

Aplicación

Inmunoensayo automatizado en los Sistemas de Coagulación de IL, para la determinación cuantitativa de Factor von Willebrand Antigénico (FVW:Ag), en plasma humano citratado por turbidimetría de partículas de látex.

Principio

El diagnóstico de la enfermedad de von Willebrand (EVW), probablemente uno de los desórdenes hemorrágicos más comunes, requiere un número elevado de pruebas especiales de laboratorio.¹ Entre ellas, la determinación de FVW:Ag es esencial y debe realizarse a cada paciente para llegar a un diagnóstico correcto.¹ Dependiendo de los resultados obtenidos, la EVW se clasifica en tipo 1 (el más frecuente, representando un 70-80% de la EVW) y tipos 2 y 3 (1-3% de la EVW).^{2,3} El tipo 1 muestra una disminución del FVW aunque su estructura y funcionalidad es correcta. En el tipo 3, la cantidad de FVW en plasma es casi nula. En el tipo 2, la cantidad de FVW es normal o está ligeramente reducida, pero su estructura molecular y su funcionalidad son anormales. El tipo 2 puede a su vez clasificarse en subtipos mediante el análisis de la distribución de multímeros del FVW. Además de la EVW hereditaria descrita anteriormente, también se ha descrito la EVW adquirida, generalmente debida a la presencia de autoanticuerpos o a otras enfermedades que pueden provocar una disminución de la síntesis de FVW. Por otro lado, enfermedades inflamatorias agudas o crónicas, o procesos que alteren el endotelio vascular pueden ocasionar valores anormalmente elevados de FVW.⁴

El ensayo FVW:Ag es una inmunoturbidimetría amplificada con partículas de látex que permite cuantificar FVW:Ag en plasma. Cuando se mezcla un plasma que contiene FVW:Ag con el Reactivo Látex y el Tampón de Reacción, las partículas de látex aglutinan. El grado de aglutinación es directamente proporcional a la concentración de FVW:Ag contenida en el plasma y se determina midiendo el descenso de la luz transmitida causado por los agregados.⁵

Composición

El kit HemosIL von Willebrand Factor Antigen contiene:

[R] Latex Reagent (Núm. Cat. 0020002310): 2 viales de 3 mL de una suspensión de partículas de látex de poliestireno a las que se les ha unido un anticuerpo policlonal de conejo específico contra FVW. Contiene albúmina de suero bovino, tampón, estabilizante y conservante.

[B] Reaction Buffer (Núm. Cat. 0020002320): 2 viales de 4 mL de tampón HEPES que contiene albúmina de suero bovino, estabilizantes y conservante.

MEDIDAS DE PRECAUCIÓN Y ADVERTENCIAS:

Indicaciones de Peligro: **Ninguna**

Frases de Riesgo: **Ninguna**

Frases de Seguridad: **Ninguna**

Todos los reactivos contienen menos de un 0,1% de azida sódica, que puede reaccionar con las tuberías metálicas dando lugar a azidas altamente explosivas. Tomar las precauciones adecuadas para su desecho. Este producto es para diagnóstico *in vitro*.

Preparación

Latex Reagent: Mezclar por inversión del vial.

Reaction Buffer: Mezclar por inversión del vial.

Nota: Evitar la formación de espuma al mezclar los reactivos. Las burbujas en la superficie del líquido pueden interferir con los sensores de nivel de líquido de los Instrumentos.

Conservación y estabilidad de los reactivos

Los viales que no hayan sido abiertos y se hayan conservado a 2-8°C son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Los viales abiertos son estables durante 3 meses a 2-8°C en el vial original o 1 semana a 15°C en los Sistemas ACL ELITE®/ELITE PRO®/6/9/10000, ACL Futura/ACL Advance y en la Familia ACL TOP®. No congelar.

Para una óptima estabilidad, sacar los reactivos de los instrumentos y conservarlos a 2-8°C en sus viales originales bien tapados.

Método de ensayo

Las instrucciones completas del ensayo se encuentran en el correspondiente Manual del Usuario del Instrumento y/o en el Manual de Aplicaciones.

Recolección y preparación de las muestras

Recoger nueve partes de sangre recién extraída por punción venosa sobre una parte de anticoagulante citrato trisódico (3,2%). Para la recolección, manejo y conservación del plasma seguir las recomendaciones del Documento H21-A5 del NCCLS.⁶ Si se han congelado las muestras, descongelarlas a 37°C durante por lo menos 15 minutos y centrifugarlas antes de analizarlas. Se debe realizar el ensayo de las mismas antes de transcurridas 2 horas de su descongelación y centrifugación.

Reactivos y plasmas de control adicionales

Los siguientes materiales no se suministran con el kit y deberán pedirse por separado.

	América y Área del Pacífico Núm. Cat.	Europa Núm. Cat.
Plasma de calibración	0020003700	0020003700
Control Normal	0020003120	0020003110
Control de Técnicas Especiales Nivel 1	0020011000	0020011000
Control de Técnicas Especiales Nivel 2	0020012000	0020012000
Diluyente de factores	0009757600	0009757600

Control de Calidad

Para realizar un programa completo de control de calidad, se recomienda el uso de dos niveles de control, normal y patológico.⁷ El Control Normal, el Control de Técnicas Especiales Nivel 1 (que contiene un nivel de FVW:Ag dentro del rango de normalidad) y el Control de Técnicas Especiales Nivel 2 (que contiene un nivel deficiente de FVW:Ag) cumplen con los requisitos del programa. Cada laboratorio debe establecer su propia media y desviación estándar, y debe realizar un programa de control de calidad para monitorizar sus resultados. Los controles deben ser analizados como mínimo una vez por cada turno de 8 horas, de acuerdo con la normativa de Buenas Prácticas del Laboratorio. El Manual del Usuario contiene información adicional. Consultar la publicación de Westgard *et al* para la identificación y resolución de situaciones anormales del control de calidad.⁸

Resultados

Los resultados de FVW:Ag se informan en % de normalidad. Para establecer un diagnóstico, los resultados del análisis deben ser usados conjuntamente con el resto de información, incluyendo el contexto clínico.

Limitaciones/interferencias

Concentraciones de hemoglobina hasta 80 mg/dL, de bilirrubina hasta 10 mg/dL y de lípidos hasta 1000 mg/dL no afectan a los resultados de FVW:Ag en los sistemas ACL Futura/ACL Advance. Concentraciones de hemoglobina hasta 90 mg/dL, de bilirrubina hasta 15 mg/dL y de lípidos hasta 750 mg/dL no afectan a los resultados de FVW:Ag en los sistemas ACL. La presencia de factor reumatoide en la muestra puede producir resultados falsamente positivos. Concentraciones de hemoglobina hasta 120 mg/dL, de bilirrubina hasta 14 mg/dL, de triglicéridos hasta 1500 mg/dL y de factor reumatoide hasta 750 UI/mL no afectan a los resultados de FVW:Ag en la Familia ACL TOP.

Valores esperados

Se ha realizado un estudio del rango de normalidad utilizando el kit FVW:Ag en los Sistemas de Coagulación de IL.

Grupo Sanguíneo ⁹	N	Familia ACL (% FVW:Ag)	ACL Futura/ACL Advance (% FVW:Ag)
O	58	41,1 - 125,9	40,6 - 122,0
A + B + AB	56	61,3 - 157,8	61,3 - 152,6

Estos resultados se han obtenido con varios lotes de reactivos. Los rangos (media \pm 2DS) se han obtenido después de analizar una serie de plasmas de donantes adultos de banco de sangre.

En otro estudio realizado utilizando 252 muestras individuales de donantes de banco de sangre, se obtuvieron los siguientes resultados:

Grupo Sanguíneo ⁹	N	Familia ACL TOP (% FVW:Ag)
O	126	42,0 - 140,8
A + B + AB	126	66,1 - 176,3

Los rangos han sido calculados tal como recomienda la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC).¹⁰ Estos resultados se han obtenido utilizando un lote específico de reactivo.

Debido a las muchas variables que pueden afectar a los resultados, cada laboratorio debe establecer su propio rango de normalidad de FVW:Ag.

Características técnicas**Precisión:**

El estudio de precisión intraserie y total (serie a serie y día a día) fue realizado en diferentes series.

Familia ACL	Media (% FVW:Ag)	CV% (Intraserie)	CV% (Total)
Control Normal	105,0	1,3	1,6
Control de Técnicas Especiales Nivel 1	80,8	1,3	2,2
Control de Técnicas Especiales Nivel 2	33,7	2,2	3,0

ACL Futura

ACL Advance	Media (% FVW:Ag)	CV% (Intraserie)	CV% (Total)
Control Normal	107,0	3,0	3,2
Control de Técnicas Especiales Nivel 1	79,5	2,5	3,7
Control de Técnicas Especiales Nivel 2	35,5	3,2	4,6

Familia ACL TOP

	Media (% FVW:Ag)	CV% (Intraserie)	CV% (Total)
Control Normal	123,5	2,0	3,0
Control de Técnicas Especiales Nivel 1	68,1	2,9	4,2
Control de Técnicas Especiales Nivel 2	32,0	4,7	5,7

Correlación:

Sistema	Pendiente	Intersección	r	Método de referencia
Familia ACL	1,00	-2,2	0,996	FVW:Ag EIA
ACL Futura/ACL Advance	1,03	-3,8	0,997	FVW:Ag EIA
Familia ACL TOP	0,97	2,2	0,995	FVW:Ag en ACL Advance

La precisión y los datos de correlación se han obtenido usando lotes específicos de reactivos y de controles.

Límite de detección:**Sistema**

Familia ACL y ACL Futura/ACL Advance	3,5 (% FVW:Ag)
Familia ACL TOP	2,2 (% FVW:Ag)

Linealidad:**Sistema**

Familia ACL y ACL Futura/ACL Advance	10 - 150 (% FVW:Ag)
Familia ACL TOP	8,5 - 250 (% FVW:Ag)

Sin efecto de prozona hasta 1600%.

Si se excede el rango de linealidad, las muestras deben diluirse 1:4 con el Diluyente de factores (100 μ L de muestra + 300 μ L de Diluyente) y reanalizarse. Este proceso debe repetirse si el resultado es nuevamente superior al 600% o al 1000% dependiendo del Instrumento (factor de dilución 1:16). Los resultados obtenidos deben multiplicarse por el factor de dilución 4 o 16 (según el número de pasas realizados). Los Instrumentos con posibilidad de activar la función Auto Run, realizan automáticamente la dilución de las muestras y la corrección del resultado.