

Free Protein S

Free Protein S



REF	CONTENT	SYSTEM
07887892190	▽ 120	N. d'ident. 07 2004 6 cobas t 511 cobas t 711

Italiano

Informazioni relative al sistema

Nome abbreviato	ACN (application code number – codice di applicazione)
Free Protein S	28380

Finalità d'uso

Test *in vitro* per la determinazione quantitativa della proteina S libera nel plasma umano citratato sugli analizzatori **cobas t** indicati. Il test serve per coadiuvare la diagnosi della carenza di proteina S ereditaria e acquisita.

Sommario

La proteina S è una glicoproteina plasmatica dipendente dalla vitamina K, sintetizzata negli epatociti e nelle cellule endoteliali.¹ La proteina S in circolo esiste in 2 forme: ca. il 40 % in forma libera ed il 60 % in un complesso legato alla proteina legante l'inibitore del complemento C4b (*complement inhibitor C4b-binding protein: C4BP*).² Solo la forma libera con una concentrazione plasmatica di 10 µg/mL è considerata un cofattore per la proteina C attivata (*activated protein C: APC*). Tuttavia, è stato suggerito che il complesso proteina S-C4BP mantiene alcuna attività come cofattore all'APC.³ La proteina S ha una funzione anticoagulante importante.¹

La trombina, insieme alla trombomodulina, attiva la proteina C. L'APC si lega al suo cofattore, proteina S, per inattivare i fattori coagulativi Va e VIIIa.⁴ La proteina S agisce anche come cofattore per l'inibitore del fattore tissutale nell'inattivazione del fattore Xa e del complesso fattore tissutale / fattore VIIa.⁵ Entrambe le cascate rallentano la generazione della trombina, inibendo così un'eccessiva coagulazione del sangue.¹

La carenza di proteina S, associata ad un elevato rischio di tromboembolismo venoso, può essere o acquisita o ereditaria. La carenza di proteina S acquisita può essere causata, ad esempio, da deficienza di vitamina K, terapia anticoagulante orale, epatopatie,⁶ gravidanza,⁷ assunzione di contraccettivi orali o condizioni infiammatorie. Si distinguono 3 tipi di deficienza di proteina S ereditaria:⁸

- Tipo I – ridotta attività della proteina S: diminuzione totale della proteina S (difetto quantitativo).
- Tipo II – ridotta attività della proteina S: i livelli della proteina S libera e i livelli di proteine totali S sono normali (difetto qualitativo).
- Tipo III – ridotta attività della proteina S: diminuzione dei livelli della proteina S libera e normali livelli di proteine totali S (difetto quantitativo).

Principio del test

Le particelle di lattice vengono rivestite di anticorpi monoclonali specifici per 2 epitopi differenti di proteina S libera. L'aggiunta di un campione contenente proteina S libera provoca una reazione antigene-anticorpo, che agglutina le particelle di lattice. Da questo risulta un cambiamento della torbidità, proporzionale alla concentrazione di proteina S libera nel campione. Il cambiamento della torbidità viene misurato a 800 nm.

Reattivi – soluzioni pronte all'uso

cobas t pack

- R1** Soluzione salina tamponata; reagente (murino) bloccante; conservanti (liquidi)
- SR^a** Sospensione tamponata di particelle di lattice rivestite di anticorpi (murini) monoclonali anti-proteina S libera; conservanti (liquidi)

a) *Start reagent: reagente starter*

R1 si trova nella posizione B e SR nella posizione C.

Precauzioni e avvertenze

Per uso diagnostico *in vitro* per i professionisti del settore sanitario. Osservare le precauzioni normalmente adottate durante la manipolazione dei reagenti di laboratorio.

Rifiuti infettivi e microbici:

Avvertenza: trattare i rifiuti come materiale a potenziale rischio biologico. Smaltire i rifiuti a seconda delle istruzioni e procedure di laboratorio riconosciute.

Rischi ambientali:

Per garantire lo smaltimento sicuro, applicare tutte le normative locali rilevanti in materia di rifiuti.

Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta per gli utilizzatori professionali.

Questa confezione contiene componenti classificati, secondo il Regolamento (CE) N. 1272/2008, come segue:

EUH 210 Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta.

EUH 208 Contiene una miscela di 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-one e 2-metil-2H-isotiazol-3-one (3:1). Può provocare una reazione allergica.

L'etichettatura relativa alla sicurezza del prodotto è conforme al regolamento GHS UE.

Tutto il materiale di origine umana deve essere considerato come potenzialmente infettivo. Per la preparazione di tutti i prodotti derivati da sangue umano viene utilizzato solo sangue di donatori che sono stati testati individualmente e sono risultati negativi per la ricerca di HBsAg e di anticorpi anti-HCV e anti-HIV. I metodi di analisi prevedono l'utilizzo di test approvati dalla FDA o conformi alle disposizioni di legge sulla commercializzazione di dispositivi medico-diagnostici *in vitro* per uso umano nell'Unione Europea.

Poiché non è comunque possibile escludere con sicurezza il pericolo di infezione con nessun metodo di dosaggio, è necessario manipolare il materiale con le stesse precauzioni adottate per i campioni prelevati dai pazienti. Nel caso di una esposizione, si deve procedere secondo le specifiche indicazioni sanitarie.^{9,10}

I reattivi contengono sodio azoturo (<1 g/L) come conservante. Eliminare con cautela i reagenti contenenti sodio azoturo per evitare la formazione di azidi di metallo esplosive. Se i rifiuti vengono eliminati nello scarico del lavandino, usare grandi quantità di acqua per sciacquare bene le tubazioni.

Evitare la formazione di schiuma in tutti i reattivi e tipi di campione (campioni, calibratori e controlli).

Utilizzo dei reattivi

I reattivi contenuti nella cassetta sono stati assemblati in un'unità pronta all'uso (**cobas t pack**).

Tutte le informazioni necessarie per l'utilizzo corretto sono disponibili tramite **cobas link**.

Conservazione e stabilità

Conservare a 2-8 °C.

Conservare il **cobas t pack** in **posizione verticale**.

Stabilità del **cobas t pack** integro: fino alla data di scadenza indicata.

Stabilità del cobas t pack aperto:	
sull'analizzatore cobas t	28 giorni dopo la foratura

Non congelare.

Prelievo e preparazione dei campioni

Solo i tipi di campioni elencati di seguito sono stati testati e risultano accettabili.

Plasma umano citratato al 3.2%.

Impiegare provette standard per prelievi di campioni in materiale plastico o in vetro siliconato. Il rapporto tra sangue (9 parti) e soluzione di citrato di sodio (0.11 M; 1 parte) deve essere esattamente rispettato.^{11,12}

I tipi di campione elencati sono stati testati impiegando una selezione di provette per il prelievo di campioni disponibili in commercio al momento dell'analisi; non sono, quindi, state testate tutte le provette disponibili di tutte le case produttrici. Alcuni sistemi per il prelievo di campioni di vari produttori possono contenere diversi materiali e in alcuni casi possono interferire sui risultati del test. Quando si trattano i campioni in provette primarie (sistemi per il prelievo di campioni), seguire le istruzioni del produttore delle provette.

Free Protein S

Free Protein S



Centrifugare 15 minuti a 2500 g oppure finché il conteggio delle piastrine è < 10000 piastrine/ μ L, quindi testare i campioni entro il periodo di stabilità indicato.

Stabilità:	
a 15-25 °C	24 ore
a -20 °C (\pm 5 °C)	12 settimane

Le aliquote del plasma congelato devono essere scongelate entro 5 minuti a 37 °C a bagnomaria ed omogeneizzate agitandole con cautela ed evitando la formazione di schiuma. Analizzare i campioni scongelati entro 2 ore. Non ricongelare i campioni.

Materiali a disposizione

Vedere la sezione "Reattivi – soluzioni pronte all'uso".

Materiali necessari (ma non forniti)

- [REF] 07539355190, Con N, 20 x 1 mL
- [REF] 07539665190, Con P, 20 x 1 mL
- [REF] 07575548190, Cal Plasma, 10 x 1 mL
- [REF] 07155042190, Owren B, 50 mL
- Normale attrezzatura da laboratorio
- Acqua distillata o deionizzata
- Analizzatore di coagulazione **cobas t**. Per ulteriori materiali necessari consultare l'Assistenza Clienti del relativo analizzatore.

Esecuzione

Per una performance ottimale dei test, attenersi alle indicazioni riportate in questo documento. Per le istruzioni specifiche dell'analizzatore relative all'esecuzione del test, consultare l'Assistenza Clienti dello strumento.

Roche non risponde delle performance delle applicazioni che non sono state validate dalla stessa Roche – tali performance devono quindi essere definite dall'utilizzatore.

Calibrazione

Per la calibrazione, impiegare il calibratore indicato nella sezione "Materiali necessari (ma non forniti)".

Frequenza di calibrazione: è richiesta una calibrazione completa

- 1 volta per ogni lotto di reagente.
- se richiesto dai procedimenti del controllo di qualità.

Tracciabilità: questo metodo è stato standardizzato contro lo standard internazionale dell'OMS/NIBSC.

Controllo di qualità

Per la verifica dell'accuratezza e della riproducibilità dei risultati è necessario l'impiego di controlli.

Per il controllo di qualità, impiegare le confezioni di controlli indicate nella sezione "Materiali necessari (ma non forniti)".

Gli intervalli ed i limiti del controllo dovranno essere conformi alle esigenze individuali di ogni laboratorio. I valori ottenuti devono rientrare nei limiti definiti. Ogni laboratorio deve definire delle misure correttive da attuare nel caso che alcuni valori siano al di fuori dei limiti definiti.

Per il controllo di qualità, attenersi alle normative vigenti e alle linee guida locali.

Limiti del metodo – interferenze

È stato testato l'effetto delle seguenti sostanze endogene e dei seguenti composti farmaceutici sulla performance del test. Non è stata osservata alcuna influenza sui risultati fino alle concentrazioni elencate:

Sostanze endogene

Composto	Concentrazione
Bilirubina coniugata	66 mg/dL
Bilirubina non coniugata	66 mg/dL
Emoglobina	1300 mg/dL
Intralipid	2000 mg/dL

Criterio di valutazione: recupero entro \pm 10.0% del valore iniziale.

Le interferenze da lipemia, emoglobina e bilirubina sono state testate secondo Glick.¹³

Non è stata osservata alcuna interferenza significativa fino ad una concentrazione di colesterolo di 625 mg/dL.

Non è stata osservata alcuna interferenza significativa fino ad una concentrazione di fibrinogeno di 11 g/L.

Non è stata osservata alcuna interferenza significativa da fattore reumatoide (RF) fino ad una concentrazione di 400 IU/mL. Tuttavia, non è possibile garantire la completa assenza di interferenze da RF in tutti i singoli campioni umani per il test.

In rari casi possono riscontrarsi interferenze causate da titoli estremamente alti di anticorpi umani anti-topo (HAMA). Tali effetti sono ridotti al minimo attraverso un'adeguata progettazione del test.

Eparina a basso peso molecolare (LMWH): in un pool di plasmi normali corretti con LMWH non è stata osservata alcuna interferenza significativa fino ad una concentrazione di 11 IU/mL.

Eparina non frazionata (UFH): in un pool di plasmi normali corretti con UFH non è stata osservata alcuna interferenza significativa fino ad una concentrazione di 8 IU/mL.

Farmaci: non si è osservata alcuna interferenza a concentrazioni terapeutiche impiegando le più comuni famiglie di farmaci.^{14,15}

Nessun effetto hook è stato riscontrato fino ad una concentrazione di proteina S libera del 600%.

Ai fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati congiuntamente con la storia clinica del paziente, con gli esami clinici e con altre evidenze cliniche.

Cicli di lavaggio extra: l'uso dei lavaggi extra è obbligatorio quando certe combinazioni di test vengono eseguite insieme sugli analizzatori **cobas t**. Per ulteriori istruzioni, consultare la versione più recente dell'elenco dei possibili carry-over allegato alle metodiche CLEAN e Deproteinizer e rivolgersi all'Assistenza Utente. Se richiesto, i cicli di lavaggio extra/evasione del carryover devono essere implementati prima di generare i report dei risultati con questo test.

Specificità

La specificità del reagente Free Protein S per la forma libera della proteina S è stata verificata aggiungendo ad un campione l'inibitore del complemento C4BP. Il risultante aumento della proteina S legata alla C4BP e decremento della proteina S libera comportano una diminuzione del risultato del test Free Protein S.

Limiti ed intervalli

Intervallo di misura

10.0-150%

Limiti inferiori di misura

Limite del bianco = 3.00%

Limite di sensibilità = 5.00%

Limite di quantificazione = 10.0%

Il limite del bianco, il limite di sensibilità ed il limite di quantificazione sono stati determinati in conformità ai requisiti EP17-A2 del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*).¹⁶

Il limite del bianco corrisponde al valore del 95° percentile ottenuto in $n = 60$ misurazioni di campioni privi di analiti in varie serie indipendenti l'una dall'altra. Il limite del bianco corrisponde alla concentrazione al di sotto della quale si riscontrano campioni privi di analiti con una probabilità del 95%.

Il limite di sensibilità viene determinato in base al limite del bianco e alla deviazione standard dei campioni con concentrazioni basse. Il limite di sensibilità corrisponde alla concentrazione minima dell'analita che può essere rilevata (valore superiore al limite del bianco con una probabilità del 95%).

Il limite di quantificazione è definito come la concentrazione minima dell'analita che può essere misurata in modo riproducibile con un CV della precisione intermedia \leq 20%.

Valori di riferimento

Donne in premenopausa che non assumono contraccettivi, o che sono sottoposte alla terapia di sostituzione ormonale e non in gravidanza ($n = 150$): 65.3-130 %

Donne ($n = 148$): 68.0-132 %

Uomini ($n = 141$): 74.6-144 %

Free Protein S

Free Protein S



Questi valori corrispondono ai 2.5° e 97.5° percentili dei risultati ottenuti per ciascuna coorte di campioni. Il numero di campioni di plasma umano per coorte è indicato tra parentesi.

Ogni laboratorio deve controllare l'applicabilità dei valori di riferimento alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare intervalli di riferimento propri.

Dati specifici sulla performance del test

Qui di seguito sono riportati i dati rappresentativi delle prestazioni sugli analizzatori. I risultati dei singoli laboratori possono differire da questi.

Precisione

La ripetibilità e la precisione intermedia sono state determinate usando campioni umani e controlli, eseguiti in conformità ai requisiti EP05 del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) (2 aliquote per serie, 2 serie al giorno, 21 giorni). Sono stati ottenuti i seguenti risultati:

Campione	Media (%)	Ripetibilità		Precisione intermedia	
		DS (%)	CV (%)	DS (%)	CV (%)
Con N	87.0	0.366	0.4	0.581	0.7
Con P	26.8	0.290	1.1	0.366	1.4
Plasma 1	13.9	0.115	0.8	0.130	0.9
Plasma 2	19.9	0.180	0.9	0.209	1.1
Plasma 3	44.3	0.212	0.5	0.283	0.6
Plasma 4	70.7	0.402	0.6	0.508	0.7
Plasma 5	138	0.802	0.6	1.08	0.8

Confronto tra metodi

Il confronto del test Free Protein S sull'analizzatore **cobas t 711** (y) con un test di coagulazione automatico (x) ha prodotto le seguenti correlazioni (%): Numero dei campioni misurati: 109

Deming¹⁷

$$y = 0.935x - 0.720 \%$$

$$r = 0.997$$

Le concentrazioni di proteina S libera ottenute con il reagente Free Protein S erano comprese tra l'11.8 ed il 134 %.

Letteratura

- Castoldi E, Hackeng TM. Regulation of coagulation by protein S. *Curr. Opin. Hematol.* 2008; 15 (5): 529-536.
- Dahlbäck B. C4b-binding protein: a forgotten factor in thrombosis and hemostasis. *Semin Thromb Hemost.* 2011 Jun;37(4):355-61.
- Maurissen LF, Thomassen MC, Nicolaes GA, et al. Re-evaluation of the role of the protein S-C4b binding protein complex in activated protein C-catalyzed factor Va-inactivation. *Blood.* 2008; 111(6):3034-3041.
- Esmon CT. The protein C pathway. *Chest.* 2003 Sep;124, 3 Suppl: 26S-32S.
- Hackeng TM, Maurissen LF, Castoldi E. et al. Regulation of TFPI function by protein. *Thromb Haemost.* 2009 Jul;7 Suppl 1:165-8.
- Lisman T, Caldwell SH, Burroughs AK, et al. Hemostasis and thrombosis in patients with liver disease: the ups and downs. *J Hepatol.* 2010; 53(2): 362-371.
- Szecsí PB, Jørgensen M, Klajnbard A, et al. Haemostatic reference intervals in pregnancy. *Thrombosis Haemostasis* 2010; 103: 718-727.
- Marlar RA, Gausman JN. Protein S abnormalities: a diagnostic nightmare. *Am J Hematol.* 2011; 86(5):418-421.
- Occupational Safety and Health Standards: Bloodborne pathogens. (29 CFR Part 1910.1030). *Fed. Register.*
- Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.

- CLSI Document H21-A5, Vol.28, No.5, 2008. Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline, 5th edition.
- CLSI Document H3-A6. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture; approved standard - Sixth Edition, vol. 27, No. 26, 2007.
- Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. *Clin Chem* 1986;32:470-475.
- Breuer J. Report on the Symposium "Drug effects in Clinical Chemistry Methods". *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1996;34:385-386.
- Sonntag O, Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. *Ann Clin Biochem* 2001;38:376-385.
- CLSI Document EP17-A2. Evaluation of Detection Capability for Clinical. Laboratory Measurement Procedures. Vol. 32, No. 8, 2012. Approved standard, 2nd Edition.
- Martin RF. General Deming Regression for Estimating Systematic Bias and its Confidence Interval in Method Comparison Studies. *Clinical Chemistry* 2000;46(1):100-104.

In questa metodica, per separare la parte intera da quella frazionaria in un numero decimale si usa sempre il punto. Il separatore delle migliaia non è utilizzato.

Per ulteriori informazioni, consultare l'Assistenza Clienti appropriata per il relativo analizzatore e le metodiche di tutti i componenti necessari.

Esiste la necessità di segnalare qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo sia al fabbricante che all'autorità competente dello Stato membro in cui l'utilizzatore e/o il paziente è stabilito.

Simboli

Oltre a quelli indicati nello standard ISO 15223-1, Roche Diagnostics impiega i seguenti simboli (per gli USA: per la definizione dei simboli impiegati, vedere dialog. Roche.com):

	Contenuto della confezione
	Analizzatori/strumenti su cui i reagenti possono essere usati
	Reagente
	Calibratore
	Volume per la ricostituzione
	Global Trade Item Number

Le aggiunte, cancellazioni o modifiche sono indicate mediante una linea verticale posizionata al margine.
© 2023, Roche Diagnostics

0123



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim

www.roche.com

+800 5505 6606

