

von Willebrand Factor Activity - 0020004700

Aplicação Prevista

Imunoensaio automatizado para a determinação quantitativa da Actividade do Factor von Willebrand (Actividade do FVW) em plasma humano citratado por turbidimetria de partículas de látex, nos Sistemas de Coagulação da IL.

Resumo e Princípio

O diagnóstico da doença de von Willebrand (DWD), provavelmente uma das patologias da coagulação mais comuns, requer um número elevado de testes de laboratório especiais. A quantificação e a comparação do Antígeno do Factor von Willebrand (VWF:Ag), a Actividade do VWF e os níveis do Factor VIII (FVIII) no plasma auxiliam na diferenciação dos defeitos quantitativos (tipo 1 ou tipo 3) ou defeitos qualitativos (tipo 2) do VWF e portanto para diagnosticar os diferentes tipos de VWD.^{1,2}

Quando se obtém um nível de extremamente baixo ou indetectável de VWF:Ag, por esperar-se um VWD do tipo 3. Se for obtido um resultado moderado ou mesmo normal, os testes da Actividade do VWF e do FVIII, devem ser realizados e comparados com os resultados do VWF:Ag. Se os três valores estão dentro do intervalo normal, podem excluir-se o VWD e a Hemofilia A. Se pelo menos um, dos parâmetros, estiver anormalmente baixo, é necessário calcular os rácios Actividade VWF/VWF:Ag e FVIII/VWF:Ag. Se ambos os rácios estão próximos de 1 (alguns autores sugerem 0,7 como cut-off), pode ser diagnosticado VWD tipo 1.¹⁻² Quando o rácio Actividade VWF/VWF:Ag é baixo (0,7 é também o cut-off sugerido), podem ser diagnosticados os tipos 2A, 2B ou 2M. Estes subtipos são caracterizados pelo seu padrão multimérico anormal e/ou pela sua afinidade para plaquetas alterada.^{1,2} Testes adicionais de laboratório, como o RIPA (Agregação plaquetária induzida pela Ristocetina), análise multimérica e ensaios de ligação, são necessários para distinguir os diferentes sub-tipos.² Quando o rácio FVIII/VWF:Ag é baixo (0,7 é também o cut-off sugerido), pode ser diagnosticado o tipo 2N ou a Hemofilia A, é necessário o ensaio de ligação do FVIII, para discriminar entre as duas.

O kit Actividade do FVW é uma imunoturbidimetria amplificada com partículas de látex que permite quantificar o Actividade do FVW no plasma. Actividade do FVW é determinada ao medir o aumento da turbidimetria resultante da aglutinação do reagente de látex. Um anticorpo monoclonal específico anti-VWF adsorvido no reagente de látex, dirigido contra o local de ligação do VWF às plaquetas (receptor da Glicoproteína Ib), reage com o VWF do plasma do doente. O grau de aglutinação é directamente proporcional à Actividade do FVW presente no plasma. Os agregados provocam um decréscimo da luz transmitida.

Composição

O kit von Willebrand Factor Activity (Actividade do Factor von Willebrand) é composto por:

[R] Latex Reagent (Núm. Cat. 0020004710): recipientes 2 x 4,5 mL de uma suspensão de partículas de látex de poliestireno, às quais se juntou um anticorpo monoclonal purificado específico de ratinho contra o epitopo funcional FVW. Contém albumina de soro bovino, estabilizantes e conservante. Apresenta-se na forma liofilizada.

[B] Buffer (Núm. Cat. 0020004720): recipientes 2 x 4,5 mL de um tampão Tris que contém albumina de soro bovino, estabilizadores e conservante.

AVISOS E PRECAUÇÕES:

Evitar o contacto com a pele e os olhos (S 24/25). Não deitar os resíduos no esgoto (S 29). Usar vestuário de protecção adequado (S 36).

O Tampão contém menos de 0,1% de azida de sódio que pode formar azidas explosivas em contacto com o chumbo e cobre das canalizações. Utilize os métodos de eliminação adequados.

Para uso em diagnóstico *in vitro*.

Preparação

Buffer: Pronto a ser utilizado.

Latex Reagent: Dissolver o conteúdo de cada recipiente, juntando o conteúdo completo de um recipiente de tampão ao recipiente do Reagente de Látex. Fechar o recipiente e homogeneizar suavemente, durante pelo menos 20 segundos até à completa dissolução do látex liofilizado. Verificar se o produto fica completamente dissolvido.

Deve ter uma aparência homogénea e como uma suspensão ligeiramente leitosa. Conservar o reagente entre 15 e 25°C durante 30 minutos e misturar suavemente antes de utilizar. Não agitar.

Nota: Evitar a formação de espuma quando proceder à homogeneização dos reagentes reconstituídos. Bolhas no cimo do líquido, podem interferir com os sensores de líquido do aparelho.

Conservação e estabilidade dos reagentes

Os reagentes fechados, que ainda não foram utilizados, são estáveis até ao final do prazo de validade, que consta no rótulo, desde que conservados entre 2-8°C. **Latex Reagent** - Estabilidade depois da reconstituição: 1 mês a 2-8°C dentro do recipiente original, 3 dias a 15°C nos Sistemas ACL® ELITE/ELITE PRO/8/9/

10000, 1 dia a 15°C nos Sistemas ACL Futura/ACL Advance ou 5 dias a 15°C no ACL TOP. Não congelar.

Para obter uma estabilidade óptima retire os reagentes do aparelho e conserve-os entre 2-8°C, nos recipientes originais.

Método de ensaio

Seguir as instruções da técnica de acordo com o Manual do Operador dos aparelhos IL ou com o Manual de Aplicações dos Aparelhos IL.

Recolha e preparação de amostras

Adicionar nove partes de sangue extraído recentemente por punção venosa a uma parte de citrato trissódico. Para efectuar a recolha, o manuseamento e a conservação da amostra devem seguir-se as recomendações referidas no documento H21-A4 da CLSI (anteriormente NCCLS).³ Caso as amostras tenham sido congeladas, deverão ser descongeladas rapidamente a 37°C e simultaneamente devem ser suavemente misturadas, antes da utilização. O ensaio deverá ser efectuado antes de se terem completado 2 horas da sua descongelação.

Reagentes adicionais e plasmas de controlo

Este kit não inclui os produtos abaixo mencionados, pelo que deverão ser pedidos em separado:

	Américas e Pacífico Núm. Cat.	Europa Núm. Cat.
Plasma de Calibração	0020003700	0020003700
Controlo Normal	0020003120	0020003110
Controlos Especiais de Teste Nível 1	0020010100	0020010100
Controlos Especiais de Teste Nível 2	0020010200	0020010200
Diluyente de factores	0009757600	0009757600

Controlo de Qualidade

Para realizar um programa completo de Controlo de Qualidade, recomenda-se a utilização dos controlos normais e anormais.⁴ Os controlos adequados para este programa são o Controlo Normal, os Controlos Especiais de Teste Nível 1 e Nível 2. Cada laboratório deve estabelecer a sua própria média e desvio padrão e deve efectuar um programa de controlo de qualidade para monitorizar os seus resultados. Os controlos devem ser analisados uma vez em cada turno de 8 horas, de acordo com a norma vigente no Laboratório. Ver Manual do Operador para mais informações. Consultar a publicação de Westgard e col. para identificar e solucionar situações anormais do Controlo de Qualidade.⁵

Resultados

Os resultados são expressos em % de normalidade da Actividade do FVW. Para mais informações consultar o Manual do Operador dos Aparelhos. Para estabelecer um diagnóstico, os resultados da análise devem ser utilizados em conjunto com a restante informação, incluindo a história clínica.

Limitações/interferências

Não existe interferência nos resultados do Actividade do FVW nos aparelhos ACL ELITE/ELITE PRO/8/9/10000 por níveis de bilirrubina até 3,8 mg/dL e de lípidos até 265 mg/dL.

Não existe interferência nos resultados do Actividade do FVW nos Sistemas ACL Futura/ACL Advance por níveis de bilirrubina até 3,6 mg/dL e de lípidos até 929 mg/dL.

Não utilizar amostras hemolisadas e turvas. A presença de factor reumatóide na amostra pode originar resultados falsamente positivos.

Não existe interferência nos resultados do Actividade do FVW no ACL TOP por níveis de hemoglobina até 70 mg/dL, de bilirrubina até 4,2 mg/dL, de triglicéridos até 1020 mg/dL e de factor reumatóide até 200 UI/mL.

As amostras de doentes a quem foram administradas preparações com anticorpos monoclonais de origem murina, para diagnóstico ou terapêutica, podem conter anticorpos humanos antimurino (human anti-mouse antibody-HAMA). A presença de HAMA pode causar uma sobre-estimação dos resultados em imunoenaios que utilizam anticorpos monoclonais murinos. O HemosIL von Willebrand Factor Activity Buffer contém um agente bloqueante contra HAMA para minimizar esta interferência nos resultados do ensaio.

Valores esperados

Efectuou-se um estudo de intervalo normal de valores utilizando o kit da Actividade do FVW.

PORTUGUÊS - Revisão do folheto 09/2006



Grupo Sanguíneo ^a	N	ACL ELITE/ELITE PRO/8/9/10000	N	ACL Futura/ACL Advance
O	122	38,0 - 125,2 (% Actividade do FVW)	120	40,8 - 138,8 (% Actividade do FVW)
A + B + AB	126	49,2 - 169,7 (% Actividade do FVW)	123	58,1 - 175,5 (% Actividade do FVW)

Num estudo separado com 266 amostras individuais de doadores do banco de sangue, obtiveram-se os seguintes resultados:

Grupo Sanguíneo ^a	N	ACL TOP
O	132	40,3 - 125,9 (% Actividade do FVW)
A + B + AB	134	48,8 - 163,4 (% Actividade do FVW)

Nota: FVW é um agente reactivo de fase aguda e de stress, a gravidez e outras situações afectam a sua concentração plasmática e portanto pode ser aconselhável repetir a análise, com outra amostra de sangue obtida num dia diferente.¹ Os limites foram calculados de acordo com as recomendações da Federação Internacional de Química Clínica (IFCC).⁷ Estes resultados obtiveram-se com a utilização de um lote específico de reagente. Devido às diversas variáveis que podem afectar os resultados, cada laboratório deve estabelecer os seus intervalos de valores normais.

Características Técnicas

Precisão

A precisão foi avaliada, intra e na totalidade (de análise para análise e de dia para dia), ao longo de vários ensaios.

ACL ELITE/ELITE PRO/8/9/10000	Média (% Actividade do FVW)	CV% (Intra-série)	CV% (Total)
Controlo Normal	79,6	2,7	4,9
Controlos Especiais de Teste Nível 1	49,8	4,6	9,0
Controlos Especiais de Teste Nível 2	27,7	7,5	8,7

ACL Futura

ACL Advance	Média (% Actividade do FVW)	CV% (Intra-série)	CV% (Total)
Controlo Normal	92,1	4,1	5,6
Controlos Especiais de Teste Nível 1	64,1	4,8	6,5
Controlos Especiais de Teste Nível 2	36,6	6,5	8,3

ACL TOP	Média (% Actividade do FVW)	CV% (Intra-série)	CV% (Total)
Controlo Normal	102,4	2,6	3,4
Controlos Especiais de Teste Nível 1	68,4	3,5	6,3
Controlos Especiais de Teste Nível 2	30,3	6,5	8,0

Correlação:

Sistema	declive	intersecção	r	Método Comparativo
ACL ELITE/ELITE PRO/8/9/10000	0,832	4,782	0,972	EIA Actividade do FVW
ACL Futura/ACL Advance	0,954	3,854	0,958	EIA Actividade do FVW
ACL TOP	0,988	2,288	0,995	Actividade do FVW em ACL Advance

Num estudo clínico adicional (n=114), comparando este kit de VWF Activity no ACL 9000 com um ensaio de Ristocetin cofactor activity (VWF:RCo) num coagulometro óptico automatizado, resultou num r de 0,950 e num declive de 0,841.

Estes resultados de precisão e de correlação foram obtidos utilizando lotes específicos, de reagente e de controlo.

Limite de detecção:

Sistema	teste Regular (% Actividade do FVW)	teste de Repetição (% Actividade do FVW)
ACL ELITE/ELITE PRO/8/9/10000	12 (% Actividade do FVW)	-
ACL Futura/ACL Advance	1,3 (% Actividade do FVW)	40 - 240
ACL TOP	3,2 (% Actividade do FVW)	57 - 390

Linearidade:

Sistema	teste Regular (% Actividade do FVW)	teste de Repetição (% Actividade do FVW)
ACL ELITE/ELITE PRO/8/9/10000	21 - 200	-
ACL Futura/ACL Advance	19 - 120	40 - 240
ACL TOP	19 - 130	57 - 390

Se for excedido o intervalo linear (teste de repetição), então as amostras devem ser diluídas manualmente de 1:4 com Diluyente de factores (100 µL de amostra + 300 µL de Diluyente) nos aparelhos ACL ELITE/ELITE PRO/8/9/10000 e ACL Futura/ACL Advance ou de 1:10 com Diluyente de factores (50 µL de amostra + 450 µL de Diluyente) no ACL TOP, e devem ser novamente analisadas. Os resultados impressos devem ser multiplicados por 4 ou 10 para corrigir a diluição.

Não ocorre efeito de prózona até 700% nos aparelhos ACL ELITE/ELITE PRO/8/9/10000, até 350% nos Sistemas ACL Futura/ACL Advance e até 1000% no ACL TOP.



Bibliography / Literatur / Bibliografía / Bibliographie / Bibliografia / Bibliografia / Litteratur / Litteraturförteckning / Βιβλιογραφία

1. Montgomery RR, Collier BS. Von Willebrand Disease. In: Hemostasis and Thrombosis. Basic Principles and Clinical Practice. Third edition. Chapter 7. Edited by Colman RW, Hirsh J, Marder VJ and Salzman EW. JB Lippincott Company, Philadelphia, 1994.
2. Veyradier A, Fressinaud E, Meyer D. Laboratory diagnosis of von Willebrand disease. Int J Clin Lab Res 1998; 28: 201-210.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays, Fourth Edition, CLSI/NCCLS Document H21-A4; Vol. 23 No. 35.
4. Zucker S, Cathey MH, West B. Preparation of Quality Control Specimens for Coagulation, Am J Clin Pathol 1970; 53: 924-927.
5. Westgard JO, Barry PL. Cost-Effective Quality Control: Managing the Quality and Productivity of Analytical Processes, AACC Press 1986.
6. Gill JC et al. The effect of ABO blood group on the diagnosis of VWD, Blood 1987; 69: 1691-1695.
7. Solberg HE. Approved Recommendation (1987) on the Theory of Reference Values. Part 5. Statistical Treatment of Collected Reference Values. Determination of Reference Limits. J Clin Chem Clin Biochem 1987; 25: 645-656.

ACL, ACL Futura and ACL TOP are trademarks of Instrumentation Laboratory
©2004 Instrumentation Laboratory.

Symbols used / Verwendete Symbole / Símbolos utilizados / Symboles utilisés / Simboli impiegati / Símbolos utilizados / Anvendte symboler / Använda Symboler / Χρησιμοποιηθέντα σύμβολα

IVD

In vitro diagnostic medical device
In-vitro Diagnostikum
De uso diagnóstico *in vitro*
Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
Per uso diagnostico *in vitro*
Dispositivo médico para utilização em diagnóstico *in vitro*
“in vitro” diagnostisk udstyr
In vitro diagnostisk medicinsk produkt
Προϊόν για διαγνωστική χρήση *In vitro*

LOT

Batch code
Chargen-Bezeichnung
Identificación número de lote
Désignation du lot
Numero del lotto
Número de lote
Batch nr.
Tillverkningskod
Αρ. Παρτίδας



Use by
Verwendbar bis
Caducidad
Utilisable jusqu'à
Da utilizzare prima del
Data límite de utilização
Batch nr.
Anvendelse
Användning
Χρήση έως



Temperature limitation
Festgelegte Temperatur
Temperatura de Almacenamiento
Températures limites de conservation
Limiti di temperatura
Límite de temperatura
Temperatur begrænsninger
Temperatur gräns
Περιορισμοί θερμοκρασίας



Consult instructions for use
Beilage beachten
Consultar la metódica
Lire le mode d'emploi
Vedere istruzioni per l'uso
Consultar as instruções de utilização
Se vejledning for anvendelse
Ta del av instruktionerna före användning
Συμβουλευτήτε τις οδηγίες χρήσης

CONTROL

Control
Kontrollen
Control
Contrôle
Controllo
Controllo
Kontrol
Κontrol
Υλικό ποιοτικού ελέγχου



Biological risks
Biologisches Risiko
Riesgo biológico
Risque biologique
Rischio biologico
Risco biológico
Miljø oplysninger
Biologiska risker
Βιολογικοί κίνδυνοι



Manufacturer
Hergestellt von
Fabricado por
Fabricant
Prodotto da
Fabricado por
Producent
Tillverkare
Κατασκευαστής

EC REP

Authorised representative
Bevollmächtigter
Representante autorizado
Mandataire
Rappresentanza autorizzata
Representante autorizado
Leverandør
Auktoriserad representant
Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος