

vWF Act

von Willebrand Factor Activity

cobas®

REF	CONTENT	SYSTEM
08250243190	▽ 100	N. d'ident. 07 2004 0 cobas t 511 cobas t 711

Italiano

Informazioni relative al sistema

Nome abbreviato	ACN (<i>application code number</i> – codice di applicazione)
vWF Act	28500

Finalità d'uso

Test *in vitro* per la determinazione quantitativa dell'attività di legame alla glicoproteina Ib delle piastrine del fattore von Willebrand nel plasma umano citratato sugli analizzatori **cobas t** indicati. Il test serve per coadiuvare la diagnosi delle malattie di von Willebrand (*von Willebrand Disease: vWD*) ereditaria e acquisita.

Sommario

Il fattore von Willebrand (vWF) è una grande glicoproteina multimerica, rilasciata nella circolazione dopo lesioni vascolari. In particolari condizioni del flusso sanguigno, i multimeri del vWF si spiegano in filamenti ultra lunghi di molecole di vWF e attraggono piastrine per legarsi al sito di lesione.¹ Le piastrine aderiscono al vWF, mediante il loro recettore glicoproteina Ib (GPIb), causando l'attivazione piastrinica e un ulteriore rilascio di vWF per aumentare la coagulazione primaria nel sito di lesione. Successivamente hanno luogo l'aggregazione e l'attivazione piastrinica della cascata di coagulazione, il che risulta nella formazione di un coagulo di sangue stabile.²

La malattia di von Willebrand è la più comune disfunzione ereditaria associata al sanguinamento.³ Comprende un gruppo di condizioni associate al sanguinamento prolungato causato dal vWF deficiente e/o disfunzionante. Si distingue tra differenti tipi e sottotipi di vWD, inclusi il tipo 1 (carenza quantitativa parziale di vWF), il tipo 2 (difetti di vWF qualitativi) ed il tipo 3 (carenza praticamente completa di vWF).⁴

Per analizzare potenziali vWD, vengono eseguiti diversi test per confermare una diagnosi;⁵ ciò può anche includere analisi a livello genetico.⁶ Nelle valutazioni di routine di vWD sospette, vi è un set standard di test di laboratorio che include: antigene del vWF (vWF:Ag), attività del vWF – GPIb [vWF:GPIbR e vWF GPIbM; equivalente alla ristocetina di vWF (vWF:RC)],⁷ legame collagene - vWF (vWF:CB), fattore VIII e conteggio delle piastrine.⁸

Principio del test

Il test impiega GPIb, sviluppata mediante ingegneria genetica, la quale si lega al vWF endogeno nel campione (formando un complesso GPIb/vWF). Ciò non richiede l'aggiunta di ristocetina. Le particelle rivestite di un anticorpo diretto contro GPIb si legano al complesso GPIb/vWF, inducendo così l'agglutinazione, che viene misurata turbidimetricamente.

Reattivi – soluzioni pronte all'uso

cobas t pack

R1 Reagente bloccante

R2 GPIb ricombinante

SR^{a)} Particelle rivestite di anticorpo

a) *Start reagent: reagente starter*

R1 si trova nella posizione A, R2 nella posizione C e SR nella posizione B.

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.

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 esplosivi. 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	12 settimane 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.^{9,10}

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.

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

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

Le aliquote del plasma congelato devono essere scongelate entro 5 minuti a 37 °C a bagnomaria ed omogeneizzate agitando 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 08455031190, Con 3, 20 x 1 mL
- REF 07904509190, Blank Cal, 6 x 12 mL
- REF 07575548190, Cal Plasma, 10 x 1 mL
- REF 07155042190, Owren B, 50 mL
- Normale attrezzatura da laboratorio
- Acqua distillata o deionizzata

vWF Act

von Willebrand Factor Activity

- 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 i calibratori indicati nella sezione "Materiali necessari (ma non forniti)".

Frequenza di calibrazione: è richiesta una calibrazione completa

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

Tracciabilità: questo metodo è stato standardizzato contro lo standard *NIBSC vWF plasma* dell'OMS.

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.

Calcolo

Gli analizzatori **cobas t** effettuano il calcolo automatico dell'attività dell'analita di ciascun campione.

Fattore di conversione: 100 % = 1 IU/mL^{11,12}

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	45 mg/dL
Bilirubina non coniugata	45 mg/dL
Emoglobina	1000 mg/dL
Intralipid	1200 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 da fattore reumatoide (RF) fino ad una concentrazione di 200 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 plasma normale, arricchito con LMWH, non è stata osservata nessuna interferenza significativa fino ad una concentrazione di 2.0 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 1.5 IU/mL.

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

La presenza di oritavancina (Orbactiv) nel campione influenza i risultati del test vWF Act.

cobas[®]

Nessun effetto hook è stato riscontrato fino ad un'attività del vWF del 660%.

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.

Limiti ed intervalli

Intervallo di misura

4.00-150 %

Determinare i campioni con concentrazioni di vWF più alte con la funzione rerun. Per i campioni con concentrazioni più alte, la funzione rerun riduce il volume del campione per il fattore 3.95. I risultati vengono automaticamente moltiplicati per tale fattore.

Limiti inferiori di misura

Limite del bianco = 2.00 %

Limite di sensibilità = 3.00 %

Limite di quantificazione = 4.00 %

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 in un campione che può essere misurata in modo riproducibile con un CV della precisione intermedia $\leq 20\%$.

Valori di riferimento

Gruppo sanguigno 0 ($n = 164$): 46.2%-135%

Gruppi sanguigni non 0 ($n = 210$): 68.4%-186%

Gruppo sanguigno indipendente ($n = 374$): 50.4%-180% (valori generati mediante pool dei risultati dei gruppi sanguigni 0 e non 0).

Questi valori corrispondono ai 2.5° e 97.5° percentili dei risultati ottenuti per ciascuna gruppo di campioni. Il numero di campioni di plasma umano per gruppo 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	78.1	0.501	0.6	1.38	1.8
Con 3	26.4	0.299	1.1	0.337	1.3
Plasma 1	7.36	0.307	4.2	0.315	4.3

vWF Act

von Willebrand Factor Activity

cobas®

		Ripetibilità		Precisione intermedia	
Campione	Media (%)	DS (%)	CV (%)	DS (%)	CV (%)
Plasma 2	25.8	0.259	1.0	0.415	1.6
Plasma 3	45.9	0.362	0.8	0.463	1.0
Plasma 4	77.0	0.532	0.7	0.735	1.0
Plasma 5	141	1.51	1.1	1.71	1.2

Confronto tra metodi

Il confronto del test vWF Act sull'analizzatore **cobas t 711** (y) con un test di coagulazione automatico (x) ha prodotto le seguenti correlazioni (valori dell'attività in [%]):

Numero dei campioni misurati: 115

Deming¹⁷

$$y = 0.970x - 0.0152 \%$$

$$r = 0.994$$

Impiegando il reagente vWF Act, le attività del vWF erano comprese tra il 5.62 ed il 136 %.

Letteratura

- Schneider S.W., Nuschele S., Wixforth A. et al., Shear-induced unfolding triggers adhesion of von Willebrand factor fibers. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007. 104(19): p. 7899-903.
- Reininger A.J., Function of von Willebrand factor in haemostasis and thrombosis. Haemophilia, 2008. 14 Suppl 5: p. 11-26.
- Leebeek F.W.G. and Susen S. Von Willebrand disease: Clinical conundrums. Haemophilia, 2018. 24
- Sadler J.E., Budde U., Eikenboom J.C. et al., Update on the pathophysiology and classification of von Willebrand disease: a report of the Subcommittee on von Willebrand Factor. J Thromb Haemost, 2006. 4(10): p. 2103-14.
- NG C., Motto D.G. and Di Paola J. Diagnostic approach to von Willebrand disease. Blood, 2015. 125(13): p. 2029-37.
- Sharma R. and Flood V.H. Advances in the diagnosis and treatment of Von Willebrand disease. Blood, 2017. 130(22): p. 2386-2391.
- Szederjesi A., Baronciani L., Budde U. et al., An international collaborative study to compare different von Willebrand factor glycoprotein Ib binding activity assays: the COMPASS-VWF study. J Thromb Haemost, 2018.
- De Jong A. and Eikenboom J. Developments in the diagnostic procedures for von Willebrand disease. J Thromb Haemost, 2016. 14(3): p. 449-60.
- 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.
- Bristow A.F., Barrowcliffe T., Bangham D.R. Standardization of biological medicines: The first hundred years, 1900-2000, Notes Rec. R. Soc. (2006) 60, 271-289
- Hubbard R. International Biological Standards for Coagulation Factors and Inhibitors Seminars, Thrombosis and Hemostasis, Vol 33, Nr 3, 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.

16 CLSI Document EP17-A2. Evaluation of Detection Capability for Clinical. Laboratory Measurement Procedures. Vol. 32, No. 8, 2012. Approved standard, 2nd Edition.

17 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):

CONTENT	Contenuto della confezione
SYSTEM	Analizzatori/strumenti su cui i reagenti possono essere usati
REAGENT	Reagente
CALIBRATOR	Calibratore
→	Volume per la ricostituzione
GTIN	Global Trade Item Number

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

© 2023, Roche Diagnostics

CE 0123



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.Roche.com

+800 5505 6606

