

**Aplicación**

Inmunoensayo automatizado en los Sistemas de Coagulación de IL, para la determinación cuantitativa de Proteína S (PS) libre en plasma humano citratado por turbidimetría de partículas de látex.

**Principio**

La Proteína S es un cofactor dependiente de la vitamina K que interviene en los procesos anticoagulantes y profibrinolíticos de la Proteína C activada.<sup>1</sup> La Proteína S está presente en el plasma en dos formas: Proteína S libre (40%) y Proteína S ligada a la proteína transportadora de la fracción C4b del complemento (C4BP) (60%). Sólo la Proteína S libre tiene actividad funcional como cofactor.<sup>2</sup>

La deficiencia en Proteína S puede ser hereditaria<sup>3</sup> o adquirida. La deficiencia adquirida se puede observar durante el embarazo, terapia anticoagulante oral, uso de anticoagulantes orales, en enfermedades hepáticas, en neonatos, así como en otras situaciones clínicas.<sup>4,5,6</sup> La deficiencia en Proteína S se ha asociado a un alto riesgo de desarrollar tromboembolismo venoso, especialmente en gente joven.<sup>7,8</sup>

La presencia de Proteína S libre se determina midiendo el incremento de turbidez debido a la aglutinación de dos reactivos de látex. La C4BP adsorbida sobre el primer reactivo de látex reacciona con una alta afinidad con la Proteína S libre del plasma del paciente, en presencia de iones  $Ca^{2+}$  y  $Mg^{2+}$ . La Proteína S libre unida a la C4BP del látex provoca la aglutinación del segundo reactivo de látex, el cual está recubierto con un anticuerpo monoclonal dirigido contra la Proteína S humana. El grado de aglutinación será directamente proporcional a la concentración de Proteína S libre en el plasma problema.

**Composición**

El kit HemosIL Free Protein S contiene:

**B** C4BP Buffer (Núm. Cat. 0020002720): 3 viales de 4 mL de tampón Borax que contiene albúmina de suero bovino, estabilizantes y conservantes.

**R1** C4BP Latex (Núm. Cat. 0020002710): 3 viales de 4 mL de una suspensión liofilizada de partículas de látex de poliestireno a las que se les ha unido C4BP humana purificada. Contiene albúmina de suero bovino, estabilizantes y conservantes.

**R2** Anti PS Mab Latex (Núm. Cat. 0020002730): 3 viales de 2 mL de una suspensión de partículas de látex de poliestireno a las que se les ha unido un anticuerpo monoclonal específico contra la Proteína S humana. Contiene albúmina de suero bovino, estabilizantes y conservantes.

**MEDIDAS DE PRECAUCIÓN Y ADVERTENCIAS:**

El material usado en este producto ha sido verificado por métodos aprobados por la FDA y encontrado no reactivo al Antígeno de Superficie de la Hepatitis B (HBsAg), a los anticuerpos anti-HCV y anti-HIV 1/2. Manejar con precaución como si fuese potencialmente infeccioso.<sup>12</sup>

Clase de peligro: ninguna  
Indicaciones de peligro: ninguna  
Consejos de prudencia: ninguno  
Este producto es para diagnóstico in vitro.

**Preparación**

C4BP Buffer: El reactivo está listo para su uso.

C4BP Latex: Disolver el contenido de cada vial de látex C4BP vertiendo sobre el mismo todo el contenido del vial de tampón C4BP. Tapar el vial y homogeneizar suavemente un mínimo de 20 segundos. Asegurarse de la completa disolución del producto. Debe aparecer como una suspensión homogénea y ligeramente lechosa. Mantener el reactivo entre 15-25°C durante 30 minutos. Mezclar por inversión del vial antes de su uso. No agitar.

Anti PS Mab Latex: Mezclar por inversión del vial. No agitar.

Nota: Evitar la formación de espuma al homogeneizar los reactivos reconstituidos. Las burbujas en la superficie del líquido pueden interferir con los sensores de nivel de líquido de los instrumentos.

**Conservación y estabilidad de los reactivos**

Los viales que no hayan sido abiertos y se hayan conservado a 2-8°C son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

C4BP Latex - Estabilidad una vez reconstituido: 1 mes a 2-8°C en el vial original, 1 semana a 15°C en los Sistemas ACL ELITE®/ELITE PRO/9/10000, ACL Futura/ACL Advance y en la Familia ACL TOP®. No congelar.

Anti PS Mab Latex - El reactivo, una vez abierto, es estable 1 mes a 2-8°C en el vial original, 1 semana a 15-25°C en los Sistemas ACL ELITE®/ELITE PRO/9/10000 y 1 semana a 15°C en los Sistemas ACL Futura/ACL Advance y en la Familia ACL TOP. No congelar.

Para una óptima estabilidad sacar los reactivos de los instrumentos y conservarlos a 2-8°C en sus viales originales bien tapados.

La baja humedad relativa se asocia a un aumento de la evaporación de los reactivos contenidos en viales no tapados, lo que puede reducir su estabilidad cuando se conservan en analizadores. Para obtener una estabilidad óptima en el analizador, la temperatura y la humedad del laboratorio deben estar controladas.

**Método de ensayo**

Las instrucciones completas del ensayo se encuentran en el correspondiente Manual del Usuario del Instrumento y/o en el Manual de Aplicaciones.

**Recolección y preparación de las muestras**

Hacer que nuevo parto de sangre recién extraída por punción venosa sobre una parte de anticoagulante citrato trisódico. Para la recolección, manejo y conservación del plasma seguir las recomendaciones del Documento H21-A5 del CLSI.<sup>13</sup>

Los plasmas congelados deben descongelarse rápidamente a 37°C y agitarse bien antes de su análisis. Se debe realizar el ensayo de los mismos antes de transcurridas 2 horas de su descongelación.

**Reactivos y controles adicionales**

Los siguientes materiales no se suministran con el kit y deberán pedirse por separado.

	América y Área del Pacífico	Europa
	Núm. Cat.	Núm. Cat.
Plasma de calibración	0020003700	0020003700
Control Normal	0020003120/0020003110	0020003110
Control de Técnicas Especiales Nivel 1	0020011000	0020011000
Control de Técnicas Especiales Nivel 2	0020012000	0020012000
Control Anormal Bajo	0020003220/0020003210	0020003210
Diluyente de factores	0009757600	0009757600

**Control de calidad**

Para realizar un programa completo de control de calidad, se recomienda el uso de dos niveles de control, controles normal y patológico.<sup>14</sup> El Control Normal, el Control Anormal Bajo y los Controles de Técnicas Especiales Nivel 1 y 2 cumplen con los requisitos del programa. Cada laboratorio debe establecer su propia media y desviación estándar, y debe realizar un programa de control de calidad para monitorizar sus resultados. Los controles deben ser analizados como mínimo una vez por cada turno de 8 horas, de acuerdo con la normativa de Buenas Prácticas del Laboratorio. El Manual del Usuario contiene información adicional. Consultar la publicación de Westgard et al para la identificación y resolución de situaciones anormales del control de calidad.<sup>15</sup>

**Resultados**

Los resultados de Proteína S libre se informan en % de normalidad. Consultar el Manual del Usuario para información adicional. Para establecer un correcto diagnóstico, los resultados del análisis deben ser usados conjuntamente con el resto de información, incluyendo el contexto clínico.

**Limitaciones/interferencias**

Concentraciones de Heparina (heparina estándar y de bajo peso molecular) hasta 1,5 U/ml, de bilirrubina hasta 18 mg/dl, de hemoglobina hasta 200 mg/dl, de lípidos hasta 1280 mg/dl, de plaquetas hasta  $10^{11}/L$  y de factor reumatoide hasta 950 U/ml no afectan a los resultados de Proteína S libre en los sistemas ACL y ACL Futura/ACL Advance.

Concentraciones de Heparina (heparina estándar y de bajo peso molecular) hasta 1,5 U/ml, de bilirrubina hasta 25 mg/dl, de hemoglobina hasta 200 mg/dl, de triglicéridos hasta 1500 mg/dl, de plaquetas hasta  $10^{11}/L$  y de factor reumatoide hasta 900 U/ml no afectan a los resultados de Proteína S libre en la Familia ACL TOP.

El kit Proteína S Libre no se ve afectado por la mutación del Factor V Leiden (APC-R).

**Valores esperados**

Se ha realizado un estudio del rango de normalidad utilizando el kit Proteína S Libre en los Sistemas de Coagulación de IL.

Sexo	N	ACL ELITE/ELITE PRO/9/10000	ACL Futura/ACL Advance	N	Familia ACL TOP
Hombre (% PS libre)	130	72,2 - 123,3	64,4 - 128,8	128	74,1 - 146,1
Mujer (% PS libre)	102	57,6 - 112,5	53,2 - 100,1	128	54,7 - 123,7

\*Nota: La edad y estado hormonal pueden afectar al rango de normalidad en mujeres.<sup>16</sup>

Los rangos han sido calculados tal como recomienda la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC).<sup>17</sup> Estos resultados se han obtenido utilizando un lote específico de reactivo. Debido a las muchas variables que pueden afectar a los resultados, cada laboratorio debe establecer su propio rango de normalidad de Proteína S libre.

**Características técnicas****Precisión:**

El estudio de precisión intraserie y total (serie a serie y día a día) fue realizado en diferentes series.

ACL ELITE/ELITE PRO/9/10000	Media (% PS libre)	CV% (Intraserie)	CV% (Total)
Control Normal	97,1	1,8	3,0
Control de Técnicas Especiales Nivel 1	56,6	2,9	4,9
Control de Técnicas Especiales Nivel 2	21,8	3,2	5,9

ACL Futura/ACL Advance	Media (% PS libre)	CV% (Intraserie)	CV% (Total)
Control Normal	97,7	1,9	2,4
Control de Técnicas Especiales Nivel 1	57,0	2,7	3,1
Control de Técnicas Especiales Nivel 2	22,4	2,9	3,4

Familia ACL TOP	Media (% PS libre)	CV% (Intraserie)	CV% (Total)
Control Normal	112,0	2,5	3,4
Control de Técnicas Especiales Nivel 1	64,9	1,9	3,2
Control de Técnicas Especiales Nivel 2	29,1	2,9	4,2

**Correlación:**

Sistema	Pendiente	Intersección	r	Método de referencia
ACL ELITE/ELITE PRO/9/10000	0,933	5,09	0,972	Proteína S Libre EIA
ACL Futura	0,918	2,32	0,981	Proteína S Libre EIA
ACL Advance	1,000	-7,0	0,986	Proteína S Libre en ACL Advance

La precisión y los datos de correlación se han obtenido usando lotes específicos de reactivos y de controles.

**Límite de detección:**

Sistema	Límite de detección
ACL ELITE/ELITE PRO/9/10000	3,2 (% Proteína S libre)
ACL Futura/ACL Advance	6,4 (% Proteína S libre)
Familia ACL TOP	7,3 (% Proteína S libre)

**Linealidad:**

Sistema	Rango de linealidad
ACL ELITE/ELITE PRO/9/10000	10 - 135 (% Proteína S libre)
ACL Futura/ACL Advance	12 - 135 (% Proteína S libre)
Familia ACL TOP	11 - 150 (% Proteína S libre)

Si se excede el rango de linealidad, las muestras deben diluirse manualmente 1:2 con el Diluyente de factores (200 µL de muestra + 200 µL de Diluyente de factores) y reanalizarse. Los resultados obtenidos deben multiplicarse por el factor de dilución 2. Los instrumentos con posibilidad de activar la función Auto Run, realizan automáticamente la dilución 1:2 y la corrección del resultado.