

P-von Willebrand faktor antikropp (bestämd med Bethesda-metod) (NPU27425)

Behring Coagulation System**Införd i rutin 07-03-07**

Bakgrund, indikation och tolkning

von Willebrand faktor (VWF) är ett glykoprotein som syntetiseras av endotelceller och megakaryocyter. VWF cirkulerar i blodet som en serie disulfidbundna multimerer (två eller flera 200 kDa subenheter) med molekylvikt från 4×10^5 - 10×10^6 . VWF har viktiga funktioner i den primära hemostasen men fungerar också som ett bärarprotein för koagulationsfaktor VIII. VWF kan binda till både kollagen och trombocytreceptorn GPIIb. Genom att binda till GPIIb fungerar VWF som en brygga mellan trombocyten och subendotelial vävnad (adhesion). VWF interagerar också med trombocytreceptorn GPIIb/IIIa (membranprotein av typ integrin) vilket är viktigt för trombocyternas förmåga att aggregera. Multimererna av VWF kan delas in i låga, intermediära och högmolekylära. Det är endast de högmolekylära multimererna som har adhesionsaktivitet, dvs. ger trombocyterna förmåga att binda till subendotelial vävnad och därmed bilda en trombocytplugg. Ristocetin kofaktoraktivitet (VWF:RCoF) är ett in-vitro test som ger ett funktionellt uttryck för VWF:s förmåga till adhesion och aggregation. Testet används som ett led i diagnostiken av von Willebrands sjukdom (VWD).

Förvärvad VWD kan orsakas av antikroppar mot VWF och leder till sänkt aktivitet av VWF. Antikroppar kan utvecklas hos patienter som har autoimmuna sjukdomar, multipelt myelom, lymfoproliferativa sjukdomar m.fl. tillstånd men kan även ses utan någon uppenbar föregående sjukdom. Det finns också en risk att patienter med svår VWD som behandlas med VWF-innehållande koncentrat kan utveckla s.k. alloantikroppar. Antikroppar mot VWF kan detekteras på olika sätt men denna metod baseras på antikropparnas förmåga att inhibera VWF:RCoF. Eftersom det är en s.k. Bethesda metod, lämpar den sig bäst för att detektera antikroppar hos patienter som har ingen eller mycket låg egen VWF:RCoF (<10 %).

Analysprincip

von Willebrand faktorn i provet agglutinerar trombocyterna i reagenset vid närvaro av ristocetin. Agglutinationen minskar grumligheten i suspensionen. Ju mer von Willebrand faktor aktivitet det finns i provet, desto fortare minskar grumligheten. Ett monokromatiskt ljus med våglängden 570 nm skickas genom suspensionen. Instrumentet mäter absorbansförändringen över tiden. Tiden för när en förutbestämd absorbansminskning inträffat avläses och är proportionell mot von Willebrand ristocetinkofaktor aktiviteten i provet. Den inhiberande effekten av antikroppar mot VWF mäts enligt ett Bethesda-liknande protokoll där provet består av en blandning av patientplasma och normalplasma med känd aktivitet. I provet bestäms restak-

Metodbeskrivning

P-vWF ak Bethesda, MalmöGäller för
Klinisk kemi

MA

tiviteten och från denna kan inhiberande aktiviteten av antikropparna beräknas i Bethesda enheter. En Bethesda enhet motsvarar 50 % restaktivitet.

Referensintervall

<0,4 kBU/L

Svaret anges i Bethesda enheter (kBU/L) med 1 decimals noggrannhet.

Metodkaraktistika**Interferenser och felkällor**

I några fall av von Willebrands sjukdom typ II B har normal eller gränsvärde rapporterats. Behandling med F VIII koncentrat eller DDAVP/desmopressin ökar ristocetin kofaktoraktiviteten i patientplasman.

Metoden Low.vWF.RCoF ger falskt för låga värden då provet är det minsta lipemiskt. Endast helt klara prover får analyseras. Om plasman inte är helt klar centrifugeras den vid minst 10000 x g och analysen utförs på det klara skiktet. I instrumentet kommer automatiskt en beställning på analysen "LIPEMI?" på prover med P-vWF.RCoF < 0,40 kIE/L. Dessa prover tas ur instrumentet, kontrolleras med avseende på lipemi samt eventuellt centrifugeras. Därefter sätts proven tillbaka i instrumentet igen och analysen "Low.vWF.RCoF" beställs manuellt samtidigt som analysen "LIPEMI?" raderas.

Mätområde

Se metodbeskrivning P-von Willebrand Faktor: Ristocetin kofaktor aktivitet (VWF:RCo modifierad) bestämning på BCS, version 2536-2" eller högre version.

Detektionsgräns

< 0,031 kIE/L

Mätosäkerhet

Se metodbeskrivning P-von Willebrand Faktor: Ristocetin kofaktor aktivitet (VWF:RCo) bestämning på BCS, version 2536-2" eller högre version.

Någon specifik validering av den inhiberande aktiviteten med antikroppar har inte utförts.

Spårbarhet

Se metodbeskrivning P-von Willebrand Faktor: Ristocetin kofaktor aktivitet (VWF:RCo) bestämning på BCS, version 2536-2" eller högre version.

Övrig information

Metoden är ej ackrediterad

Metodbeskrivning

P-vWF ak Bethesda, Malmö

Gäller för
Klinisk kemi

MA

Referenser

Bipacksedel till BC von Willebrand Reagent OUBD 637

Zuzel M, Nilsson IM and Åberg M. A method for measuring plasma ristocetin cofactor activity. *Thromb Res* 1978;12:745-754.

Strandberg K, Lethagen S, Andersson K, Carlson M and Hillarp A. Evaluation of a rapid automated assay for analysis of von Willebrand ristocetin cofactor activity. *Clin Appl Thrombosis/ Hemostasis* 2006; 12: 61-67.

Hillarp A, Stadler M, Haderer C, Weinberger J, Kessler CM and Römisch J. Improved performance characteristics of the von Willebrand factor ristocetin cofactor activity assay using a novel automated assay protocol. *J Thromb Haemost* 2010; 8: 2216-2223.