



LIAPHEN™ vWF:Ag

REF 120206

R1 4x5 ml, R2 4x6 ml

IVD

Turbidimetrický latexový immuassay pro kvantitativní stanovení vWF:Ag, tekuté reagentie



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: 04-2019

POUŽITÍ:

LIAPHEN™ vWF:Ag souprava je určena pro in vitro imunoturbidimetrické kvantitativní stanovení antigenu von Willebrandova faktoru (vWF:Ag) v lidské citrátové plazmě při použití manuální nebo automatizované metody. Reagentie jsou v tekuté formě, připraveny k použití.

SOUHRN:

Technický:

vWF je multimerní protein produkovaný v endoteliálních buňkách a v megakaryocytech. V krvi cirkuluje jako multimer o hmotnosti od 500 do 20 000 kDa. vWF zprostředkovává adhezi trombocytů k subendoteliálním vrstvám při poškození cévy a slouží jako nosič FVIII – ten má díky vazbě na vWF delší poločas v krevním oběhu.

Ultra velké multimery vWF jsou proteolyticky štěpeny metaloproteinázou ADAMTS13 do menších a méně aktivních forem. Biologické funkce vWF závisí na velikosti multimeru. Větší multimery více váží trombocyty ke kolagenu a podporují adhezi trombocytů v krevním řečišti^{1,2}.

Klinický:

vWF funkční nebo kvantitativní deficit vede k von Willebrandově chorobě (vWCH), jejíž formu dělíme do 3 skupin:

- Typ 1 – vWCH je charakterizována kvantitativním deficitem vWF (nejčastější)
- Typ 2 – je abnormální funkce vWF. Dělí se do 4 podtypů – 2A, 2B, 2M a 2N, v závislosti na typu abnormality.
- Typ 3 – těžký kvantitativní deficit vWF

Deficit vWF může být spojen s jinými patologiemi, které jsou pak příčinou tzv získané vWCH.

Koncentrace vWF se zvyšuje při poškození endotelu nebo při zánětu^{3,4}.

PRINCIP TESTU:

LIAPHEN™ vWF:Ag je imunoturbidimetrický test založený na reakci antigenu s protilátkou. vWF jako antigen přítomný ve vzorku se váže na latexové částice s navázanou polyklonální králičí protilátkou proti vWF. Tato vazba agreguje latexové částice a měří jejich agregace přímo ovlivní absorpci světla. Změna absorpce je tedy přímo úměrná množství vWF:Ag ve vzorku.

REAGENCIE:

R1 Reakční pufr, v tekuté formě.

4 lahvičky po 5 ml.

R2 Latex, tekutá forma.

4 lahvičky po 6 ml.

Reagentie R1 a R2 obsahují BSA a malé množství azidu sodného (0,9 g/l).

UPOZORNĚNÍ A VAROVÁNÍ:

- Některé reagentie v soupravě obsahují materiál zvířecího původu, proto s nimi musí být zacházeno s opatrností jako s potenciálně infekčními a ve shodě s doporučeními pro zacházení s biologickým materiálem.
- Při kontaktu s měděným nebo olověným odpadním potrubím může azid sodný tvořit explozivní azidy kovů.
- Znehodnocení odpadu by mělo být vždy v souladu s lokálními předpisy.
- Užívejte pouze reagentie stejné šarže.
- Studie stability prokázaly, že reagentie mohou být převáženy za pokojové teploty bez degradace.
- Pro použití In Vitro v profesionální laboratoři.

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ:

R1 R2 Reagentie jsou připraveny k použití; opatrně homogenizujte obsah převrácením lahvičky, předejděte tvorbě pěny. Vložte do analyzátoru dle aplikačního protokolu.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA:

Neotevřené reagentie musí být skladovány při 2-8°C v jejich originálních obalech. Pak jsou stabilní do data expirace uvedeného na obalu.

R1 R2 Stabilita reagentie po otevření v originální lahvičce, která je hermeticky uzavřena, v případě že je zabráněno vypařování a kontaminaci:

4 týdny při 2-8°C

2 týdny při pokojové teplotě (18-25°C)

Nemrazte.

Stabilita v analyzátoru – viz aplikační protokol.

REAGENCIE A MATERIÁL POTŘEBNÝ, V KITU NEPŘÍTOMNÝ:

Reagentie:

- Destilovaná voda
- Imidazolový pufr (AR021A/AR021K/AR021L) jako diluent
- Kalibrační plazma s určenou hladinou vWF:Ag s návazností na mezinárodní standardy NIBSC pro vWF:Ag v plazmě, například:

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

Materiál:

- Automat pro imunoturbidimetrické testy.
- Kalibrované pipety, silikonové sklo nebo plast.

PŘÍPRAVA A ODBĚR VZORKU:

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

Vzorky by měly být připraveny a skladovány dle relevantních řádů.

Pro skladování plazmy odkazujeme na referenze^{5, 6}.

POSTUP:

Souprava je určena pro automatické kinetické metody. Test provádějte při 37°C a měřte turbiditu při 575nm (mohou být použity i jiné vlnové délky, v rozmezí 540 až 800 nm).

Provedení měření:

1. Rekonstruuje referenční přípravky nebo kalibrátor a kontrolní plazmy dle jejich specifických instrukcí nebo dle interních doporučení. Připravte kalibrační body v rozmezí od 0 do 150% vWF:Ag (0 – 20 – 75 – 150% vWF:Ag) v Imidazol pufru. Ředící poměr 4:15 odpovídá „C“ koncentraci vWF:Ag pro komerční kalibrátory.

2. Naředte vzorky, kalibrátory a kontroly Imidazolovým pufrům, jak je popsáno v tabulce níže:

Vzorek	Reference	Ředění
Kontroly	223 201 / 223 301	4:15
Vzorky	-	4:15

Stanovte kalibrační křivku a proveďte kontrolu kvality.

Pokud skladujete při pokojové teplotě (18 – 25°C), testujte naředěné plazmy rychle. Přesné koncentrace kalibrátorů a kontrol pro jejich šarže jsou uvedeny v letáku přiloženém v jejich balení.

3. Níže je příklad procesu pro analyzátor CS-série. Přidejte následující materiál do reakčních květ a inkubujte při 37°C:

Reagentie	Objem
Kalibrátor, kontroly ředěné v Imidazolovém pufru	30 µl
R1 Reakční pufr	60 µl
Inkubace při 37°C po 130 sekund	
R2 Latex	100 µl
Promíchejte a měřte kontinuálně optickou densitu (mezi 20 a 50 sec) při 575 nm při teplotě 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 1600%) doporučujeme předředit v Imidazolovém pufru (naměřené koncentrace pak násobte před-dilučním faktorem.)

Pro automatizované metody se odkažte na aplikační protokol daného analyzátoru, které jsou dostupné na vyžádání.

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

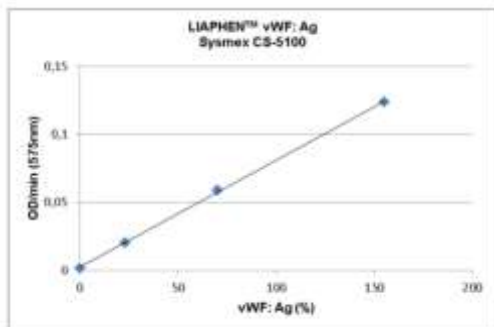


KALIBRACE:

LIAPHEN™ vWF: Ag může být kalibrován pro test vWF: Ag antigen v lidské plazmě. Kalibrace zahrnující kalibrační rozmezí je k dispozici od Hyphen BioMed (viz Reagencie a materiál potřebný, ale nepřítomný) a může být použita k stanovení kalibrační křivky.

Kalibrační rozmezí je kolem 0 až 150% (na Sysmex CS-5100).

Kalibrační křivka uvedená níže je pouze příklad. Pro výpočet výsledků stanovte vlastní kalibrační křivku.



KONTROLA KVALITY:

Použití komerčních kontrolních materiálů umožní validaci kalibrační křivky stejně jako homogenity 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 bilineární s absorbcí při 575 nm na ose Y a s koncentrací vWF:Ag v % na ose X.
- Koncentrace vWF:Ag v testovaném vzorku je přímo odečtena z kalibrační křivky, pokud je použito standardní ředění.
- Pokud je použito jiné ředění vzorku, musí být získaný výsledek násoben doplňkovým dilučním faktorem.
- Výsledky by měly být interpretovány ve shodě s posouzením klinického a biologického stavu pacienta.

LIMITY:

- Pro zajištění optimálního provedení testu by měly být dodrženy technické instrukce a specifikace validované výrobcem Hyphen-BioMed. Laboratoř je odpovědná za validaci každé změny, která mění tyto instrukce.
- Každý reagent s neobvyklým vzhledem nebo se známými kontaminacemi by měl být vyloučen.
- Jakékoliv podezřelé vzorky nebo vzorky vykazující známky aktivace musí být znehodnoceny.
- Heterofilní protilátky mohou interferovat v testu a vést k abnormálně vysokým výsledkům vWF:Ag.
- Pro možný vliv Hook efektu odkazujeme na specifické aplikační protokoly pro použité analyzátoři. Nebyl pozorován žádný vliv koncentrace vWF:Ag do 1600% na přístroji Sysmex CS-5100.

PŘEDPOKLÁDANÉ HODNOTY:

Referenční rozmezí bylo získáno měřením vzorků zdravých dospělých osob (n=120) na analyzátoři Sysmex CS5100 (průměr 90%, 95. Percentil) – 62 až 169% vWF:Ag

Přesto by referenční interval měl být ověřen pro konkrétní podmínky.

Krevní skupina, speciálně KS 0, stejně tak jako věk, pohlaví, gravidita - ovlivňují koncentraci vWF:Ag v plazmě?

VLASTNOSTI:

- Dolní mez detekce je závislá na použitém analyzátoři - na analyzátoři Sysmex CS-5100 je <1%.
- Měřicí rozmezí závisí na použitém analyzátoři (přibližně 3 až 1600% vWF:Ag na Sysmex CS-série s redilucí, test je lineární od 10 do 170%, bez přídavného ředění).
- Byly provedeny studie se 3 šaržemi reagentie za použití přístroje Sysmex CS-5100. 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	102,8	2,2	2,3	30	103,4	2,2	2,3
patologická	40	39,8	4,6	1,8	30	39,2	2,6	1,0

•

- Korelace s referenční metodou (vWF:Ag – Siemens – versus LIAPHEN™ vWF:Ag na Sysmex CS-5100):
n = 73 y = 1,032x + 0,49 r = 0,998

Interference:

Nebyly zaznamenány interference na Sysmex CS-5100 do následujících koncentrací:

Hemoglobin	1000 mg/dl	Heparin (UFH/LMWH)	2/2 IU/ml
Bilirubin (Volný)	60 mg/dl	Rivaroxaban	400 ng/ml
Bilirubin (Vázaný)	60 mg/dl	Apixaban	400 ng/ml
Intralipidy	1000 mg/dl	Dabigatran	400 ng/ml
Rvmatoidní faktor	750 IU/ml		

Odkazujeme na aplikační protokol specifického analyzátoři.

REFERENCE:

1. Luo GP. *et al.* von Willebrand Factor: more than a regulator of hemostasis and thrombosis. *Acta Haematol*, 2012.
2. Peyvandi F. *et al.* Role of von Willebrand Factor in the haemostasis. *Blood Transfus*. 2011.
3. Schwameis M. *et al.* vWF excess and ADAMTS13 deficiency: a unifying pathomechanism linking inflammation to thrombosis in DIC, malaria, and TTP. *Thrombosis and Haemostasis*. 2015.
4. Farkas P. *et al.* Complement activation, inflammation and relative ADAMTS13 deficiency in secondary thrombotic microangiopathies. *Immunobiology*. 2017.
5. CLSI Document H21-A5 : "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma -based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline". Fifth Edition, 28, 5, 2008.
6. Woodhams B. *et al.*, Stability of coagulation proteins in frozen plasma. *Blood coagulation and Fibrinolysis*. 2001.
7. Gill JC. *et al.* The Effect of ABO group on the diagnosis of von Willebrand disease. *Blood*. 1987.

SYMBOLY:

Použité symboly a znaky jsou v seznamu ISO 15223-1 standard, viz dokument definice symbolů.

