

Metodbeskrivning

P-VWF:FVIII Bindande aktivitet, MalmöGäller för
Klinisk kemi

MA

P-VWF:FVIII Bindande aktivitet, Malmö (NPU-kod: 27851)**ASSERACHROM VWF:FVIII****Bakgrund, indikation och tolkning**

Von Willebrand sjukdom (VWD) är en av de vanligaste orsakerna till ärftlig blödningsjukdom. Orsaken är en kvantitativ eller kvalitativ brist på Von Willebrand faktorn (VWF), ett stort glykoprotein med två viktiga huvuduppgifter i hemostasen: 1) fungera som ett adhesionsprotein mellan trombocyter och subendotelet som exponeras vid en kärlskada; 2) bärarprotein för koagulationsfaktor VIII (FVIII), som innebär att VWF både stabiliserar FVIII koncentrationen i plasma och lokaliserar FVIII till platsen för en kärlskada. VWD finns i många olika varianter. Detta test är specifikt för VWD typ 2N som karakteriseras av oproportionellt låg koncentration av FVIII jämfört med VWF. Mekanismen bakom VWD typ 2N är mutationer i VWF genen som kodar för de delar av VWF som är viktiga för dess FVIII-bindande kapacitet. Sjukdomen är recessivt nedärvd, vilket bl.a. betyder att föräldrar till en patient med VWD typ 2N har anlaget i heterozygot form och inte visar tecken på VWD. Denna metod används för att bestämma patientens fenotyp och kan differentiera från mild hemofili A (1).

För att säkerställa genotypen kan ett positivt test konfirmeras med DNA-sekvensering av de delar av VWF-genen där mutationer kan orsaka VWD typ 2N.

Analysprincip

Plastytan i brunnarna på mikrotiterplatta är klädd med $F(ab')_2$ från kanin mot human VWF (2). I första steget binder VWF antigenet som finns i provplasman till de coatade brunnarna samtidigt som provplasmans FVIII eliminerar. I nästa steg tillsätts en standardiserad mängd rekombinant FVIII som binder till provets VWF. Efter tvätt tillsätts monoklonala musantikroppar riktade mot FVIII. Dessa är kopplade till peroxidas och binder till fria antigeneterminanter på det rekombinanta FVIII. Genom att tillsätta substrat (TMB) som binder till peroxidas bildas en färgutveckling. Färgningen avbryts genom tillsatts av svavelsyra och färgintensiteten mäts spektrofotometriskt. Färgintensiteten är direkt proportionell mot provets ursprungliga VWF med förmåga att binda till FVIII (VWF:FVIII).

Referensintervall

Ej applicerbart. Metoden är kvalitativ där en normal fenotyp innebär att resultatet liknar det resultat som erhålls med en normal plasma. Enligt tillverkaren testades 60 normalpersoner där medelvärdet blev 104 % (CV 10,4 %).

Metodbeskrivning

P-VWF:FVIII Bindande aktivitet, MalmöGäller för
Klinisk kemi

MA

Metodkaraktistika**Interferenser och felkällor**

Substratet, TMB, kan ge upphov till felaktiga värden om det utsätts för solljus. Kontrollera att lösningen inte är blåaktigt eller grumlig före användandet.

En VWF:Ag-nivå som är högre än eller är lika med 15% (0,15 kIE/L) krävs för att uppnå en god tolkning av VWF:FVIII B-resultaten. (Vid lägre VWF:Ag än 0,15 kIE/L nivå kan VWF:FVIII bindande aktivitet analyseras med alternativ metod enl Caron).

Spädningar av de testade plasmorna med Asserachrom VWF:FVIII B bestäms av den VWF:Ag-nivå som tidigare erhållits. En överskattning eller en underskattning av VWF-nivån leder följaktligen till en felaktig VWF:FVIII B-aktivitet.

Närvaro av antikroppar riktade mot VWF kan leda till en underskattning av VWF:FVIII B-nivåer. Hos vissa patienter förekommer antikroppar riktade mot kanin, vilket kan leda till felaktiga resultat. Tillverkaren uppger att interferens mot reumatoid faktor (RF) har eliminerats genom användandet av F(ab')₂-fragment.

Mätområde

Mätområdet sträcker sig från 1 till 180 % VWF:FVIII B. Dock gäller att mätområdets gräns motsvaras av aktuellt värde för kalibratoren (Reagens 6) som anges i bipacksedeln, vilket kan variera från lot till lot.

Detektionsgräns – mätområde

Med det rekommenderade protokollet är detektionsnivån 1 % VWF:FVIII B.

Mätosäkerhet

Ej bestämt lokalt. Enligt bipacksedeln har följande intra- och interseriell imprecision angivits:

Prov	Intraseriell imprecision		Intraseriell imprecision	
	Prov 1	Prov 2	Prov 3	Prov 4
Antal (n)	21	21	10	10
Medelvärde (%)	116	23	108	23
SD (%)	3,0	0,7	5,0	1,1
CV (%)	2,6	3,2	4,7	4,8

Spårbarhet

Någon internationell standard för VWF:FVIII B aktivitet finns ej. En poolad normalplasma antas ha en aktivitet på 100 %.

Metodbeskrivning

P-VWF:FVIII Bindande aktivitet, Malmö

Gäller för
Klinisk kemi

MA

Ackreditering

Metoden är ej ackrediterad.

Referenser

1. Veyradier, C. Caron, C. Ternisien, M. Wolf, M. Trossaert, E. Fressinaud, J. Goudemands. Validation of the first commercial ELISA for type 2N von Willebrand's disease diagnosis. Haemophilia (2011), 17, 944-951.
2. Bipacksedel till Stago Diagnostica, Asserachrom VWF:FVIII B, Ref 00919