a analizarse. No se debe utilizar ningún resultado fuera del rango de medición para establecer un diagnóstico o para el manejo del paciente.

12 Valores esperados

Los niveles normales de proteína S libre para las mujeres suelen estar en el rango de 54-155 %, mientras que los niveles para los hombres son algo más altos, en un rango de 68-176 %.¹⁰

A continuación se presentan los resultados de la determinación de las concentraciones de FPS en muestras de plasma de 122 donantes de sangre femeninos sanos y 138 donantes de sangre masculinos sanos, utilizando MRX Red Free Protein S. El análisis se realizó con un instrumento Sysmex CS-2100i.

Número de muestras	Media de FPS	Intervalo de referencia del 95 %
122 (mujeres)	81 %	35-127 % FPS
138 (hombres)	94 %	57-130 % FPS

Debido a la variación entre laboratorios, cada laboratorio debe establecer su propio intervalo de referencia.

13 Limitaciones y sustancias interferentes

Los resultados deben utilizarse junto con otros datos clínicos y diagnósticos para establecer un diagnóstico y para el manejo del paciente.

Durante el embarazo, el nivel de proteína S libre en el plasma puede verse alterado y, en consecuencia, existe el riesgo de obtener resultados incorrectos al analizar la proteína S libre en muestras de mujeres embarazadas. La recomendación de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia (ISTH) es, por tanto, no analizar la proteína S libre durante el embarazo.¹¹ Si se analiza la proteína S libre durante el embarazo, a pesar de las recomendaciones de no hacerlo, el análisis debe repetirse después del parto. Con respecto a las recomendaciones de la ISTH, MRX Red Free Protein S no debe utilizarse para analizar la proteína S libre en muestras de mujeres embarazadas.

El plasma turbio u opalescente puede provocar resultados erráticos y debe interpretarse con precaución: diluya la muestra y vuelva a analizarla. MRX Red Free Protein S es insensible a las siguientes sustancias en la serie de instrumentos Sysmex CS:

Sustancia interferente	Tolerancia
Bilirrubina	Hasta 40 mg/dL
Hemoglobina	Hasta 1000 mg/dL
Triglicéridos	Hasta 1500 mg/dL
Heparina no fraccionada	Hasta 330 U/dL
Heparina de bajo peso molecular	Hasta 330 U/dL

Las muestras de pacientes que han recibido preparaciones de anticuerpos monoclonales murinos para el diagnóstico o la terapia pueden contener anticuerpos antimurinos (HAMA), lo que puede causar una sobreestimación de los valores de proteína S libre. La presencia del factor reumatoide puede dar lugar a valores de proteína S libre falsamente elevados. El Reaction Buffer incluye HBR que reduce las reacciones inespecíficas, pero los usuarios deben ser conscientes

de que sigue existiendo la posibilidad de que se sobreestimen los valores de proteína S libre en muestras con HAMA o factor reumatoide.

Los anticuerpos monoclonales de MRX Red Free Protein S se han examinado respecto a su especificidad para la proteína S libre. Cuando se añade C4BP purificada a muestras de plasma normal, en cantidades estequiométricamente equivalentes a la concentración plasmática normal de FPS, la señal emitida por MRX Red Free Protein S se apaga completamente.

14 Características de rendimiento analítico

Los siguientes datos de rendimiento se obtuvieron con un instrumento Sysmex CS-2100i. El rendimiento dependerá del instrumento utilizado.

MRX Red Free Protein S tiene un rango de medición de 5-150 % FPS. Cuando se compara con otro inmunoensayo mejorado con micropartículas, MRX Red Free Protein S se correlaciona de la siguiente manera:

y (MRX Red Free Protein S en Sysmex CS-2100i) = 1,0 x (Siemens Innovance FPS en Sysmex CS-2100i) - 0,7; $r^2 = 0,91$.

Precisión:

Muestra	Media de FPS	CV repetibilidad
Nivel 1	25 %	2,0 %
Nivel 2	45 %	1,8 %
Nivel 3	95 %	3,0 %

15 Notificación de incidentes

Cualquier incidente grave que se produzca en relación con este dispositivo deberá notificarse a Nordic Biomarker, así como a la autoridad nacional competente en la que esté establecido el usuario.

16 Información adicional

Se puede solicitar una copia en papel de estas instrucciones de uso. Póngase en contacto con su distribuidor local.

La hoja de aplicación específica del instrumento está disponible en su distribuidor local.

17 Referencias

1. DI SCIPIO, Richard G., et al. A comparison of human prothrombin, factor IX (Christmas factor), factor X (Stuart factor), and protein S. *Biochemistry*, 1977, 16.4: 698-706.
2. DAHLBÄCK, Björn., et al. The Protein C Anticoagulant System. *The Molecular Basis of Blood Disease*. 3rd ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, pp. 614-656, 2000.
3. DAHLBÄCK, Björn. Protein S and C4b-binding protein: components involved in the regulation of the protein C anticoagulant system. *Thrombosis and haemostasis*, 1991, 66.07: 049-061.
4. WALKER, Frederick J. Regulation of activated protein C by a new protein. A possible function for bovine protein S. *Journal of Biological Chemistry*, 1980, 255.12: 5521-5524.
5. HACKENG, Tilman M., et al. Protein S binding to human endothelial cells is required for expression of cofactor activity for activated protein C. *Journal of Biological Chemistry*, 1993, 268.6: 3993-4000.
6. NIXON, R. R., et al. Familial protein S deficiency is associated with recurrent thrombosis. *The Journal of clinical investigation*, 1984, 74.6: 2082-2088.
7. SCHWARZ, Hans Peter, et al. Plasma protein S deficiency in familial thrombotic disease. *Blood*, 1984, 64.6: 1297-1300.
8. REZENDE, Suely Meireles; SIMMONDS, Rachel Elizabeth; LANE, David Anthony. Coagulation, inflammation, and apoptosis: different roles for protein S and the protein S-C4b binding protein complex. *Blood*, 2004, 103.4: 1192-1201.
9. CLSI. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline – Fifth Edition. CLSI document H21-A5. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
10. C. DYKES, Anne, et al. A study of Protein S antigen levels in 3788 healthy volunteers: influence of age, sex and hormone use, and estimate for prevalence of deficiency state. *British journal of haematology*, 2001, 113.3: 636-641.
11. MARLAR, Richard A., et al. Recommendations for clinical laboratory testing for protein S deficiency: Communication from the SSC committee plasma coagulation inhibitors of the ISTH. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2021, 19.1: 68-74.

18 Definición de símbolos



Fabricante



Consulte las instrucciones electrónicas de uso

nordicbiomarker.com/IFU



Marca CE



Fecha de caducidad



Dispositivo médico de diagnóstico in vitro



Límite de temperatura



Número de catálogo



Riesgos biológicos



Código de lote



Contiene material biológico de origen animal

19 Historial de revisiones

Versión	Cambios respecto a la versión anterior
12.0	Sección 3 y 13: Adición de HBR. Sección 4: Condiciones de manipulación revisadas debido a la presencia de micropartículas de polímeros sintéticos y material de origen animal. Sección 18: Adición del símbolo Riesgos biológicos

Käyttöohjeet [FI]

MRX Red Free Protein S

REF K5009

In vitro -diagnostiikkakäyttöön.

1 Käyttötarkoitus

Lateksi-immunomääritys vapaan proteiini S:n (FPS, Free Protein S) kvantitatiiviseen määrittämiseen ihmisen sitraattiplasmasta. Määrittystä käytetään apuna proteiini S:n puutoksen diagnosoissa. Tarkoitettu ammattimaisen laboratorihenkilökunnan käyttöön niillä hyytymistutkimusanalysaattoreilla, joiden turbidometrinen detektio tapahtuu 600–800 nm:n aallonpituusalueella.

2 Menetelmän tausta ja periaate

Proteiini S on K-vitamiinista riippuvainen glykoproteiini, jolla on veren hyytymistä ehkäiseviä ominaisuuksia.^{1,2,3,4} Proteiini S toimii kalsiumin läsnä ollessa aktivoituneen proteiini C:n (APC) kofaktorina ja muodostaa kompleksin sen kanssa. Kompleksi kiinnittyy negatiivisesti varautuneisiin fosfolipidikalvoihin, mikä lisää APC:n veren hyytymistä ehkäisevää vaikutusta.^{4,5} Proteiini S:n puutokset, sekä synnynnäiset että hankitut, liittyvät syvään laskimotromboosin (DVT) ja keuhkoembolian (PE) kohonneeseen riskiin.^{6,7}

Proteiini S:n normaali kokonaispitoisuus ihmisen plasmassa on 20–25 mg/l. Noin kaksi kolmasosaa tästä on C4:ää sitovaan proteiiniin (C4BP) sitoutuneena, kun taas jäljellä oleva sitoutumaton osuus on vapaata proteiini S:ää.^{2,8}

MRX Red Free Protein S -määritys sisältää proteiini S:lle spesifisiä monoklonaalisia vasta-aineita, jotka on kytketty alle mikronin kokoiisiin polystyreenipartikkeleihin. MRX Red Free Protein S -määritys on herkkä ainoastaan vapaalle proteiini S:lle, eikä se reagoi C4BP:hen sitoutuneen proteiini S:n kanssa. Kun reagenssi pääsee kosketukseen vapaata proteiini S:ää sisältävän plasmanäytteen kanssa, partikkelit takertuvat yhteen, jolloin valon sironta lisääntyy. Kun näyte altistetaan sopivalle valon aallonpituudelle, mitattu sameuden kasvu tai valon sironta on verrannollinen näytteessä olevan FPS:n määrään.

3 Ainesosat

MRX Red Free Protein S -reagenssin sisältö:

- Latex Reagent: 3 × 2,5 ml polystyreenimikropartikkeleita, jotka on päällystetty monoklonaalisilla vasta-aineilla ja suspendoitu puskuriin yhdessä stabilointiaineiden (siasta peräisin) ja säilöntäaineiden kanssa.
- Reaction Buffer: 3 × 4 ml, sisältää puskuria, heterofiilistä estoreagenssia (HBR) ja säilöntäaineita.

4 Varoitukset ja varotoimet

Käytä sopivaa suojavaatetusta. Vältä kosketusta ihon ja silmien kanssa. Älä tyhjennä viemäriin. Jätteet on hävitettävä paikallisten määräysten mukaisesti.

Latex Reagent sisältää synteettisiä polymeerimikropartikkeleita. Sen vuoksi on varmistettava, ettei jäämiä pääse jätevesiin tai ympäristöön. Älä huuhtele säiliötä ennen hävittämistä.

Latex Reagent ja Reaction Buffer sisältävät eläinperäistä materiaalia, ja niitä on käsiteltävä mahdollisesti tartuntavaarallisen aineen tapaan.

Latex Reagent ja Reaction Buffer sisältävät natriumatsidia (alle 0,1 %) ja 2-metyyli-isotiatsol-3(2H)-onia (alle 0,0015 %) mikrobikasvun estämiseksi; käytä asianmukaisia hävitysmenetelmiä.

EUH208: Sisältää 2-metyyli-isotiatsol-3(2H)-onia. Saattaa aiheuttaa allergisen reaktion.

EUH210: Käyttöturvallisuustiedote saatavana pyynnöstä.

5 Valmistelu

- Latex Reagent: Valmis käytettäväksi. Koska mikropartikkelit laskeutuvat varastoinnin aikana, pyörittele pulloa varovasti muutaman kerran päivässä ennen käyttöä homogeenisen suspension varmistamiseksi. Ei saa ravistaa.
- Reaction Buffer: Valmis käytettäväksi. Pyörittele pulloa varovasti muutaman kerran ennen käyttöä.

6 Varastointi ja stabiilius

- Latex Reagent: Säilytä 2–8 °C:ssa. Ei saa pakastaa. Säilyy avaamisen jälkeen stabiilina 4 viikkoa 2–8 °C:ssa alkuperäisessä suljetussa pullossa edellyttäen, että kontaminaatiota ei tapahdu.
- Reaction Buffer: Säilytä 2–8 °C:ssa. Ei saa pakastaa. Säilyy avaamisen jälkeen stabiilina 4 viikkoa 2–8 °C:ssa alkuperäisessä suljetussa pullossa edellyttäen, että kontaminaatiota ei tapahdu.

7 Näytteiden ottaminen ja valmistelu

Laskimoveri kerätään 3,2-prosenttiseen natriumsitraattiin suhteessa 9 osaa verta ja 1 osa antikoagulanttia (suhde 1:10). Suhde on ratkaisevan tärkeä. Traumaa tai staasia on vältettävä verinäytettä otettaessa. Käännä ylösalaisin heti näytteenoton jälkeen. Mahdolliset hyytymät näytteessä johtavan näytteen hylkäämiseen. Sentrifugoi vähäverihiutaleisen plasman saamiseksi ja käytä analyysiä varten. Katso näytteen ottamista, käsittelyä ja säilyttämistä koskevat lisäohjeet CLSI-ohjeesta H21-A5⁹.

8 Menetelmä

Katso kunkin laitteen käyttöohjeet ja laitekohtainen sovelluslomake.

9 Tarvittava materiaali, jota ei toimiteta mukana

Hyttymistutkimusanalysointilaite, jonka turbidometrinen detektio tapahtuu 600–800 nm:n aallonpituusalueella, pipettejä ja seuraavat tarvikkeet:

Kalibraattori	REF
MRX Free Protein S Calibrator	K5044
Kontrollimateriaali	REF
MRX Specialty Normal Control	K5021
MRX Specialty Abnormal Control	K5022

Liukokset	REF
Fosfaattipuskuroitua keittosuolaliuosta (PBS) laimentamiseen, esim. MRX PBS Diluent	K5047
Deionisoitua vettä käyttökuntoon saattamista varten, esim. MRX Laboratory Water	K5036

10 Laadunvalvonta

Yhteneväisten määrittäytulosten säilyttämiseksi suositellaan, että kontrolliplasmojen määrittäyt tehdään säännöllisin väliajoin. MRX Red Free Protein S -määrittäyt varten suositellaan MRX Specialty Controls (K5021/K5022) -kontrollien käyttämistä. Kunkin laboratorion on otettava käyttöön kontrollirajat testin päivittäisessä suorittamisessa sallittavan variaation määrittämiseksi sekä säännölliset aikavälit kontrollien analysointiin hyvän laboratoriotäytäntön mukaisesti. Uudelleenkalibrointia suositellaan vähintään aina silloin, kun kontrolliplasmat eivät ole hyväksyttävällä alueella, ja aina, kun käytetään uutta reagenssierää.

11 Tulokset

Tulokset ilmoitetaan prosentteina FPS:stä, jossa 100 % vastaa WHO:n toisen kansainvälisen standardin (NIBSC-koodi 03/228) mukaista FPS-yksikköä 1 IU/ml. Näytteet, joiden raportoidaan olevan mittausalueen yläpuolella, on laimennettava manuaalisesti ja analysoitava uudelleen. Mitään mittausalueen ulkopuolella olevaa tulosta ei pidä käyttää diagnoosin muodostamista tai potilaan hoitoa varten.

12 Odotetut arvot

Naisten normaalit vapaan proteiini S:n tasot ovat tyypillisesti 54–155 %, kun taas miesten tasot ovat hieman suuremmat, 68–176 %.¹⁰

Seuraavassa esitetään tulokset MRX Red Free Protein S -määrittäyt käyttäen tehdyistä FPS-pitoisuusmäärittäyksistä plasmanäytteistä, jotka oli saatu 122 terveeltä verta luovuttaneelta naiselta ja 138 terveeltä verta luovuttaneelta mieheltä. Analyysi tehtiin Sysmex CS-2100i -laitteella.

Näytteiden lukumäärä	FPS-keskiarvo	95 %:n viiteväli
122 (naiset)	81 %	FPS 35–127 %
138 (miehet)	94 %	FPS 57–130 %

Laboratorioiden välisestä variaatiosta johtuen kunkin laboratorion on asetettava oma viitevälinä.

13 Rajoitukset ja häiritsevät aineet

Tuloksia on käytettävä yhdessä muiden kliinisten ja diagnostisten tietojen kanssa diagnoosia muodostettaessa ja potilasta hoidettaessa.

Raskauden aikana vapaan proteiini S:n pitoisuus plasmassa voi muuttua, ja näin ollen on olemassa virheellisten tulosten riski, kun analysoidaan vapaata proteiini S:ää raskaana olevien naisten näytteistä. Tästä syystä Kansainvälinen tromboosi- ja hemostaasiyhdistys (International Society for Thrombosis and Haemostasis, ISTH) suosittelee, että vapaan proteiini S:n pitoisuutta ai analysoida raskauden aikana.¹¹ Jos vapaa proteiini S kuitenkin analysoidaan raskauden aikana, vaikka sitä ei suositella, analyysi täytyy toistaa synnytyksen jälkeen. ISTH:n suositusten mukaisesti MRX Red Free Protein S -määritystä ei pidä käyttää raskaana olevien naisten näytteiden vapaan proteiini S:n analysointiin.

Samea tai opalisoiava plasma voi aiheuttaa epätarkkoja tuloksia, ja niitä on tulkittava varoen. Laimenna näyte ja tee uusi määrittäminen. MRX Red Free Protein S -määritys ei ole herkkä seuraaville aineille Sysmex CS -laitesarjalla analysoitaessa:

Häiritsevä aine	Toleranssi
Bilirubiini	Enintään 40 mg/dl
Hemoglobiini	Enintään 1000 mg/dl
Triglyceridit	Enintään 1500 mg/dl
Fraktioimaton hepariini	Enintään 330 U/dl
Pienimolekyylinen hepariini	Enintään 330 U/dl

Näytteet potilailta, jotka ovat saaneet hiiren monoklonaalisten vasta-aineiden valmisteita diagnoosia tai hoitoa varten, voivat sisältää anti-hiiri-vasta-aineita (HAMA), mikä voi aiheuttaa proteiini S -pitoisuuden yliarviointia. Reumatekijän esiintyminen voi johtaa vapaan proteiini S -arvojen virheelliseen kohoamiseen. Reaction Buffer sisältää HBR:ää, joka vähentää epäspesifisiä reaktioita, mutta käyttäjien on syytä olla tietoisia siitä, että proteiini S -arvot voidaan silti arvioida liian suuriksi näytteissä, joissa on HAMA-aineita tai reumatekijää.

MRX Red Free Protein S -määrityksen sisältämät monoklonaaliset vasta-aineet on seulottu niiden vapaan proteiini S -spesifisyyden osalta. Kun puhdistettua C4BP:tä lisätään normaaliin plasmanäytteeseen määrinä, jotka vastaavat stoikiometrisesti normaalia FPS-

plasmapitoisuutta, MRX Red Free Protein S -määrityksen raportoima signaali sammuu täysin.

14 Analyysin suorituskykyominaisuudet

Seuraavat suorituskykytiedot on saatu Sysmex CS-2100i -laitteella. Suorituskyky riippuu käytettävästä laitteesta.

MRX Red Free Protein S -määrityksen mittausalue on 5–150 % FPS:ää. Kun MRX Red Free Protein S -määritystä verrataan toiseen mikropartikkelitehostettuun immuunimääritykseen, vastaavuus on seuraava:

y (MRX Red Free Protein S Sysmex CS-2100i -laitteessa) = $1,0 \times$ (Siemens Innovance FPS Sysmex CS-2100i -laitteessa) - $0,7$; $r^2 = 0,91$.

Tarkkuus:

Näyte	FPS-keskiarvo	Toistettavuus CV
Taso 1	25 %	2,0 %
Taso 2	45 %	1,8 %
Taso 3	95 %	3,0 %

15 Vaaratilanteiden raportointi

Kaikki tähän laitteeseen liittyvät vakavat vaaratilanteet on ilmoitettava Nordic Biomarker -yhtiölle sekä kansalliselle toimivaltaiselle viranomaiselle siinä maassa, jossa käyttäjä on.

16 Lisätietoja

Näiden käyttöohjeiden paperikopio on saatavana pyynnöstä. Ota yhteys paikalliseen jakelijaan.

Laitekohtainen käyttöohje on saatavana paikalliselta jakelijalta.

17 Viitteet

1. DI SCIPIO, Richard G., et al. A comparison of human prothrombin, factor IX (Christmas factor), factor X (Stuart factor), and protein S. *Biochemistry*, 1977, 16.4: 698-706.
2. DAHLBÄCK, Björn., et al. The Protein C Anticoagulant System. *The Molecular Basis of Blood Disease*. 3rd ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, pp. 614-656, 2000.
3. DAHLBÄCK, Björn. Protein S and C4b-binding protein: components involved in the regulation of the protein C anticoagulant system. *Thrombosis and haemostasis*, 1991, 66.07: 049-061.
4. WALKER, Frederick J. Regulation of activated protein C by a new protein. A possible function for bovine protein S. *Journal of Biological Chemistry*, 1980, 255.12: 5521-5524.
5. HACKENG, Tilman M., et al. Protein S binding to human endothelial cells is required for expression

- of cofactor activity for activated protein C. *Journal of Biological Chemistry*, 1993, 268.6: 3993-4000.
6. NIXON, R. R., et al. Familial protein S deficiency is associated with recurrent thrombosis. *The Journal of clinical investigation*, 1984, 74.6: 2082-2088.
 7. SCHWARZ, Hans Peter, et al. Plasma protein S deficiency in familial thrombotic disease. *Blood*, 1984, 64.6: 1297-1300.
 8. REZENDE, Suely Meireles; SIMMONDS, Rachel Elizabeth; LANE, David Anthony. Coagulation, inflammation, and apoptosis: different roles for protein S and the protein S-C4b binding protein complex. *Blood*, 2004, 103.4: 1192-1201.
 9. CLSI. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline – Fifth Edition. CLSI document H21-A5. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
 10. C. DYKES, Anne, et al. A study of Protein S antigen levels in 3788 healthy volunteers: influence of age, sex and hormone use, and estimate for prevalence of deficiency state. *British journal of haematology*, 2001, 113.3: 636-641.
 11. MARLAR, Richard A., et al. Recommendations for clinical laboratory testing for protein S deficiency: Communication from the SSC committee plasma coagulation inhibitors of the ISTH. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2021, 19.1: 68-74.

18 Symbolien määritelmät



Valmistaja



Perehdy sähköisiin käyttöohjeisiin

nordicbiomarker.com/IFU



CE-merkintä



Käytettävä viimeistään



In vitro -diagnostinen
lääkinnällinen laite



Lämpötilaraja



Luettelonumero



Biologiset riskit



Eräkoodi



Sisältää eläinperäistä biologista
materiaalia

19 Versiohistoria

Versio	Muutokset aiempaan versioon
12.0	Osat 3 ja 13: HBR:n lisääminen. Osa 4: Korjattu käsittelyolosuhteet synteettisten polymeerimikrohiukkasten ja eläinperäisen materiaalin vuoksi. Osa 18: Symbolin Biologiset riskit lisääminen.

Istruzioni per l'uso [IT]

MRX Red Free Protein S

REF K5009

Per uso diagnostico *in vitro*.

1 Uso previsto

Test immunologico al lattice per la determinazione quantitativa della Proteina S Libera (FPS) nel plasma umano citrato come ausilio nella diagnosi di carenza di proteina S. Destinato all'uso da parte di personale di laboratorio professionale che utilizza analizzatori di coagulazione con rilevazione turbidimetrica nella gamma di lunghezza d'onda 600 - 800 nm.

2 Fondamenti e principio del metodo

La proteina S è una glicoproteina dipendente dalla vitamina K con proprietà anticoagulanti.^{1,2,3,4} In presenza di calcio, la proteina S agisce come cofattore e forma un complesso con la proteina C attivata (APC). Il complesso aderisce alle membrane fosfolipidiche caricate negativamente, aumentando l'attività anticoagulante dell'APC.^{4,5} Le carenze di proteina S, sia congenite che acquisite, sono associate a un aumento del rischio di trombosi venosa profonda (TVP) e di embolia polmonare (EP).^{6,7}

La normale concentrazione totale di Proteina S nel plasma umano è di 20 - 25 mg/L. Circa due terzi sono legati alla proteina legante C4 (C4BP), mentre la restante frazione non legata è la proteina S libera.^{2,8}

MRX Red Free Protein S consiste in anticorpi monoclonali specifici per la proteina S accoppiati a particelle di polistirene di dimensioni sub-micron. MRX Red Free Protein S è sensibile solo alla proteina S libera e non reagisce con la proteina S legata a C4BP. Quando il reagente è esposto a un campione di plasma contenente proteina S libera, le particelle si agglutinano, dando luogo a una maggiore dispersione della luce. Se esposto alla lunghezza d'onda appropriata della luce, l'aumento della torbidità misurata, o diffusione della luce, è proporzionale alla quantità di FPS nel campione.

3 Componenti

MRX Red Free Protein S consiste di:

- Latex Reagent: 3 × 2,5 ml di microparticelle di polistirene, rivestite con anticorpi monoclonali, sospese in un tampone con stabilizzatori (di origine suina) e conservanti.
- Reaction Buffer: 3 × 4 ml contenenti tampone, reagente bloccante eterofilo (HBR) e conservanti.

4 Avvertenze e precauzioni

Indossare indumenti protettivi idonei. Evitare il contatto con la cute e con gli occhi. Non versare negli scarichi urbani. Smaltire i rifiuti in conformità alle normative locali.

Il Latex Reagent contiene microparticelle di polimeri sintetici. Pertanto, assicurarsi che non vengano rilasciati residui nelle acque reflue o nell'ambiente. Non sciacquare il contenitore prima dello smaltimento.

Il Latex Reagent e il Reaction Buffer contengono materiale di origine animale e devono essere trattati come potenzialmente infettivi.

Latex Reagent e Reaction Buffer contengono azoturo di sodio (meno dello 0,1%) e 2-metilisotiazol-3(2H)-one (meno dello 0,0015%) per prevenire la crescita microbica; utilizzare procedure di smaltimento adeguate.

EUH208: contiene 2-metilisotiazol-3(2H)-one. Può produrre reazione allergica.

EUH210: scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta.

5 Preparazione

- Latex Reagent: Pronto all'uso. Poiché le microparticelle si depositano durante la conservazione, agitare delicatamente la fiala alcune volte ogni giorno prima dell'uso per garantire una sospensione omogenea. Non scuotere.
- Reaction Buffer: Pronto all'uso. Ruotare delicatamente la fiala alcune volte prima dell'uso.

6 Conservazione e stabilità

- Latex Reagent: Conservare a 2 - 8 °C. Non congelare. Dopo l'apertura, stabilizzare per 4 settimane a 2 - 8 °C nella fiala originale chiusa, a condizione che non si verifichi alcuna contaminazione.
- Reaction Buffer: Conservare a 2 - 8 °C. Non congelare. Dopo l'apertura, stabilizzare per 4 settimane a 2 - 8 °C nella fiala originale chiusa, a condizione che non si verifichi alcuna contaminazione.

7 Raccolta e conservazione dei campioni

Il sangue venoso viene raccolto in citrato di sodio al 3,2% in un rapporto di 9 parti di sangue e 1 parte di anticoagulante (rapporto 1:10). Il rapporto è critico. Evitare traumi o stasi durante il prelievo di sangue. Capovolgere subito dopo il campionamento. La presenza di coaguli è motivo di rifiuto. Centrifugare per produrre plasma povero di piastrine e utilizzarlo per l'analisi. Fare riferimento alla linea guida CLSI H21-A5 per ulteriori istruzioni sulla raccolta, la manipolazione e la conservazione dei campioni.⁹

8 Procedura

Per ogni strumento, vedere il manuale dell'operatore e la scheda applicazioni specifica per lo strumento.

9 Materiale richiesto ma non fornito

Analizzatore di coagulazione con funzione di rilevazione turbidimetrica nella gamma di lunghezza d'onda 600 - 800 nm, pipette e quanto segue:

Calibratore	RIF
MRX Free Protein S Calibrator	K5044

Materiale di controllo	RIF
MRX Specialty Normal Control	K5021
MRX Specialty Abnormal Control	K5022

Soluzioni	RIF
Tampone fosfato salino (PBS) per diluizione, ad esempio MRX PBS Diluent	K5047
Acqua deionizzata per la ricostituzione, ad es. MRX Laboratory Water	K5036

10 Controllo qualità

Per mantenere coerenti i risultati del test, si raccomanda di testare i plasmi di controllo a intervalli regolari. Gli MRX Specialty Controls (K5021/K5022) sono consigliati per il test MRX Red Free Protein S. Ogni laboratorio deve stabilire un intervallo di controllo per determinare la variazione ammissibile per le prestazioni giornaliere del test, così come gli intervalli appropriati per l'analisi dei controlli in conformità alle buone pratiche di laboratorio. La ricalibrazione è consigliata almeno ogni volta che i plasmi di controllo non rientrano nell'intervallo accettabile e ogni volta che viene utilizzato un nuovo lotto di reagente.

11 Risultati

I risultati sono riportati in % FPS, dove il 100% corrisponde a 1 UI/ml FPS del 2° standard internazionale dell'OMS (codice NIBSC 03/228).

I campioni refertati al di sopra dell'intervallo di misurazione devono essere diluiti manualmente e rianalizzati. Nessun risultato al di fuori dell'intervallo di misurazione deve essere usato per formulare una diagnosi o per la gestione del paziente.

12 Valori attesi

I livelli normali di proteina S libera per le donne sono in genere compresi nell'intervallo 54 - 155%, mentre per i maschi sono leggermente più alti, compresi nell'intervallo 68 - 176%.¹⁰

Di seguito sono presentati i risultati della determinazione delle concentrazioni di FPS nei campioni di plasma di 122 donatori di sangue sani di sesso femminile e di 138 donatori di sangue sani di sesso maschile utilizzando MRX Red Free Protein S. L'analisi è stata eseguita con uno strumento Sysmex CS-2100i.

Numero di campioni	FPS media	intervallo di riferimento 95%
122 (femmina)	81%	FPS 35 - 127%
138 (maschio)	94%	FPS 57 - 130%

A causa delle variazioni interlaboratorio, ogni laboratorio deve stabilire il proprio intervallo di riferimento.

13 Limitazioni e sostanze interferenti

I risultati devono essere usati insieme ad altre informazioni cliniche e diagnostiche per formulare una diagnosi e per la gestione del paziente.

Durante la gravidanza, il livello di proteina S libera nel plasma può essere alterato e, di conseguenza, esiste il rischio di risultati errati quando si analizza la proteina S libera su campioni di donne in gravidanza.

La raccomandazione della Società Internazionale di Emostasi e Trombosi (ISTH) è quindi di non analizzare la proteina S libera durante la gravidanza.¹¹ Se la proteina S libera viene analizzata durante la gravidanza, nonostante le raccomandazioni di non farlo, l'analisi deve essere ripetuta dopo il parto. Per quanto riguarda le raccomandazioni dell'ISTH, MRX Red Free Protein S non deve essere utilizzato per analizzare la proteina S libera su campioni provenienti da donne in gravidanza.

Il plasma torbido o opalescente può causare risultati errati e deve essere interpretato con cautela: diluire il campione e ripetere il test. MRX Red Free Protein S è insensibile alle seguenti sostanze sulla serie di strumenti Sysmex CS:

Sostanza interferente	Tolleranza
Bilirubina	Fino a 40 mg/dl
Emoglobina	Fino a 1.000 mg/dl
Trigliceridi	Fino a 1.500 mg/dl
Eparina non frazionata	Fino a 330 U/dl
Eparina a basso peso molecolare	Fino a 330 U/dl

I campioni di pazienti che hanno ricevuto preparazioni di anticorpi monoclonali di topo per la diagnosi o la terapia possono contenere anticorpi anti-topo (HAMA), che possono causare una sovrastima dei valori di proteina S libera. La presenza del fattore reumatoide può anche causare valori di proteina S libera falsamente elevati. Il Reaction Buffer include HBR che riduce le reazioni aspecifiche, ma gli utenti devono essere consapevoli che i valori di proteina S libera per i campioni con HAMA o

fattore reumatoide potrebbero comunque essere sovrastimati.

Gli anticorpi monoclonali di MRX Red Free Protein S sono stati sottoposti a screening per verificarne la specificità per la proteina S libera. Quando la C4BP purificata viene aggiunta a campioni di plasma normale, in quantità stechiometricamente equivalenti alla normale concentrazione plasmatica di FPS, il segnale riportato da MRX Red Free Protein S si spegne completamente.

14 Caratteristiche delle prestazioni analitiche

I seguenti dati di prestazioni sono stati ottenuti con uno strumento Sysmex CS-2100i. Le prestazioni dipendono dallo strumento utilizzato.

MRX Red Free Protein S ha un intervallo di misurazione di 5 - 150% FPS. Rispetto a un altro test immunologico potenziato con microparticelle, MRX Red Free Protein S presenta la seguente correlazione:

$$y \text{ (MRX Red Free Protein S su Sysmex CS-2100i)} = 1,0 \times \text{(Siemens Innovance FPS su Sysmex CS-2100i)} - 0,7; r^2 = 0,91.$$

Precisione:

Campione	FPS media	CV ripetibilità
Livello 1	25%	2,0%
Livello 2	45%	1,8%
Livello 3	95%	3,0%

15 Segnalazione di incidenti

Qualsiasi incidente grave che si verifichi in relazione a questo dispositivo deve essere segnalato a Nordic Biomarker e all'autorità nazionale competente del Paese in cui si trova l'utente.

16 Informazioni aggiuntive

Una copia cartacea di queste istruzioni per l'uso è disponibile su richiesta. Contattare il proprio distributore locale.

La scheda applicazioni specifica dello strumento è disponibile presso il distributore locale.

17 Bibliografia

1. DI SCIPIO, Richard G., et al. A comparison of human prothrombin, factor IX (Christmas factor), factor X (Stuart factor), and protein S. *Biochemistry*, 1977, 16.4: 698-706.

2. DAHLBÄCK, Björn., et al. The Protein C Anticoagulant System. *The Molecular Basis of Blood Disease*. 3rd ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, pp. 614-656, 2000.
3. DAHLBÄCK, Björn. Protein S and C4b-binding protein: components involved in the regulation of the protein C anticoagulant system. *Thrombosis and haemostasis*, 1991, 66.07: 049-061.
4. WALKER, Frederick J. Regulation of activated protein C by a new protein. A possible function for bovine protein S. *Journal of Biological Chemistry*, 1980, 255.12: 5521-5524.
5. HACKENG, Tilman M., et al. Protein S binding to human endothelial cells is required for expression of cofactor activity for activated protein C. *Journal of Biological Chemistry*, 1993, 268.6: 3993-4000.
6. NIXON, R. R., et al. Familial protein S deficiency is associated with recurrent thrombosis. *The Journal of clinical investigation*, 1984, 74.6: 2082-2088.
7. SCHWARZ, Hans Peter, et al. Plasma protein S deficiency in familial thrombotic disease. *Blood*, 1984, 64.6: 1297-1300.
8. REZENDE, Suely Meireles; SIMMONDS, Rachel Elizabeth; LANE, David Anthony. Coagulation, inflammation, and apoptosis: different roles for protein S and the protein S–C4b binding protein complex. *Blood*, 2004, 103.4: 1192-1201.
9. CLSI. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline – Fifth Edition. CLSI document H21-A5. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
10. C. DYKES, Anne, et al. A study of Protein S antigen levels in 3788 healthy volunteers: influence of age, sex and hormone use, and estimate for prevalence of deficiency state. *British journal of haematology*, 2001, 113.3: 636-641.
11. MARLAR, Richard A., et al. Recommendations for clinical laboratory testing for protein S deficiency: Communication from the SSC committee plasma coagulation inhibitors of the ISTH. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2021, 19.1: 68-74.

18 Definizione dei simboli



Produttore



Marchio CE



Dispositivo medico-diagnostico in vitro



Numero di catalogo



Codice del lotto



nordicbiomarker.com/IFU

Consultare le istruzioni per l'uso
in formato elettronico



Data di scadenza



Limite di temperatura



Rischi biologici



Contiene materiale biologico di origine animale

19 Cronologia della revisione

Versione	Modifiche alla versione precedente
12.0	Sezioni 3 e 13: Aggiunta di HBR. Sezione 4: Condizioni di manipolazione riviste a causa della presenza di microparticelle di polimeri sintetici e di materiale di origine animale. Sezione 18: Aggiunta del simbolo Rischi biologici.

Bruksanvisning [NO]

MRX Red Free Protein S

REF K5009

Til *in vitro*-diagnostisk bruk.

1 Tiltent bruk

Lateksimmunanalyse for kvantitativ bestemmelse av fritt protein S (FPS) i sitrert humant plasma som et hjelpemiddel i diagnostisering av protein S-mangel. Beregnet for å brukes av faglært laboratoriepersonell som bruker koagulasjonsanalyser med turbidimetriske deteksjon i bølglengdeområdet 600–800 nm.

2 Bakgrunn og metodens prinsipper

Protein S er et K-vitaminavhengig glykoprotein med antikoagulerende egenskaper.^{1,2,3,4} Ved tilstedeværelse av kalsium virker protein S som en kofaktor for, og danner et kompleks med, aktivert protein C (APC). Komplekset fester seg til negativt ladede fosfolipidmembraner, noe som øker antikoagulasjonsaktiviteten til APC.^{4,5} Protein S-mangel, både medfødt og ervervet, er assosiert med økt risiko for dyp venetrombose (DVT) og lungeemboli (PE).^{6,7}

Den normale totale konsentrasjonen av protein S i humant plasma er 20–25 mg/l. Ca. to tredjedeler av dette er bundet til C4-bindingsprotein (C4BP), mens den resterende ubundne fraksjonen er fritt protein S.^{2,8}

MRX Red Free Protein S består av protein S-spesifikke monoklonale antistoffer koblet til polystyrenpartikler i sub-mikronstørrelse. MRX Red Free Protein S er kun følsomt for fritt protein S og vil ikke reagere med protein S som er bundet til C4BP. Når reagenset utsettes for en plasmaprøve som inneholder fritt protein S, vil partiklene agglutinere, noe som gir økt lysspredning. Når det utsettes for lys med riktig bølglengde, er økningen i målt turbiditet eller lysspredning proporsjonal med mengden FPS i prøven.

3 Komponenter

MRX Red Free Protein S består av:

- Latex Reagent: 3 × 2,5 ml polystyrenmikropartikler, belagt med monoklonale antistoffer, suspendert i buffer med stabilisatorer (fra svin) og konserveringsmidler.
- Reaction Buffer: 3 × 4 ml som inneholder buffer, heterofil blokkeringsreagens (HBR) og konserveringsmidler.

4 Advarsler og forholdsregler

Bruk egnede verneklær. Unngå kontakt med hud og øyne. Må ikke helles i avløp. Avfall må kastes i henhold til lokale forskrifter.

Latex Reagent inneholder syntetiske polymermikropartikler. Sørg derfor for at ingen rester havner i avløpsvann eller miljøet. Ikke skyll beholderen før avhending.

Latex Reagent og Reaction Buffer inneholder materiale av animalsk opprinnelse og bør håndteres som potensielt smittefarlig.

Latex Reagent og Reaction Buffer inneholder natriumazid (mindre enn 0,1 %) og 2-metylisotiazol-3(2H)-on (mindre enn 0,0015 %) for å forhindre mikrobiell vekst; bruk riktige prosedyrer for avfallshåndtering.

EUH208: Inneholder 2-metylisotiazol-3(2H)-on. Kan utløse en allergisk reaksjon.

EUH210: Sikkerhetsdatablad er tilgjengelig på anmodning.

5 Klargjøring

- Latex Reagent: Klart til bruk. Siden mikropartiklene vil synke under oppbevaring, må du virvle hetteglasset forsiktig noen ganger hver dag før bruk for å sikre en homogen suspensjon. Skal ikke ristes.
- Reaction Buffer: Klart til bruk. Virvle hetteglasset forsiktig noen ganger før bruk.

6 Oppbevaring og stabilitet

- Latex Reagent: Oppbevares ved 2–8 °C. Må ikke fryses. Etter anbrudd, stabilt i 4 uker ved 2–8 °C i lukket originalt hetteglass, forutsatt at det ikke oppstår kontaminering.
- Reaction Buffer: Oppbevares ved 2–8 °C. Må ikke fryses. Etter anbrudd, stabilt i 4 uker ved 2–8 °C i lukket originalt hetteglass, forutsatt at det ikke oppstår kontaminering.

7 Prøveinnsamling og prøvetilberedelse

Venøst blod tas i 3,2 % natriumcitrat med fordelingen 9 deler blod og 1 del antikoagulant (1:10). Denne fordelingen er svært viktig. Unngå traume eller stase under blodprøvetaking. Vendes umiddelbart etter prøvetaking. Prøver med koagel skal ikke brukes. Sentrifuger for å oppnå blodplatefattig plasma, og bruk dette til analyse. Se CLSI-retningslinjen H21-A5 for ytterligere instruksjoner om prøvetaking, -håndtering og -oppbevaring⁹.

8 Fremgangsmåte

Se bruksanvisningen og det instrumentspesifikke applikasjonsarket for hvert instrument.

9 Materielle som kreves, men som ikke medfølger

Koagulasjonsanalysator med turbidimetrisk deteksjon i bølglengdeområdet 600–800 nm, pipetter og følgende:

Kalibrator	REF
MRX Free Protein S Calibrator	K5044
Kontrollmateriale	REF
MRX Specialty Normal Control	K5021
MRX Specialty Abnormal Control	K5022

Løsninger	REF
Fosfatbufret saltvann (PBS) til fortynning, f.eks. MRX PBS Diluent	K5047
Avionisert vann til rekonstituering, f.eks. MRX Laboratory Water	K5036

10 Kvalitetskontroll

For å oppnå konsekvente analyseresultater anbefales det at kontrollplasma analyseres regelmessig. MRX Specialty Controls (K5021/K5022) anbefales for MRX Red Free Protein S. Hvert laboratorium bør etablere et kontrollområde for å bestemme den tillatte variasjonen i testytelsen fra dag til dag, samt egnede intervaller for å analysere kontroller i samsvar med god laboratoriepraksis. Det anbefales som et minimum å kalibrere på nytt når kontrollplasmaene ikke er innenfor det akseptable området og hver gang en ny batch med reagens tas i bruk.

11 Resultater

Resultatene er angitt i % FPS, der 100 % tilsvarer en 1 IE/ml FPS av WHO's 2. internasjonale standard (NIBSC-kode 03/228).

Prøver som er rapportert over måleområdet, bør fortynnes manuelt og analyseres på nytt. Ingen resultater utenfor måleområdet skal brukes til å stille en diagnose eller i forbindelse med pasientbehandling.

12 Forventede verdier

Normale nivåer av fritt protein S for kvinner er vanligvis i området 54–155 %, mens nivåene for menn er noe høyere og i området 68–176 %.¹⁰

Resultater fra FPS-konsentrasjonsbestemmelse i plasmaprøver fra 122 friske kvinnelige blodgivere og 138 friske mannlige blodgivere ved bruk av MRX Red Free Protein S er presentert nedenfor. Analysen ble utført ved bruk av et Sysmex CS-2100i-instrument.

Antall prøver	Gjennomsnittlig FPS	95 % referanseintervall
122 (kvinne)	81 %	35–127 % FPS
138 (mann)	94 %	57–130 % FPS

På grunn av variasjon mellom laboratorier bør hvert laboratorium fastsette eget referanseintervall.

13 Begrensninger og interfererende stoffer

Resultatene bør brukes sammen med annen klinisk og diagnostisk informasjon for å stille en diagnose og for pasientbehandling.

Under graviditet kan nivået av fritt protein S i plasma endres, noe som fører til en risiko for feil resultater ved analyser av fritt protein S i prøver fra gravide kvinner. Anbefalingen fra International Society of Thrombosis and Haemostasis (ISTH) er derfor å ikke analysere fritt protein S under graviditet¹¹ Hvis fritt protein S til tross for anbefalingene analyseres under graviditet, må analysen gjentas etter fødselen. I henhold til anbefalingene fra ISTH bør MRX Red Free Protein S ikke brukes til å analysere fritt protein S i prøver fra gravide kvinner.

Uklart eller opaliserende plasma kan gi uregelmessige resultater og bør tolkes deretter: Fortynn prøven, og analyser den på nytt. MRX Red Free Protein S er ikke følsomt overfor følgende stoffer på Sysmex CS-instrumentserien:

Forstyrrende stoff	Toleranse
Bilirubin	Opptil 40 mg/dl
Hemoglobin	Opptil 1000 mg/dl
Triglycider	Opptil 1500 mg/dl
Ufraksjonert heparin	Opptil 330 U/dl
Heparin med lav molekylvekt	Opptil 330 U/dl

Prøver fra pasienter som har fått preparater av monoklonale antistoffer fra mus i forbindelse med diagnose eller behandling, kan inneholde anti-mus-antistoffer (HAMA), noe som kan føre til at fritt protein S-verdier overestimeres. Tilstedeværelsen av revmatoid faktor kan føre til falskt forhøyede fritt protein S-verdier. Reaction Buffer inneholder HBR som reduserer uspesifikke reaksjoner, men brukere bør være oppmerksomme på at det fortsatt er mulighet for overestimering av frie protein S-verdier i prøver med HAMA eller revmatoid faktor.

De monoklonale antistoffene i MRX Red Free Protein S har blitt screenet for spesifisitet for fritt protein S. Når rensed C4BP tilsettes i normale plasmaprøver, i mengder som er støkiometrisk ekvivalente med normal FPS-plasmakonsentrasjon, blir signalet rapportert av MRX Red Free Protein S fullstendig slukket.

14 Analytiske ytelsesegenskaper

Følgende ytelsesdata ble innhentet med et Sysmex CS-2100i-instrument. Ytelse avhenger av instrumentet som brukes.

MRX Red Free Protein S har et måleområde på 5–150 % FPS. Sammenlignet med en annen mikropartikkelforsterket immunanalyse viser MRX Red Free Protein S følgende korrelasjon:

$$y \text{ (MRX Red Free Protein S på Sysmex CS-2100i)} = 1,0 \times \text{ (Siemens Innovance FPS på Sysmex CS-2100i)} - 0,7; \\ r^2 = 0,91.$$

Presisjon:

Prøve	Gjennomsnittlig FPS	Repeterbarhet CV
Nivå 1	25 %	2,0 %
Nivå 2	45 %	1,8 %
Nivå 3	95 %	3,0 %

15 Rapportering av hendelser

Eventuelle alvorlige hendelser som oppstår i forbindelse med denne enheten, skal rapporteres til Nordic Biomarker samt nasjonale myndigheter der brukeren er etablert.

16 Ytterligere informasjon

En papirkopi av denne bruksanvisningen er tilgjengelig på forespørsel. Kontakt den lokale distributøren.

Det instrumentspesifikke applikasjonsarket er tilgjengelig fra den lokale distributøren.

17 Referanser

1. DI SCIPIO, Richard G., et al. A comparison of human prothrombin, factor IX (Christmas factor), factor X (Stuart factor), and protein S. *Biochemistry*, 1977, 16.4: 698-706.
2. DAHLBÄCK, Björn., et al. The Protein C Anticoagulant System. *The Molecular Basis of Blood Disease*, 3rd ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, pp. 614-656, 2000.
3. DAHLBÄCK, Björn. Protein S and C4b-binding protein: components involved in the regulation of the protein C anticoagulant system. *Thrombosis and haemostasis*, 1991, 66.07: 049-061.
4. WALKER, Frederick J. Regulation of activated protein C by a new protein. A possible function for bovine protein S. *Journal of Biological Chemistry*, 1980, 255.12: 5521-5524.
5. HACKENG, Tilman M., et al. Protein S binding to human endothelial cells is required for expression of cofactor activity for activated protein C. *Journal of Biological Chemistry*, 1993, 268.6: 3993-4000.

6. NIXON, R. R., et al. Familial protein S deficiency is associated with recurrent thrombosis. *The Journal of clinical investigation*, 1984, 74.6: 2082-2088.
7. SCHWARZ, Hans Peter, et al. Plasma protein S deficiency in familial thrombotic disease. *Blood*, 1984, 64.6: 1297-1300.
8. REZENDE, Suely Meireles; SIMMONDS, Rachel Elizabeth; LANE, David Anthony. Coagulation, inflammation, and apoptosis: different roles for protein S and the protein S–C4b binding protein complex. *Blood*, 2004, 103.4: 1192-1201.
9. CLSI. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline – Fifth Edition. CLSI document H21-A5. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
10. C. DYKES, Anne, et al. A study of Protein S antigen levels in 3788 healthy volunteers: influence of age, sex and hormone use, and estimate for prevalence of deficiency state. *British journal of haematology*, 2001, 113.3: 636-641.
11. MARLAR, Richard A., et al. Recommendations for clinical laboratory testing for protein S deficiency: Communication from the SSC committee plasma coagulation inhibitors of the ISTH. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2021, 19.1: 68-74.

18 Definisjon av symboler



Produsent



Se elektronisk bruksanvisning

nordicbiomarker.com/IFU



CE-merke



Utløpsdato



In vitro-diagnostisk medisinsk utstyr



Temperaturgrense



Katalognummer



Biologisk fare



Batchkode



Inneholder biologisk materiale av animalsk opprinnelse

19 Endringshistorikk

Versjon	Endringer fra tidligere versjon
12.0	<p>Avsnitt 3 og 13: Lagt til HBR.</p> <p>Avsnitt 4: Revidert håndteringsbetingelser på grunn av tilstedeværelsen av syntetiske polymermikropartikler og materiale av animalsk opprinnelse.</p> <p>Avsnitt 18: Lagt til symbol Biologisk fare.</p>

Bruksanvisning [SV]

MRX Red Free Protein S

REF K5009

För *in vitro* diagnostisk användning.

1 Avsedd användning

Latexbaserad immunoanalys för kvantitativ bestämning av fritt Protein S i citrerad human plasma som ett hjälpmedel vid diagnostisering av Protein S-brist. Avsedd att användas av professionell laboratoriepersonal med koagulationsinstrument med turbidimetrisk detektion i våglängdsområdet 600 - 800 nm.

2 Bakgrund och metodprincip

Protein S är ett vitamin K beroende glykoprotein med antikoagulerande egenskaper.^{1,2,3,4} I närvaro av kalcium agerar Protein S som en kofaktor och bildar ett komplex med aktiverat Protein C (APC). Komplexet adhererar till negativt laddade fosfolipidmembran som vilket ökar den antikoagulerande aktiviteten hos APC.^{4,5} Protein S-brist, både medfödd och förvärvad, är associerad med ökad risk för djup ventrombos (DVT) och lungemboli (PE).^{6,7} Den normala totalkoncentrationen av Protein S i human plasma är i intervallet 20 - 25 mg/ml. Ungefär två tredjedelar av detta är bundet till C4 Binding Protein (C4BP), medan den återstående, icke bundna fraktionen, är fritt Protein S.^{2,8}

MRX Red Free Protein S består av Protein S-specifika monoklonala antikroppar kopplade till polystyrenpartiklar i submikronstorlek. MRX Red Free Protein S har endast känslighet för fritt Protein S och reagerar inte med Protein S bundet till C4BP. När reagenset kommer i kontakt med ett plasmaproov innehållande fritt Protein S agglutinerar partiklarna, vilket ger upphov till ökad ljusspridning. Vid exponering av ljus med rätt våglängd är ökningen i uppmätt turbiditet eller ljusspridning, proportionell mot mängden FPS i provet.

3 Innehåll

MRX Red Free Protein S består av:

- Latex Reagent: 3 × 2,5 mL mikropartiklar av polystyren belagda med monoklonala antikroppar, suspenderade i buffert med stabilisatorer (från svin) och konserveringsmedel.
- Reaction Buffer: 3 × 4 mL innehållande buffert, reagens för blockering av heterofila antikroppar (HBR) samt konserveringsmedel.

4 Varningar och försiktighetsåtgärder

Använd lämpliga skyddskläder. Undvik kontakt med hud och ögon. Håll inte ut i avlopp. Avfall hanteras enligt lokala föreskrifter.

Latex Reagent innehåller mikropartiklar av syntetisk polymer. Säkerställ därför att inga rester släpps ut i avloppsvatten eller i miljön. Skölj inte behållaren före bortskaffande.

Latex Reagent och Reaction Buffer innehåller material från djur och ska hanteras som potentiellt smittsamma.

Latex Reagent och Reaction Buffer innehåller natriumazid (mindre än 0,1 %) och 2-metylisotiazol-3(2H)-on (mindre än 0,0015 %) för att förhindra mikrobiell tillväxt; använd korrekt avfallshantering.

EUH208: Innehåller 2-metylisotiazol-3(2H)-on. Kan orsaka en allergisk reaktion.

EUH210: Säkerhetsdatablad finns att rekvirera.

5 Förberedelser

- Latex Reagent: Produkten är klar att användas. Snurra vialen försiktigt några gånger varje dag innan användning för att säkerställa en homogen suspension då mikropartiklarna sedimenterar under förvaring. Skaka inte.
- Reaction Buffer: Produkten är klar att användas. Snurra vialen försiktigt några gånger före användning.

6 Förvaring och stabilitet

- Latex Reagent: Förvara vid 2 - 8 °C. Får ej frysas. Öppnad vial är hållbar i 4 veckor vid 2 - 8 °C i försluten originalvial, förutsatt att ingen kontamination sker.
- Reaction Buffer: Förvara vid 2 - 8 °C. Får ej frysas. Öppnad vial är hållbar i 4 veckor vid 2 - 8 °C i försluten originalvial, förutsatt att ingen kontamination sker.

7 Provtagning och provberedning

Venöst blod insamlas i 3,2 % natriumcitrat i förhållandet 9 delar blod till 1 del antikoagulant (kvot 1:10). Förhållandet är kritiskt. Trauma eller stas under provtagning bör undvikas. Invertera röret ett par gånger direkt efter provtagning. Kassera provet vid förekomst av koagulation. Centrifugera för att erhålla plasma fri från blodplättar, och använd för analysen. Se CLSI guide H21-A5 för ytterligare information om provtagning, provhantering och förvaring.⁹

8 Utförande

Se respektive instruments bruksanvisning samt instrumentspecifikt applikationsblad.

9 Nödvändigt material som inte ingår i förpackningen

Koagulationsinstrument med turbidimetrisk detektion i våglängdsområdet 600 - 800 nm, pipetter och följande material:

Kalibratör	REF
MRX Free Protein S Calibrator	K5044
Kontrollmaterial	REF
MRX Specialty Normal Control	K5021
MRX Specialty Abnormal Control	K5022

Lösningar	REF
Fosfatbuffrad saltlösning (PBS) för spädning, t ex MRX PBS Diluent	K5047
Avjonat vatten för rekonstituering, t ex MRX Laboratory Water	K5036

10 Kvalitetskontroll

För att bibehålla konsekventa analysresultat rekommenderas att analysera kontrollplasma med regelbundna intervall. MRX Specialty Controls (K5021/K5022) rekommenderas för MRX Red Free Protein S. Varje laboratorium bör upprätta ett kontrollintervall för att fastställa den tillåtna variationen i testets dagliga prestanda samt lämpliga intervall för att analysera kontroller, i enlighet med god laboratoriesed.

Som minimum föreslås omkalibrering när kontrollplasmorna inte hamnar inom det acceptabla intervallet och varje gång en ny lot av reagenset tas i bruk.

11 Resultat

Resultat rapporteras i % FPS, där 100 % motsvarar 1 IU/ml FPS för WHO's 2nd International Standard (NIBSC code 03/228).

Prover som rapporteras ovanför mätområdet ska spädas manuellt och analyseras om. Inga resultat utanför mätområdet ska användas för att ställa en diagnos eller användas för vidare patienthantering.

12 Förväntade värden

Normala nivåer av fritt Protein S ligger vanligtvis i området 54 - 155 %, medan nivåerna för män är något högre och ligger i området 68 - 176 %.¹⁰

Resultat från bestämning av FPS-koncentration i plasma från 122 friska kvinnliga bloddonatorer och 138 friska manliga bloddonatorer vid användning av MRX Red Free Protein S presenteras nedan. Analysen utfördes med ett Sysmex CS-2100i instrument:

Antal prover	Medel FPS	95 % referensintervall
122 (kvinnor)	81 %	35 - 127 % FPS
138 (män)	94 %	57 - 130 % FPS

På grund av variation mellan laboratorier bör varje laboratorium fastställa sitt eget referensintervall.

13 Begränsningar och interfererande ämnen

Resultaten bör användas tillsammans med annan klinisk och diagnostisk information för att ställa en diagnos och för patienthantering.

Under graviditet kan nivån av fritt Protein S i plasma förändras, och följaktligen finns det en risk för felaktiga resultat vid analys av fritt Protein S på prover från gravida kvinnor. Rekommendationen från International Society of Thrombosis and Haemostasis (ISTH) är därför att inte analysera fritt Protein S under graviditet.¹¹

Om fritt Protein S analyseras under graviditet, trots att rekommendationerna avråder från det, måste analysen upprepas postpartum. Med avseende på rekommendationerna från ISTH bör inte MRX Red Free Protein S användas för att analysera fritt Protein S i prov från gravida kvinnor.

Grumlig eller opalescent plasma kan orsaka oregelbundna resultat och bör tolkas med försiktighet; späd provet och analysera om.

MRX Red Free Protein S är okänslig för följande ämnen på Sysmex CS-instrumentserien:

Interfererande ämne	Tolerans
Bilirubin	Up to 40 mg/dl
Hemoglobin	Up to 1000 mg/dl
Triglycerider	Up to 1500 mg/dl
Ofraktionerat heparin	Up to 330 U/dl
Lågmolekylärt heparin	Up to 330 U/dl

Prover från patienter som har fått preparat med monoklonala antikroppar från möss för diagnos eller behandling kan innehålla anti-mus antikroppar (HAMA) som kan orsaka överskattning av fritt Protein S värden. Även närvaro av reumatoid faktor kan orsaka falskt förhöjda fritt Protein S värden. Reaction Buffer innehåller HBR som minskar ospecifika reaktioner. Användare bör dock vara medvetna om att det fortfarande finns risk för överskattade värden för fritt Protein S för prover med HAMA eller reumatoid faktor.

De monoklonala antikropparna i MRX Red Free Protein S har screenats för sin specificitet för fritt Protein S. När renat C4BP adderas till normala plasmaprover i mängder som stökiometriskt motsvarar den normala FPS koncentrationen i plasma, blockeras signalen från MRX Red Free Protein S helt.

14 Analytisk prestanda

Följande prestandadata erhöles med ett Sysmex CS-2100i instrument. Prestandan beror på vilket instrument som används.

MRX Red Free Protein S har ett mätområde mellan 5 - 150 % FPS. Vid jämförelse med en annan mikropartikelbaserad immunoanalys korrelerar MRX Red Free Protein S enligt följande:

$$y \text{ (MRX Red Free Protein S on Sysmex CS-2100i)} = 1.0 \times x \text{ (Siemens Innovance FPS on Sysmex CS-2100i)} - 0.7;$$

$$r^2 = 0.91.$$

Precision:

Prov	Medel FPS	Repetierbarhet CV
Nivå 1	25 %	2,0 %
Nivå 2	45 %	1,8 %
Nivå 3	95 %	3,0 %

15 Rapportering av tillbud

Allvarliga tillbud som inträffar vid användning av denna produkt ska rapporteras till Nordic Biomarker samt till den nationella behöriga myndigheten där användaren är etablerad.

16 Övrig information

En papperskopia av denna bruksanvisning är tillgänglig på begäran. Kontakta din lokala distributör.

Instrumentspecifikt applikationsblad är tillgängligt hos din lokala distributör.

17 Referenser

1. DI SCIPIO, Richard G., et al. A comparison of human prothrombin, factor IX (Christmas factor), factor X (Stuart factor), and protein S. *Biochemistry*, 1977, 16.4: 698-706.
2. DAHLBÄCK, Björn., et al. The Protein C Anticoagulant System. *The Molecular Basis of Blood Disease*. 3rd ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, pp. 614-656, 2000.
3. DAHLBÄCK, Björn. Protein S and C4b-binding protein: components involved in the regulation of the protein C anticoagulant system. *Thrombosis and haemostasis*, 1991, 66.07: 049-061.
4. WALKER, Frederick J. Regulation of activated protein C by a new protein. A possible function for bovine protein S. *Journal of Biological Chemistry*, 1980, 255.12: 5521-5524.
5. HACKENG, Tilman M., et al. Protein S binding to human endothelial cells is required for expression of cofactor activity for activated protein C. *Journal of Biological Chemistry*, 1993, 268.6: 3993-4000.

6. NIXON, R. R., et al. Familial protein S deficiency is associated with recurrent thrombosis. *The Journal of clinical investigation*, 1984, 74.6: 2082-2088.
7. SCHWARZ, Hans Peter, et al. Plasma protein S deficiency in familial thrombotic disease. *Blood*, 1984, 64.6: 1297-1300.
8. REZENDE, Suely Meireles; SIMMONDS, Rachel Elizabeth; LANE, David Anthony. Coagulation, inflammation, and apoptosis: different roles for protein S and the protein S–C4b binding protein complex. *Blood*, 2004, 103.4: 1192-1201.
9. CLSI. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline – Fifth Edition. CLSI document H21-A5. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
10. C. DYKES, Anne, et al. A study of Protein S antigen levels in 3788 healthy volunteers: influence of age, sex and hormone use, and estimate for prevalence of deficiency state. *British journal of haematology*, 2001, 113.3: 636-641.
11. MARLAR, Richard A., et al. Recommendations for clinical laboratory testing for protein S deficiency: Communication from the SSC committee plasma coagulation inhibitors of the ISTH. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2021, 19.1: 68-74.

18 Definition av symboler



Tillverkare



Läs den elektroniska bruksanvisningen

nordicbiomarker.com/IFU



CE-märke



Används före



In vitro diagnostisk produkt



Temperaturgräns



Katalognummer



Biologiska risker



Satsnummer



Innehåller biologiskt material från djur

19 Revisionshistorik

Version	Ändringar sedan föregående version
12.0	<p>Avsnitt 3 och 13: Tillägg av HBR.</p> <p>Avsnitt 4: Reviderade hanteringsanvisningar på grund av förekomsten av mikropartiklar av syntetisk polymer och material från djur.</p> <p>Avsnitt 18: Tillägg av symbol Biologiska risker.</p>