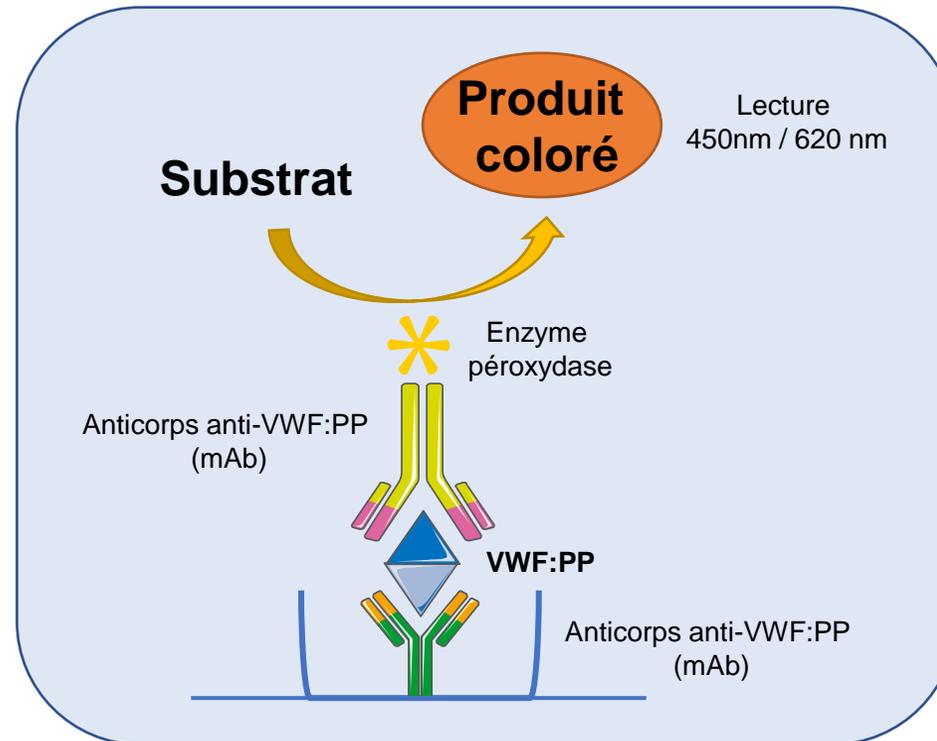


INTER-ARRAY VWF:PP ELISA



Le facteur von Willebrand (VWF)

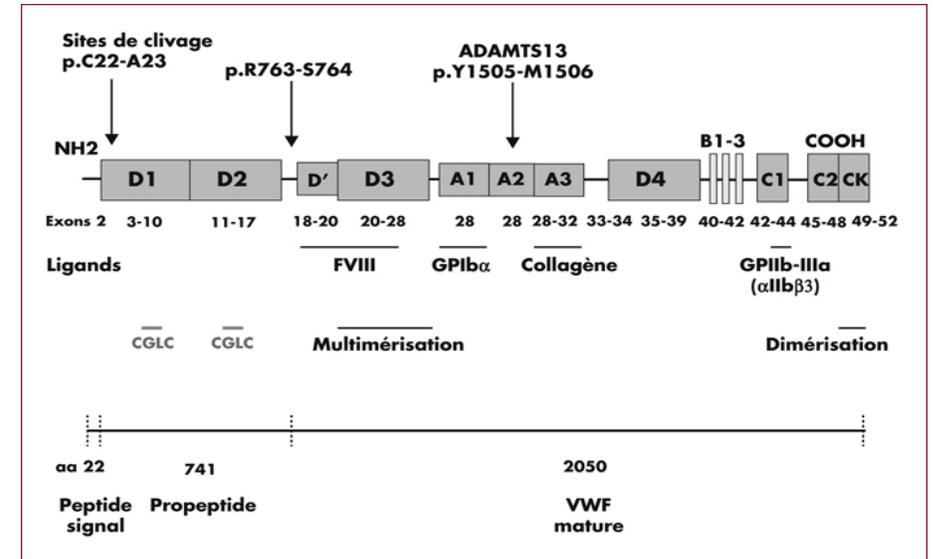
Généralités :

- Glycoprotéine multimérique
- Synthétisé dans les cellules endothéliales & mégacaryocytes
- Circule sous forme de multimères de tailles variables (0,5 – 2000 kDa)
- Inactive : sous forme globulaire - Active : sous forme étirée
- Concentration plasmatique du VWF : 5 à 10 µg/mL
- En circulation : demi-vie de 12 à 20 heures
- Les multimères ultralarges peuvent être clivés par l'ADAMTS13

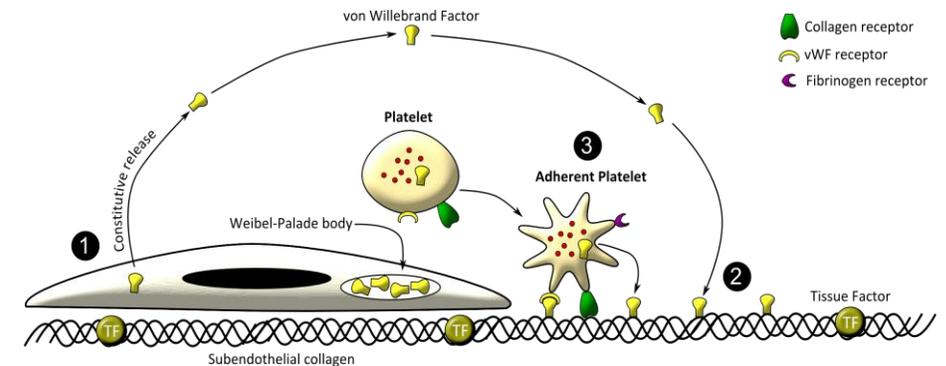
Rôles :

- ✓ Permet l'adhésion des plaquettes à la paroi vasculaire lésée
- ✓ Facilite l'agrégation des plaquettes
- ✓ Protéine porteuse pour le FVIII

Structure et fonction du prépro-facteur Willebrand



Fressinaud Edith, Hématologie, 2014



Genèse du VWF

Dans le Réticulum Endoplasmique :

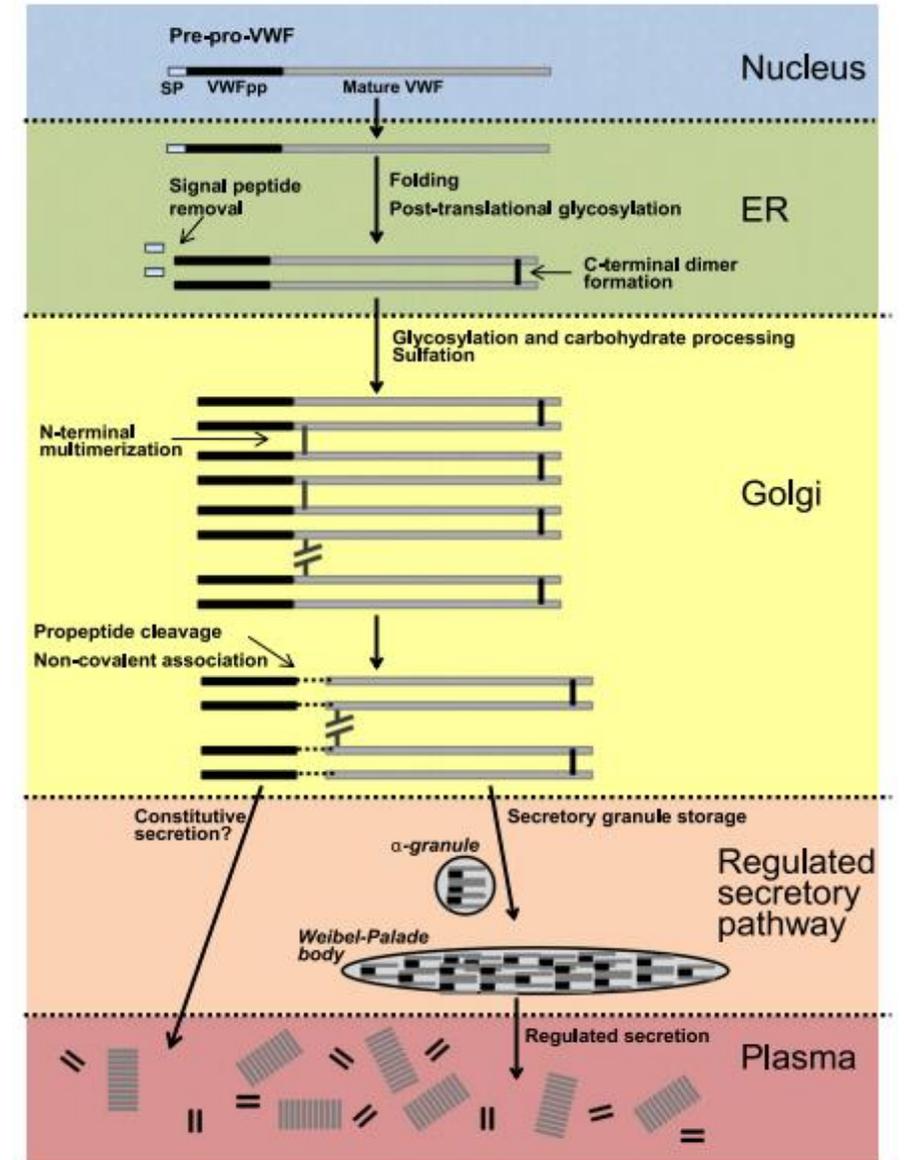
Clivage du peptide signal : pro-VWF.
Formation des dimères de VWF.

Dans le Golgi :

N- et O- glycosylations du pro-VWF.
Assemblage des multimères grâce au propeptide (VWFpp).
Clivage du propeptide pour donner le VWF.
Stockage du VWF et du propeptide dans les corps de Weibel-Palade (CWP) des cellules endothéliales ou dans les α -granules des plaquettes.

Dans le sang :

Sécrétion dans le plasma du VWF et du VWFpp (de façon équimolaire) après stimulis physiologiques ou pharmacologiques.



Le propeptide du facteur von Willebrand (VWFpp)

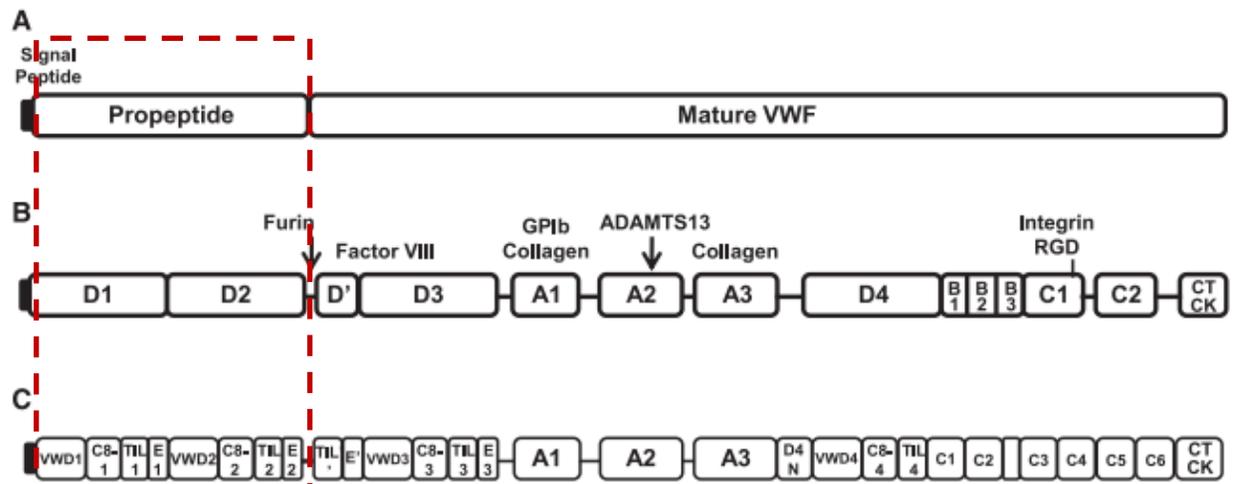
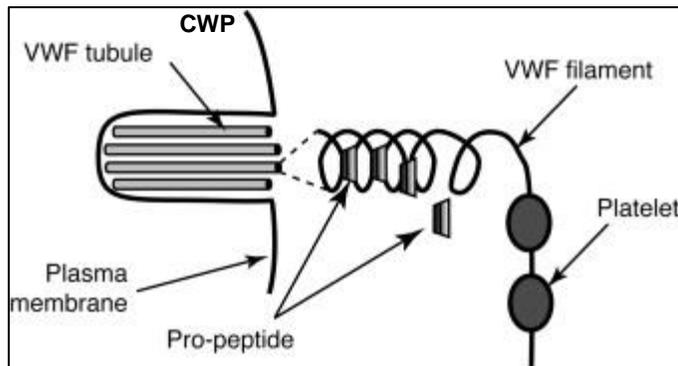


Figure 1. VWF structure and binding/cleavage sites. (A) VWF contains a signal peptide, propeptide, and mature VWF portion. (B) VWF is comprised of homologous domains (A-D), where specific binding or cleavage sites have been mapped. (C) Refined domain structure of VWF.

Haberichter Sandra L. *Blood*, 2015



Michaux G. et al, *Dev Cell*, 2006

- Biomarqueur de la sécrétion endothéliale du VWF
- Correspond aux domaines D1, D2 du VWF
- Taille de 100 kDa
- Considéré comme une protéine chaperonne intermoléculaire
- Indispensable à la **multimérisation** et au **stockage** du VWF
- Demi-vie courte : **approx. 2 heures**
- Concentration du VWFpp dans le plasma : $\approx 1\mu\text{g/mL}$
- Sécrétion équimolaire entre VWF et VWFpp

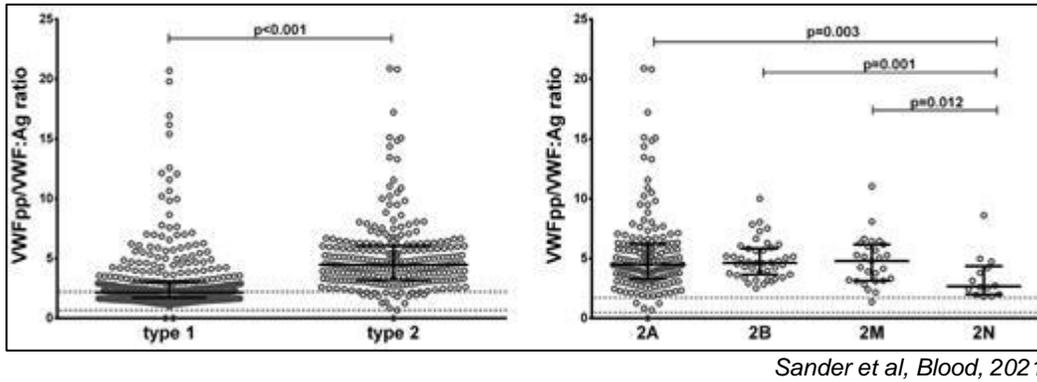
Le propeptide du facteur von Willebrand (VWFpp)

- Le VWF et le VWFpp se dissocient et se métabolisent avec des demi-cycles différents. Alors que le VWF a une demi-vie d'env. 12 heures, le VWFpp est métabolisé avec une demi-vie d'env. 2 heures.
- Le rapport molaire du VWFpp au VWF peut être utilisé comme indicateur de la dégradation du VWF. Un rapport accru du VWFpp au VWF indique une clairance accrue du VWF. Celles-ci se retrouvent chez divers patients atteints d'un déficit congénital du VWF, mais aussi dans le syndrome du VWF acquis.
- Une connaissance précise de la clairance du VWF peut influencer le choix du traitement, en particulier la nécessité d'administrer des concentrés de VWF. Des niveaux accrus de VWFpp ou un rapport anormal entre VWFpp et VWF peuvent également être causés par l'activation de l'endothélium ou des plaquettes

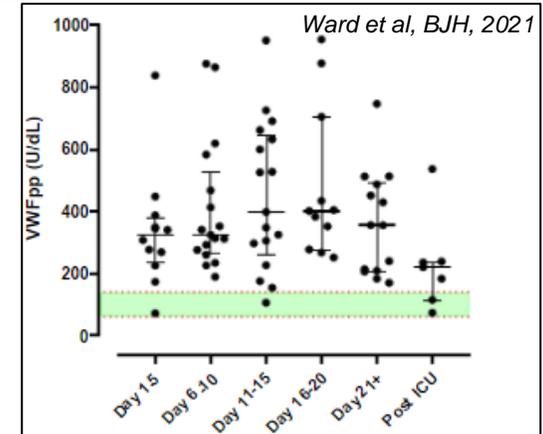
→ VWFpp est utile dans la maladie de von Willebrand acquise

Pathologies présentant une variation du taux de VWFpp

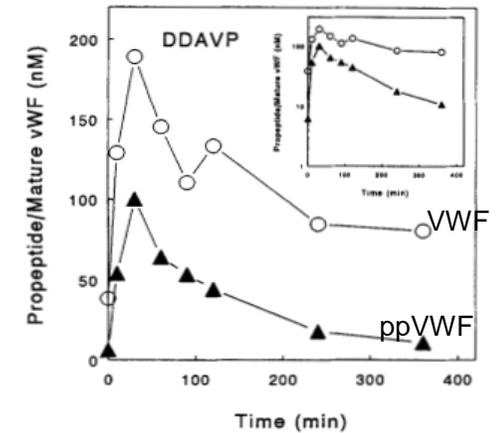
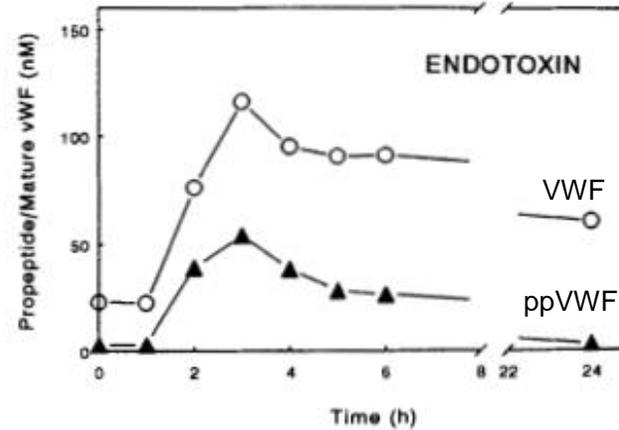
VWD



COVID-19



- VWD (Sander et al, Blood, 2021)
- VWD acquis (Horiuchi H et al, J Atheroscler Thromb, 2019)
- COVID-19 (Ward et al, BJH, 2021)
- Diabète (Verroti A et al, Pediatr Res. 2003)
- Sepsis (Fukushima H, shockn 2013)
- TTP (stufano F et al, JTH, 2012)
- Desmopressine (DDAVP) (Borchiellini et al, blood, 1996)
- Endotoxine (Borchiellini et al, blood, 1996)
- Malaria (Hollestelle M, Br J Haematol, 2006)
- Perturbation vasculaire, syndrome hémolytique urémique...



Borchiellini et al, blood, 1996

La maladie de Willebrand

La maladie de Willebrand (VWD) se caractérise par un déficit quantitatif et/ou qualitatif en VWF causant des anomalies constitutionnelles de l'hémostase distinctes de l'hémophilie.

- Prévalence estimée à \approx 1% de la population (hommes + femmes)
- Maladie autosomique généralement dominante
- Symptômes sont dépendants du type de VWD (épistaxis, gingivorragies, ménorragies, hémorragies amygdaliennes...)

Tableau 1. Classification de la maladie de Willebrand (Sadler et al., [19])

Type	Description
1	Déficit quantitatif partiel en VWF
2	Déficit qualitatif en VWF (variants moléculaires) :
2A	Défaut d'interaction du VWF avec les plaquettes et le sous-endothélium lié à l'absence des multimères de haut poids moléculaire
2B	Augmentation de l'affinité du VWF pour les plaquettes
2M	Défaut d'interaction du VWF pour les plaquettes ou le sous-endothélium non lié à une anomalie des multimères du VWF
2N	Diminution importante de l'affinité du VWF pour le FVIII
3	Déficit quantitatif quasi total en VWF

Fressinaud Edith, Hématologie, 2014

Traitements :

- La Desmopressine (dDAVP) : libère le VWF intracellulaire et augmente ainsi le taux de FVIII circulant
 - VWD type 1 : efficace +++
 - VWD type 2A et 2M : efficace \pm
 - VWD type 2N : faiblement efficace
- Les traitements substitutifs : administration de VWF ou FVIII/VWF



Dosage du VWFpp dans les VWD

von Willebrand factor propeptide and the phenotypic classification of von Willebrand disease

Yvonne V Sanders¹, Dafna Groeneveld², Karina Meijer³, Karin Fijnvandraat⁴, Marjon H Cnossen⁵, Johanna G van der Bom⁶, M Coppens⁷, Joke de Meris⁸, Britta A P Laros-van Gorkom⁹, Eveline P Mauser-Bunschoten¹⁰, Frank W G Leebeek¹, Jeroen Eikenboom², WiN study group

(Blood. 2015;125(19):3006-3013)

Assay of the von Willebrand factor (VWF) propeptide to identify patients with type 1 von Willebrand disease with decreased VWF survival

Sandra L Haberichter¹, Michael Balistreri, Pamela Christopherson, Patricia Morateck, Stefana Gavazova, Daniel B Bellissimo, Marilyn J Manco-Johnson, Joan Cox Gill, Robert R Montgomery

(Blood (2006) 108 (10): 3344–3351)

Assessment of von Willebrand factor propeptide improves the diagnosis of von Willebrand disease

Alessandra Casonato¹, Viviana Daidone, Roberto Padrini

(Semin Thromb Hemost 2011; 37(5): 456-463)

Von Willebrand factor propeptide makes it easy to identify the shorter Von Willebrand factor survival in patients with type 1 and type Vicenza von Willebrand disease

M Sztukowska¹, L Gallinaro, M G Cattini, E Pontara, F Sartorello, V Daidone, R Padrini, A Pagnan, A Casonato

(Sztukowska M. et al, BJHaem, 2008)

- **Nombreuses littératures sur le dosage de VWFpp pour les VWD**
- **Dosage du VWFpp important dans la détermination du sous-type du VWD**

Ratio VWFpp/VWF Ag :

	Normal	Type 1	Type 1C	Type 2A	Type 2B	Type 2M	Type 2N	Type 3
VWF:Ag	N	↓↓	↓↓	N, ↓, or ↓↓	N, ↓, or ↓↓	↓ or ↓↓	N or ↓	Absent
VWF:RCO/VWF:Ag VWF:GPIbM/VWF:Ag, VWF:GPIbR/VWF:Ag	N	N	N	↓↓	↓ or ↓↓	↓↓	N	N/A
VWF multimères	N	N	N	↓HMW	↓HMW	N	N	Absent
VWFpp/VWF:Ag	N	N	↑ or ↑↑	N or ↑	N or ↑	N	N	N/A
VWF:CB/VWF:Ag	N	N	N	↓↓	↓ or ↓↓	N or ↓	N	N/A

(d'après Ruchika S. et al, Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2019)

**Meilleure identification = Meilleure adaptation du traitement
→ coût économique**

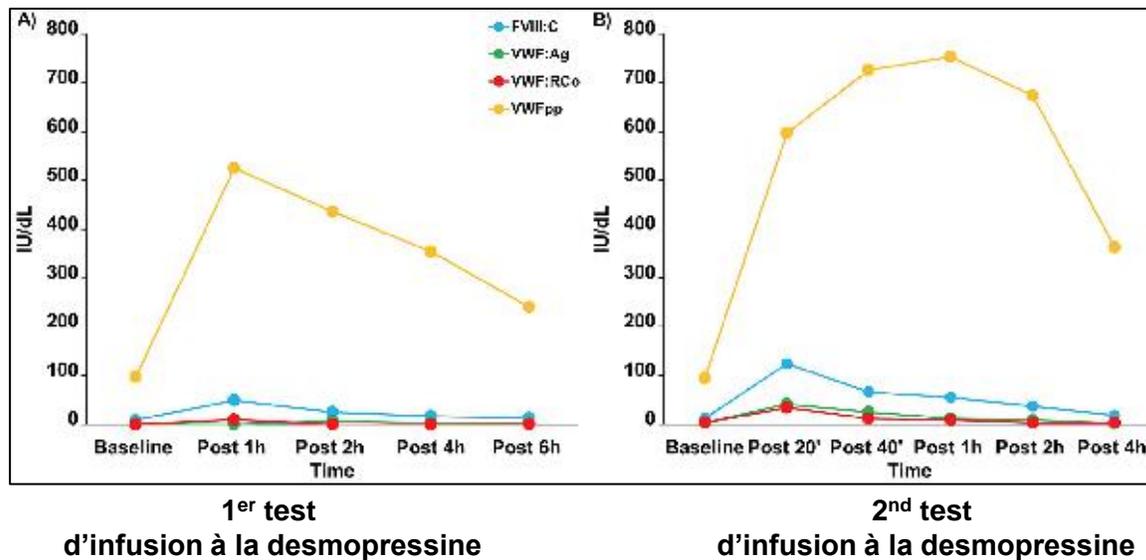
Rôle du VWFpp dans l'évaluation de la réponse au dDAVP

The Role of the von Willebrand Factor Propeptide (VWFpp) in the Evaluation of Desmopressin Response in a Patient with Acquired von Willebrand Syndrome (AVWS)

P. Colpani¹, L. Baronciani¹, G. Cozzi¹, S.M. Siboni¹, E. Biguzzi¹, C. Novembrino¹, F. Rossi¹, F. Peyvandi^{1,2}

(Poster PB1554, Congrès ISTH 2020)

Maladie de Willebrand aqoise (aVWD ou AVWS) : maladie rare hémorragique caractérisée par une élimination rapide du VWF plasmatique dont les résultats au laboratoire sont similaires au VWD. Ce syndrome est caractérisé par une absence de précédents saignements, d'absence d'antécédents familiaux et se produit tardivement dans la vie.



(Poster PB1554, Congrès ISTH 2020)

- La mesure du taux de VWFpp chez ce patient présentant une aVWD après l'administration de dDAVP montre une **rapide clairance** du VWF sécrété.
- Le taux élevé de VWFpp peut **prédire** le manque d'efficacité de la desmopressine en raison de l'élimination rapide du VWF libéré après son administration.

Présentation du kit : INTER-ARRAY VWF:PP ELISA

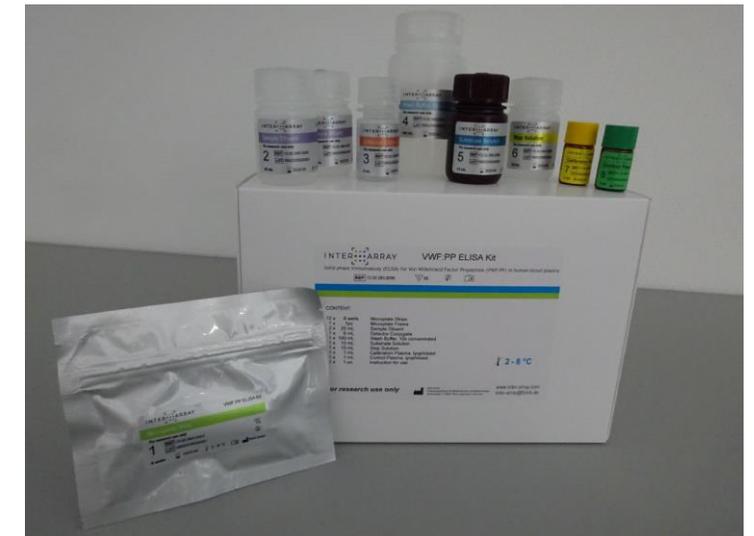
- ✓ Marquage RUO
- ✓ Kit prêt à l'emploi
- ✓ ELISA rapide avec 2 anticorps monoclonaux (< 90 minutes)
- ✓ Procédure simple
- ✓ Aucune interférence avec les anticorps hétérophiles
- ✓ Réactifs stables 8 semaines à 6 mois après ouverture
- ✓ Calibré contre le standard international SSC/ISTH

Procédure de dosage (Facilement automatisable)	Caractéristiques du dosage
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Echantillon de 50 µL + 50 µL anticorps couplé à la peroxydase (POD) 	Précision – inter-séries (n=8) 0,1 % à 60,6 mUI / mL 8,1 % à 3,8 mUI / mL
<ul style="list-style-type: none"> ➤ 60 min, 37 °C 	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ 4 lavages + 100 µL de substrat (TMB) 	Précision – quotidiennement (n=8) 0,6 % à 60,6 mUI / mL 9,8 % à 3,8 mUI / mL
<ul style="list-style-type: none"> ➤ 15 min (15-25 °C dans l'obscurité) + 100 µL de solution stop 	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Lecture de la densité optique (450/620 nm) 	



Référence : 33-13.02.095.0096

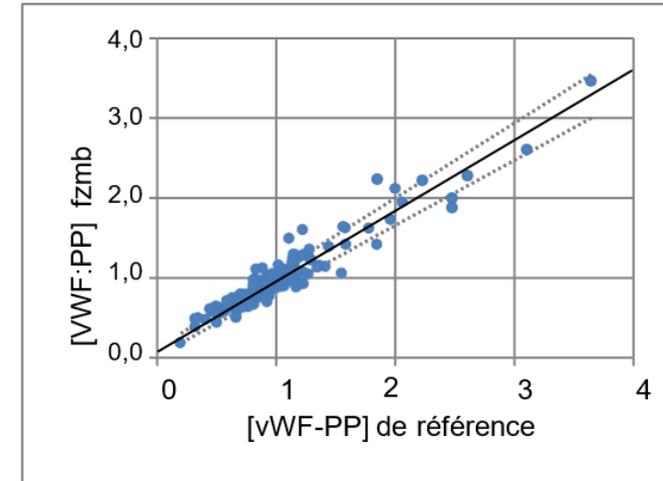
- 12 sachets contenant 1 barrette de 8 puits recouverts d'un anticorps monoclonal anti-VWF:PP
- Anticorps monoclonal anti-VWF:PP couplé à une enzyme (1 flacon)
- Substrat (1 flacon)
- Solution stop (1 flacon)
- Diluant d'échantillon (2 flacons)
- Tampon de lavage concentré (1 flacon)
- Plasma de calibration lyophilisé (1 flacon)
- Plasma de contrôle lyophilisé (1 flacon)
- Cadre en plastique (1)
- Valeurs du calibrateur et du contrôle



Présentation du kit : INTER-ARRAY VWF:PP ELISA

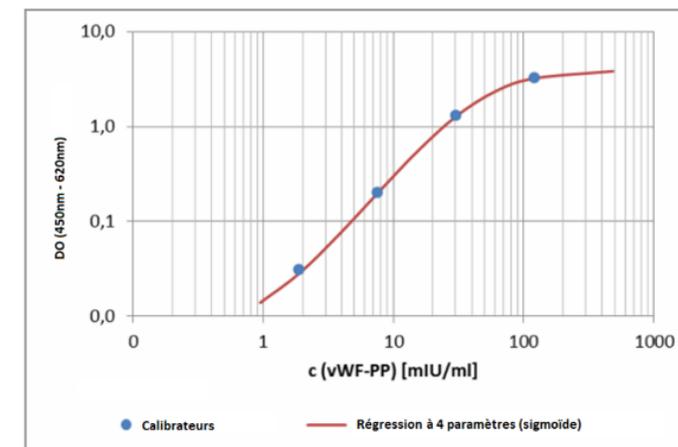
Référence : 33-13.02.095.0096

- ✓ Ce dosage permet en association avec le VWF:AG de caractériser le type de déficit en VWF.
- ✓ Ce test s'effectue sur des échantillons de plasma citraté
- ✓ Expression des résultats en mUI/mL (1 UI/mL = 100%)
- ✓ Possibilité de tester l'échantillon avec 2 dilutions en simple
- ✓ Les plasmas de contrôle et de calibration sont testés et comparés à l'étalon international SSC/ISTH
- ✓ Intervalle de référence de VWFpp = 550-2190 mUI/mL
- ✓ Limite de détection basse VWFpp = 2,5 mUI/mL
- ✓ Limite de quantification VWFpp = 5 mUI/mL
- ✓ Intervalle de mesure VWFpp = 2,5 – 120 mUI/mL
- ✓ Peut être testé sur des plasmas : Faiblement hémolysés
[Bilirubine] < 80 µg/mL
[Triglycérides] < 3,5 mg/mL



Comparaison de la méthode ELISA à une méthode de référence

- Coefficient de corrélation de 0,9037 entre les 2 méthodes



**Test rapide
et facile**

**Bonne
spécificité**

RUO

INTER-ARRAY VWF:PP ELISA

**Bonne
sensibilité**

**Test prêt
à l'emploi**

**Bonne stabilité
et conservation**

Produits associés pour la détection du VWF



TECHNOZYM® vWF:Ag ELISA



Coffret ELISA pour la détermination antigénique du facteur von Willebrand dans le plasma et les concentrés plasmatiques en utilisant 2 anticorps polyclonaux



TECHNOZYM® vWF:CBA ELISA



Coffret ELISA pour le dosage du facteur von Willebrand basé sur sa capacité de liaison au collagène de type I, III et VI. *
Le TECHNOZYM® vWF:CBA ELISA permet la détermination antigénique du facteur von Willebrand dans le plasma humain par méthode ELISA

*Il existe d'autres coffrets.



TECHNOZYM® ADAMTS13 Activity/Antigen ELISA



Le coffret TECHNOZYM® ADAMTS13 Activity/Antigen ELISA permet la détermination de l'activité et de l'antigène de l'ADAMTS-13 par fluorimétrie à 360/460 nm

INTER-ARRAY VWF:PP ELISA



fzmb GmbH, Forschungszentrum für Medizintechnik
und Biotechnologie Geranienweg 7
| 99947 Bad Langensalza | Germany
Telephone +49 (0)3603/833-0
Telefax +49 (0)3603/833-150



Contact:

Norbert BENATTAR
Tél : 04 67 10 71 20
Tél : 05 17 33 01 25
contact@cryopep.com
norbert.benattar@cryopep.com

