

LIAPHEN™ Free Protein S

REF 120004

R1 4x3 ml, R2 4x4.4 ml

Immunoturbidimetrická metoda pro Free Protein S:Ag s tekutými reagensii.



www.hyphen-biomed.com

155, rue d'Eragny
95000 NEUVILLE SUR OISE
FRANCE
Tel. : +33 (0)1 34 40 65 10
Fax : +33 (0)1 34 48 72 36
info@hyphen-biomed.com

Revize: 01-2021

POUŽITÍ:

LIAPHEN™ Free Protein S souprava je immunoturbidimetrický test pro determinaci množství antigenu Free Proteinu S (Free PS:Ag) in vitro v lidské citrátové plasmě za použití automatizované metody. Reagencie jsou tekuté a připravené k použití.

OBSAH A INFORMACE:

Technický:

Protein S (PS) je glykoprotein závislý na vitamínu K a je syntetizován převážně v játrech. Jeho koncentrace je obvykle kolem 25 µg/ml. Asi 40% (10 µg/ml) je ve volné formě a 60% (15 µg/ml) je v oběhovém řečišti vázáno jako nekovalentní komplex s C4b-BP. Rovnováha mezi těmito formami hraje důležitou roli, protože jenom volný Protein S funguje jako kofaktor aktivovaného Proteinu C při antikoagulační aktivitě.

Klinický^{1,2,3}:

Vrozené nebo získané deficity PS jsou spojovány se zvýšeným rizikem žilní trombózy.

V prvotních stádiích zánětů se snižuje koncentrace volného Proteinu S z důvodu zvýšení C4b-BP (pozitivní marker zánětu). Dále může poklesnout hladina Proteinu S během terapie dikumariny nebo L-asparaginasy, při jaterních a ledvinových onemocněních, nefrotických syndromech, těhotenství, orální antikoncepci nebo estrogenové terapii, virových infekcích, DIC. Free PS může být snížen i u novorozenců.

Dědičné deficity Proteinu S se řadí do tří typů:

- Typ I: Snížená hladina celkového a Volného PS (kvantitativní defekt)
- Typ II: Snížená aktivita PS za normálních hladin antigenu (vzácná kvalitativní porucha)
- Typ III: Normální celková hladina PS ale snížená hladina Free PS (kvantitativní defekt)

Typ I a III tvoří 95% případů PS deficitů.

PRINCIP TESTU:

LIAPHEN™ Free Protein S je immunoturbidimetrický test užívající reakce antigenu a protilátky: Volný PS antigen ze vzorku reaguje s latexovými částicemi označené dvěma monoklonálními anti-Free PS myšimi protilátkami. Aglutinující latex je možné přímo hodnotit změnou v propustnosti světla. Propustnost světla je přímo úměrná množství Free PS:Ag ve vzorku.

REAGENCIE:

R1 Reakční pufr, tekutý.

4 lahvičky po 3ml.

R2 Latex, tekutý.

4 lahvičky po 4.4ml.

Reagencie R1 a R2 obsahují BSA a malé množství Azidu sodného (0.9g/l).

OBSAH A INFORMACE:

- Některé reagencie v soupravě obsahují materiál zvířecího původu. Při používání těchto reagenčí budte velmi opatrní, dle bezpečnostních předpisů pro manipulaci s biologickým materiálem potenciálně infekčním.
- V kontaktu s olověnými a měděnými trubkami může azid sodný tvořit výbušné sloučeniny.
- Odpad likvidujte dle platných lokálních předpisů.
- Používejte pouze reagencie stejné šarže.
- Studie stability prokazují, že reagencie mohou být přepravovány při pokojové teplotě bez degradace.
- Reagencie jsou určeny pouze pro *in vitro* diagnostické účely v laboratoři.

PŘÍPRAVA REAGENCIE:

R1 R2 Reagencie jsou připraveny k použití; homogenizujte obsah opatrným převrácením, zabraňte tvorbě pěny. Po promíchání vložte do analyzátoru dle aplikačního protokolu.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA:

Neotevřené reagencie skladujte při 2-8°C v originálním balení. Pak jsou stabilní do data expirace uvedeného na obalu.

R1 R2 Stabilita otevřené reagencie, pokud je zabráněno kontaminaci nebo odpařování a pokud jsou reagencie skladovány uzavřené, je:

- 4 měsíce při 2 – 8°C
- 2 týdny při pokojové teplotě (18 – 25°C)
- Nemrazte.
- Stabilita v analyzátoru: viz specifický aplikační protokol pro daný analyzátor.

REAGENCIE A MATERIÁL POTŘEBNÝ, V KITU NEPŘÍTOMNÝ:

Reagencie:

- Destilovaná voda.
- Imidazolový pufr (AR021B/KL/M/N) jako diluent.
- Specifická kalibrační plazma se známou hladinou Free PS:Ag, jako jsou:

Jméno produktu	Referenční číslo
BIOPHEN™ Plasma Calibrator	222 101
BIOPHEN™ Normal Control Plasma	223 201
BIOPHEN™ Abnormal Control Plasma	223 301

Odkazujeme na specifický aplikační protokol pro použitý analyzátor.

Materiál:

- Spektrofotometr nebo automatický analyzátor pro imuno-turbidimetrické testy.
- Kalibrované pipety; zkumavky z plastu nebo silikonového skla.

PŘÍPRAVA A ODBĚR VZORKU:

Krev (9 dílů) musí být odebrána do 0,109 M citrátového antikoagulantia (1 díl; 0,109M, 3,2%), přímou venepunkcí. První odebraná zkumavka by měla být znehodnocena.

Vzorky by měly být připraveny a skladovány dle relevantních řádů.

Pro skladování plazmy se odkažte z reference^{4,5}.

POSTUP:

Souprava je určena pro automatické kinetické metody. Provádějte test při 37°C. Turbidimetrie je měřena na 575nm (mohou být užity i jiné vlnové délky v rozmezí 540 až 800nm).

Provedení metody:

1. Rekonstruuje kalibrátor a kontroly podle doporučených postupů. Připravte kalibrační koncentrace od 0 do 150% Free Ps:Ag (0-10-37.5-75-110-150% Free PS:Ag v Imidazolovém pufru), ředění 3:20 koresponduje s označenou koncentrací „C“ Free PS:Ag pro komerční kalibrátory.
2. Rozpusťte vzorky, kalibrátory a kontroly v Imidazolovém pufru podle tabulky.

Vzorky	Reference	Poměr rozpuštění
Kontroly	223 201 / 223 301	3:20
Vzorky	-	3:20

Sestavte kalibrační křivku a zkontrolujte kontrolami kvality. Ředěný vzorek by měl být měřen co nejdříve, pokud je skladován při pokojové teplotě (18 – 25°C). Přesné koncentrace kalibrátoru a kontrol pro každou sérii testů jsou vyznačené na přiloženém letáku kitu.

3. Následující tabulka ukazuje příklad protokolu pro CS-sérii aplikace. Dávkujte do reakčních květ udržovaných při 37°C (udržováno analyzátořem):

	Objem
Kalibrátory, vzorky nebo kontroly rozpuštěné v Imidazolovém pufru	10 µl
Imidazolový pufr	10 µl
R1 Reakční pufr	60 µl
Inkubujte při 37°C po 130s.	
R2 Latex	100 µl
Promíchejte a měřte opakovaně optickou propustnost (mezi 40 a 80 s) při 575nm, 37°C.	

Pokud jsou potřeba jiné reakční objemy, musí být vždy zachován poměr mezi jednotlivými složkami testu. Uživatel je zodpovědný za validaci každé změny v doporučeném postupu, která by mohla mít vliv na výsledek.

Pro vyšší koncentrace (mezi 150 a 300%) doporučujeme před-ředit vzorky v Imidazol pufru (naměřené koncentraci musí být násobeny před-dilučním faktorem).

Distributor: Diagnostica s.r.o., Za Trati 686, Praha 9, Česká republika, tel.+420 266 315 909, Fax.+420 266 316 000, e-mail: info@diagnostica.cz, www.diagnostica.cz



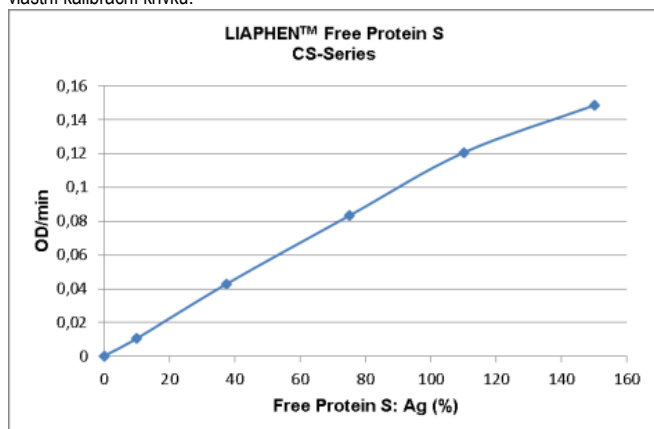
Aplikační protokoly pro automatizované metody jsou dostupné na vyžádání. Viz specifický aplikační protokol pro použití analyzátoru.

KALIBRACE:

LIAPHEN™ Free Protein S může být kalibrován pro test Free PS:Ag v lidské plazmě. Kalibrátory zahrnující kalibrační rozmezí jsou k dispozici od výrobce HYPHEN BioMed (viz REAGENCIE A MATERIÁL POTŘEBNÝ, V KITU NEPŘÍTOMNÝ) a mohou být použity ke stanovení kalibrační křivky.

- Kalibrační rozmezí je přibližně 0 až 150%.

Niže uvedená kalibrační křivka je pouze příklad. Pro výpočet výsledku použijte vlastní kalibrační křivku.



KONTROLA KVALITY:

Použití komerčních kontrolních materiálů umožní validaci kalibrační křivky stejně jako homogenitu v sérii a mezi sériemi při použití stejné šarže reagentie.

Začněte kontrolu kvality do každé série testů, dle doporučení pro správnou laboratorní praxi. Kalibrace by měla být provedena pro každou sérii testů, nejméně při změně šarže reagentie, po významné opravě nebo údržbě analyzátoru, nebo když jsou výsledky kontrol kvality mimo přijatelné meze.

Každá laboratoř si musí definovat vlastní přijatelné rozmezí a verifikovat průběh měření na analytickém systému.

VÝSLEDEK:

- Na analyzátoch Sysmex CS je kalibrační křivka získána s ΔOD 575nm podél osy Y a Free PS:Ag koncentrací, vyjádřených v procentech na ose X.
- Koncentrace Volného PS:Ag (%) v měřeném vzorku je přímo odečtena z kalibrační křivky, pokud bylo použito standardní ředění.
- Pokud bylo použito jiné ředění, získaný výsledek musí být násoben použitým dilučním faktorem.
- Výsledky by měly být interpretovány dle biologického a klinického stavu pacienta.

LIMITY:

- Pro zajištění optimálního výkonu testu a dodržení specifikací dodržujte technické instrukce validované společností HYPHEN BioMed.
- Jakákoliv reagentie neobvyklého vzhledu nebo vykazující známky kontaminace musí být znehodnocena.
- Jakýkoliv podezřelý vzorek nebo vzorek vykazující známky kontaminace musí být znehodnocen.
- Heterofilní protilátky mohou interferovat s testem. Projevují se abnormálně vysokou hladinou PS:Ag.
- Pro možné dopady Hookova efektu na test odkazujeme na specifický aplikační protokol použitého analyzátoru (nebyl pozorován významný dopad na přístroji Sysmex CS-série pro koncentrace Volného PS:Ag do 600%).

OBVYKLÉ HODNOTY:

Referenční rozmezí bylo získáno měřením vzorků zdravých dospělých osob (n=120) na analyzátoru Sysmex CS-5100 (průměr 90%, 95. Percentil) mezi 60 a 137% Free PS:Ag.

Přesto by referenční interval měl být ověřen pro konkrétní podmínky.

Krevní skupina, věk, pohlaví, gravidita - ovlivňují koncentraci Free PS:Ag v plazmě.

VLASTNOSTI:

- Dolní mez detekce je závislá na použitém analyzátoru - na analyzátoru Sysmex CS5100 je <0,6%.
- Rozmezí měření závisí na použitém analyzátoru (kolem 6 až 300% Volného PS:Ag na Sysmex CS-sérii, test je lineární do 150% bez dalšího ředění).
- Specifita: PS deficitní plazma byla měřena <6% na Sysmex CS. Přidání C4b-BP do plazmy snižuje měřenou koncentraci Free PS:Ag tím, že zvýší počet PS navázaného na C4bBP.
- Byly provedeny studie se 1 šarží reagentie za použití přístroje Sysmex CS5100. Provedení bylo posuzováno měřením kontrolních plazem po dobu 5 dní, 2 série denně ve 3 opakováních v každé sérii a pro každou kontrolu. Byly získány následující výsledky:

Kontrola	V sérii				Mezi sériemi			
	n	Průměr%	CV%	SD	n	Průměr%	CV%	SD
normální	40	97,7	2,5	2,4	30	95,3	1,2	1,1
patologická	40	29,0	1,8	0,5	30	29,9	1,9	0,6

- Korelace s referenční metodou (INNOVANCE® Free PS:Ag – Siemens – vs LIAPHEN™ Free Protein S na Sysmex CS-5100):
N = 11 y = 1,141x-7,982 r = 0,990
- **Interference:**
Žádné interference na analyzátoru Sysmex CS-5100 s danými látkami do následujících koncentrací:

Hemoglobin	1000 mg/dl	Heparin (UFH/LMWH)	10/10 IU/ml
Bilirubin (Free)	60 mg/dl	Rivaroxaban	400 ng/ml
Bilirubin (Vázaný)	60 mg/dl	Apixaban	400 ng/ml
Intralipidy	1000 mg/dl	Dabigatran	400 ng/ml
Fibrinogen	12 g/l	Edoxaban	400 ng/ml
Revmatoidní faktory	3000 IU/ml	Destičky	490*10 ⁹ /l

LITERATURA:

1. Castoldi E. *et al.* Similar hypercoagulable state and thrombosis risk in type I and type III protein S-deficient individuals from families with mixed type I/III protein S deficiency. *Haematologica*. 2010.
2. Wypasek E. and Undas Anetta. Protein C and Protein S Deficiency – Practical Diagnostic Issues. *Adv Clin Exp Med*. 2013.
3. Meireles Rezende S. *et al.* Coagulation, inflammation, and apoptosis : different roles for protein S and the protein S – C4b binding protein complex. *Blood*. 2004.
4. CLSI Document H21-A5: "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma -based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline". 2008.
5. Mauge L. and Alhenc-Gelas M. Stabilité pré-analytique des paramètres de la coagulation: revue des données disponibles. *Ann Biol Clin*. 2014.

SYMBOLY:

Použité symboly jsou uvedeny v seznamu ISO 15223-1, viz dokument definice symbolů.