



Instructions for Use

MRX Blue Free Protein S, K5010

Contents

English [EN]	3
Deutsch [DE]	7
Español [ES]	12

Instructions for Use [EN]

MRX Blue Free Protein S

REF K5010

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 400 - 600 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 for 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 Blue Free Protein S consists of Protein S specific monoclonal antibodies coupled to sub-micron sized polystyrene particles. MRX Blue 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 Blue 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 and Reaction Buffer contain material of animal origin and should be handled as potentially infectious.

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 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 8 weeks at 2 - 8 °C in the closed original vial, provided no contamination occurs. For information regarding on-board stability, refer to the instrument-specific application sheet.
- Reaction Buffer: Store at 2 - 8 °C. Do not freeze. After opening, stable for 8 weeks at 2 - 8 °C in the closed original vial, provided no contamination occurs. For information regarding on-board stability, refer to the instrument-specific application sheet.

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 for further instructions on specimen collection, handling and storage.⁹

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 400 - 600 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 Blue 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 3rd International Standard (NIBSC code 22/202).

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 120 healthy blood donors using MRX Blue Free Protein S are presented below. The analysis was performed using a Sysmex CS-2100i instrument.

No of samples	Mean FPS	Mean $\pm$ 3SD
120	102%	39 - 165% 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 Blue 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 Blue Free Protein S is insensitive to the following substances on Sysmex CS-instrument series:

Interfering substance	Tolerance
Conjugated Bilirubin	Up to 18 mg/dL
Unconjugated Bilirubin	Up to 18 mg/dL
Haemoglobin	Up to 500 mg/dL
Triglycerides	Up to 230 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 concentrations. The presence of rheumatoid factor may also result in falsely elevated free Protein S concentrations. 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 levels for samples with HAMA or rheumatoid factor. MRX Blue Free Protein S is insensitive to 1000 IU/mL of rheumatoid factor and 1280 x HAMA.

The monoclonal antibodies in MRX Blue 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 Blue 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 Blue Free Protein S has a measuring range of 7 - 200% FPS. There is no prozone effect below 300% FPS.

Method comparison performed using Passing-Bablok:

Predicate Device (y)	System (x)	Regression	R
Siemens INNOVANCE free PS Ag	MRX Blue Free Protein S	$y = 0.94x + 1.32$	0.95

Precision:

Sample	Mean FPS	Repeatability CV
Level 1	28%	2.9%
Level 2	86%	2.5%

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

- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- NIXON, R. R., et al. Familial protein S deficiency is associated with recurrent thrombosis. *The Journal of clinical investigation*, 1984, 74.6: 2082-2088.
- 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. 6th ed. CLSI guideline H21. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2024.

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



CE mark



Use-by date



In vitro diagnostic medical device



Temperature limit



Catalogue number



Biological risks



Batch code



Contains biological material of animal origin

nordicbiomarker.com/IFU

19 Revision history

Version	Changes to previous version
11.0	Section 4: Revised handling conditions due to the presence of material of animal origin, and information on synthetic polymer microparticles added. Section 6: Revised information on on-board stability. Section 11: Updated reference to the WHO International Standard (NIBSC code 22/202). Section 18: Addition of the symbol "Contains biological material of animal origin". Minor editorial revisions made.

Gebrauchsanweisung [DE]

MRX Blue Free Protein S

REF K5010

Zur Verwendung als *In-vitro*-Diagnostikum.

1 Verwendungszweck

Latex-Immunassay zur quantitativen Bestimmung von freiem Protein S (FPS) in zitiertem Humanplasma als Hilfsmittel zur Diagnose von Protein-S-Mangel. Zur Verwendung durch professionelles Laborpersonal auf Koagulationsanalysatoren mit turbidimetrischer Nachweisfunktion im Wellenlängenbereich von 400–600 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 Blue Free Protein S besteht aus Protein-S-spezifischen monoklonalen Antikörpern, die an Polystyrolpartikel in Submikrongröße gekoppelt sind. MRX Blue 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 Blue 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 und der Reaction Buffer enthalten Material tierischen Ursprungs und sind als potenziell infektiös zu behandeln.

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.

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 8 Wochen lang bei 2–8 °C im verschlossenen Originalfläschchen stabil, sofern keine Kontamination auftritt. Informationen zur Stabilität im Instrument sind dem instrumentenspezifischen Anwendungsblatt zu entnehmen.
- Reaction Buffer: Bei 2–8 °C lagern. Nicht einfrieren. Nach dem Öffnen 8 Wochen lang bei 2–8 °C im verschlossenen Originalfläschchen stabil, sofern keine Kontamination auftritt. Informationen zur Stabilität im Instrument sind dem instrumentenspezifischen Anwendungsblatt zu entnehmen.

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 H21.⁹

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 400–600 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 Blue 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 3. internationalen WHO-Standard (NIBSC-Code 22/202) 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 120 gesunden Blutspendern unter Verwendung von MRX Blue Free Protein S dargestellt. Die Analyse wurde mit dem Instrument Sysmex CS-2100i durchgeführt.

Anzahl der Proben	FPS-Mittelwert	Mittelwert $\pm$ 3 SD
120	102 %	39–165 % 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 Blue 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 Blue Free Protein S ist auf Instrumenten der Serie Sysmex CS unempfindlich gegenüber den folgenden Substanzen:

Störsubstanz	Toleranz
Konjugiertes Bilirubin	Bis zu 18 mg/dl
Unkonjugiertes Bilirubin	Bis zu 18 mg/dl
Hämoglobin	Bis zu 500 mg/dl
Triglyceride	Bis zu 230 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 Konzentration des freien Protein S führen können. Ein vorhandener Rheumafaktor kann ebenfalls zu einer fälschlich erhöhten Konzentration von freiem Protein S führen. Der Reaktionspuffer enthält HBR, das unspezifische Reaktionen reduziert, aber die

Anwender sollten sich bewusst sein, dass bei Proben mit HAMA oder Rheumafaktor immer noch die Möglichkeit überschätzter Werte für freies Protein S besteht. MRX Blue Free Protein S ist unempfindlich gegenüber 1000 IE/ml Rheumafaktor und 1280 x HAMA.

Die monoklonalen Antikörper in MRX Blue 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 Blue Free Protein S gemeldete Signal vollständig gequenchet.

14 Analytische Leistungsmerkmale

Die folgenden Leistungsdaten wurden mit dem Instrument Sysmex CS-2100i ermittelt. Die Leistung hängt von dem verwendeten Instrument ab.

MRX Blue Free Protein S weist einen Messbereich von 7–200 % FPS auf. Unter 300 % FPS gibt es keinen Prozoneeffekt.

Methodenvergleich, mit Regression nach Passing-Bablok durchgeführt:

Vorgängerprodukt (y)	System (x)	Regression	R
Siemens INNOVANCE free PS Ag	MRX Blue Free Protein S	$y = 0,94x + 1,32$	0.95

Genauigkeit:

Probe	FPS-Mittelwert	Reproduzierbarkeit (VK)
Stufe 1	28 %	2,9 %
Stufe 2	86 %	2,5 %

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. 6th ed. CLSI guideline H21. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2024.
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
11.0	Abschnitt 4: Überarbeitete Handhabungsbedingungen aufgrund des Vorhandenseins von Material tierischen Ursprungs, und Informationen zu synthetischen Polymer-Mikropartikeln hinzugefügt. Abschnitt 6: Überarbeitete Informationen zur Onboard-Stabilität. Abschnitt 11: Referenz auf den internationalen WHO-Standard (NIBSC-Code 22/202) aktualisiert. Abschnitt 18: Hinzufügung des Symbols „Enthält biologisches Material tierischen Ursprungs“. Kleinere redaktionelle Überarbeitungen wurden vorgenommen.

Instrucciones de uso [ES]

MRX Blue Free Protein S

REF

K5010

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 400 a 600 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 Blue Free Protein S se compone de anticuerpos monoclonales específicos de la proteína S acoplados a partículas de poliestireno de tamaño submicrónico. MRX Blue 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 Blue 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 y el Reaction Buffer contienen material de origen animal y deben manipularse como potencialmente infecciosos.

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

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 8 semanas a 2-8 °C en el vial original cerrado, siempre que no se produzca contaminación. Para obtener información sobre la estabilidad a bordo, consulte la hoja de aplicación específica del instrumento.
- Reaction Buffer: Conservar a 2-8 °C. No congelar. Una vez abierto, es estable durante 8 semanas a 2-8 °C en el vial original cerrado, siempre que no se produzca contaminación. Para obtener información sobre la estabilidad a bordo, consulte la hoja de aplicación específica del instrumento.

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 del CLSI para obtener más instrucciones sobre la recogida, manipulación y almacenamiento de las muestras.⁹

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 400-600 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 Blue 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 3.er estándar internacional de la OMS (código NIBSC 22/202).

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 120 donantes de sangre sanos utilizando MRX Blue Free Protein S. El análisis se realizó con un instrumento Sysmex CS-2100i.

Número de muestras	Media de FPS	Media $\pm$ 3 DE
120	102 %	39-165 % 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 Blue 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 Blue Free Protein S es insensible a las siguientes sustancias en la serie de instrumentos Sysmex CS:

Sustancia interferente	Tolerancia
Bilirrubina conjugada	Hasta 18 mg/dL
Bilirrubina no conjugada	Hasta 18 mg/dL
Hemoglobina	Hasta 500 mg/dL
Triglicéridos	Hasta 230 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), que pueden causar una sobreestimación de las concentraciones de proteína S libre. La presencia del factor reumatoide también puede dar lugar a concentraciones de proteína S libre falsamente elevadas. El tampón de reacción incluye HBR que reduce las reacciones inespecíficas, pero los usuarios deben ser conscientes de que sigue existiendo la posibilidad de que se sobreestimen los niveles de proteína S libre en muestras con HAMA o

factor reumatoide. MRX Blue Free Protein S es insensible a 1000 UI/mL de factor reumatoide y 1280 x HAMA.

Los anticuerpos monoclonales de MRX Blue 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 Blue 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 Blue Free Protein S tiene un rango de medición de 7 a 200 % FPS. No hay efecto prozona por debajo del 300 % de FPS.

Comparación de métodos realizada mediante Passing-Bablok:

Dispositivo de referencia (y)	Sistema (x)	Regresión	R
Siemens INNOVANCE free PS Ag	MRX Blue Free Protein S	$y = 0,94x + 1,32$	0.95

Precisión:

Muestra	Media de FPS	CV repetibilidad
Nivel 1	28 %	2,9 %
Nivel 2	86 %	2,5 %

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. 6th ed. CLSI guideline H21. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2024.
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
11.0	Sección 4: Condiciones de manipulación revisadas debido a la presencia de material de origen animal, y se añadió información sobre micropartículas de polímeros sintéticos. Sección 6: Información sobre la estabilidad a bordo revisada. Sección 11: Actualizada la referencia al estándar internacional de la OMS (código NIBSC 22/202). Sección 18: Adición del símbolo «Contiene material biológico de origen animal». Se realizaron revisiones editoriales menores.