

Pág. 1: Evaluación de una tromboplastina para determinación del tiempo de Quick

Pág. 4: Hipogammaglobulinemia transitoria en la infancia

Boletín del Servicio Bibliográfico de Wiener Laboratorios S.A.I.C.

<http://www.wiener-lab.com.ar>

Año XXXVIII - Junio 2004

Director: Gustavo A. Capriotti - Redactor: Cristina M. Crepaldo - Editor Responsable: Wiener Laboratorios S.A.I.C. - 2000 - Rosario - Argentina

Evaluación de una tromboplastina para determinación del tiempo de Quick

Tallano, C.E.; Crepaldo, C.M.; Capriotti, G.A.
Centro de Investigación y Biotecnología
Wiener Laboratorios S.A.I.C. - Rosario - Argentina.

Los anticoagulantes orales son ampliamente utilizados para la profilaxis y tratamiento de la trombosis venosa y en la prevención de episodios embólicos arteriales. Los anticoagulantes orales son antagonistas de la vitamina K, que reducen los niveles funcionales de las proteínas vitamina K dependientes: factores II, VII, IX, X, proteína C y proteína S.

Los tratamientos con anticoagulantes orales deben ser regularmente controlados a fin de asegurar que la medicación se administre en el rango terapéutico adecuado, teniendo en cuenta que este rango depende de la respuesta de cada individuo. El tiempo de protrombina es el método más utilizado debido a que es sensible particularmente a los factores de coagulación vitamina K dependientes: factores II, VII y X.

La ausencia de standardización en la metodología, específicamente en relación con el tipo de tromboplastina utilizada, complicó durante mucho tiempo su utilización debido a la variabilidad de los resultados.

La obtención de datos divergentes para

la misma muestra, utilizando distintas tromboplastinas, podría conducir a un monitoreo inapropiado de la terapia.

La necesidad de standardizar los resultados obtenidos con tromboplastinas de distinto origen, llevó al desarrollo de la Razón Internacional Normalizada (RIN), aprobada por el Comité de Expertos de la WHO en 1983.

El RIN introduce el uso del ISI (Índice de Sensibilidad Internacional) para la tromboplastina utilizada. Los elaboradores de tromboplastina asignan un ISI a cada lote de reactivo luego de comparar el funcionamiento de ese lote con un reactivo de referencia calibrado con un Standard Internacional aceptado de ISI = 1,0. El valor de ISI es crítico para el cálculo del RIN ya que el ISI es el exponente de la fórmula.

Cuanto mayor sea el ISI, menor será la precisión de la prueba y habrá una pobre discriminación entre los resultados en individuos normales y los obtenidos en pacientes bajo tratamiento anticoagulante, estrechándose el rango terapéutico en el que se trabaja.

Cuanto menor sea el ISI, más sensible

El control de la terapia anticoagulante oral con antagonistas de la vitamina K (dicumarínicos) requiere el monitoreo permanente de la dosis administrada. El método de elección es la determinación del tiempo de protrombina (TP). El TP es una técnica simple, aunque hasta hace no mucho tiempo resultaba difícil su standardización debido a que las tromboplastinas de distinto origen producían respuestas diferentes. El uso del RIN (Razón Internacional Normalizada) ha permitido obtener resultados comparables entre laboratorios, independientemente de la tromboplastina utilizada por el mismo.

será el reactivo y más cercano el RIN a los cocientes de protrombina observados. Esto hace que los elaboradores de tromboplastinas se esfuercen por obtener ISIs cada vez más cercanos a 1,0 (en general menores a 1,5), es decir lograr tromboplastinas más sensibles.

El objeto del presente estudio es evaluar el funcionamiento de un reactivo para determinación del tiempo de protrombina (Soluplastin - Wiener lab.) a fin de establecer su aptitud para el monitoreo de la terapia anticoagulante oral.

Material y métodos

El kit en estudio, Soluplastin de Wiener lab., es una tromboplastina de cerebro de conejo liofilizada, destinada a la determinación del tiempo de protrombina (tiempo de Quick en una etapa).

Esta evaluación se llevó a cabo en forma manual, utilizando la técnica indicada en el manual de instrucciones del reactivo y en el coagulómetro Fibrintimer II.

La evaluación comprendió:

- Sensibilidad al factor V.
- Sensibilidad al factor VII.
- Asignación del ISI.
- Comparación con otras tromboplastinas comerciales.

Sensibilidad al factor V

A un plasma deficitario en factor V, se le adicionaron cantidades crecientes de un pool de plasmas normales (100% del factor V) a fin de obtener distintos niveles del factor correspondiente.

A cada una de estas muestras se le realizó por duplicado el Tiempo de Protrombina (TP) en forma manual y se calculó el Desvío Relativo Porcentual referido a la muestra con 100% del factor V. Los resultados se observan en la figura 1.

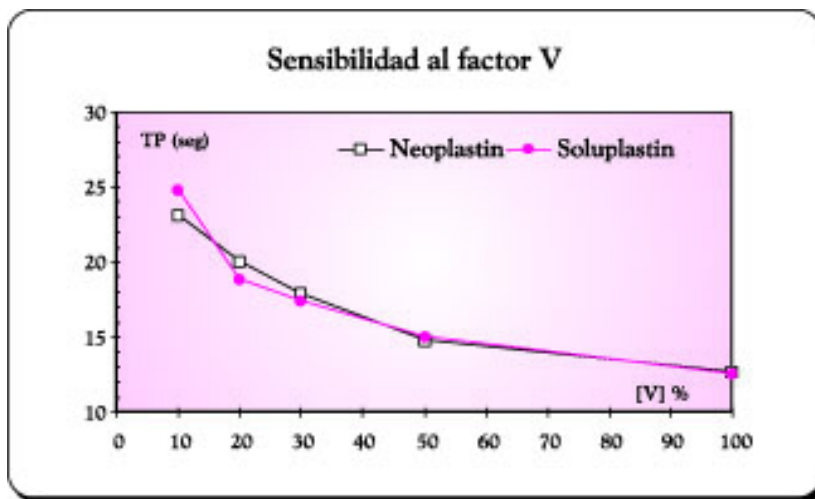


Figura 1

Sensibilidad al factor VII

A un plasma deficitario en factor VII se le adicionaron cantidades crecientes de un pool de plasmas normales (100% del factor VII) a fin de obtener distintos niveles del factor correspondiente (Figura 2). A cada una de estas muestras se le realizó por duplicado el Tiempo de Tromboplastina (TP) en forma manual y se calculó el Desvío Relativo Porcentual referido a la muestra con 100% del factor VII.

Asignación del ISI

Se realizó comparando los Tiempo de Protrombina (TP) obtenidos con el lote

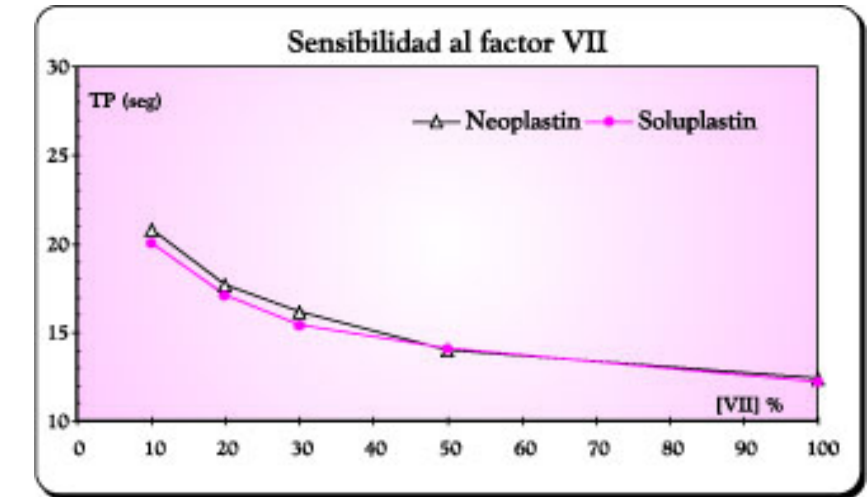


Figura 2

de regresión ortogonal por el ISI del Reactivo Referencia.

El lote Referencia interno corresponde a un reactivo que ha sido calibrado frente al Tercer Material de Referencia de Tromboplastina de conejo CRM 149 S (Material de Referencia Internacional vigente). Los resultados se observan en la siguiente tabla:

Valores de ISI obtenidos	Referencia	Reactivo en ensayo
Manual	1,32	1,22
Fibrintimer II	1,34	1,25

Comparación con tromboplastinas comerciales

Para comparar el comportamiento del reactivo en ensayo con el de otros reactivos comerciales, se ensayaron simultáneamente muestras correspondientes a individuos aparentemente sanos, sin patología subyacente, y a pacientes tratados con anticoagulantes orales (dicumarínicos) en todo el rango terapéutico. Luego se correlacionaron los RIN de cada kit comercial vs. los RIN para el reactivo en ensayo.

Los reactivos comerciales empleados en la evaluación fueron:

- Simplastin Excel S - Biomérieux - lote 161720 - Tromboplastina de cerebro de conejo.
- Neoplastin plus - Stago - lote 632713-01 - Tromboplastina de cerebro de conejo.

- Hemolab Isimat 1 - Biomérieux - lote 768102501 - Tromboplastina placentaria humana.

- Thromborel S - Dade Behring - lote 505631 - Tromboplastina placentaria humana.

Los resultados de la comparación se observan en las figuras 3 a 6

Conclusiones

Soluplastin de Wiener lab. reveló una adecuada sensibilidad a los factores V y VII, lo que lo hace un test sensible en el screening de alteraciones en la vía extrínseca de la coagulación (enfermedades hepática, inhibidores y/o déficit de factores).

La sensibilidad del reactivo al factor VII lo hace aplicable en el monitoreo de la terapia con anticoagulantes orales, dado que por ser el factor de menor vida media en plasma (dentro de los factores vitamina K dependientes), es el primero en disminuir su concentración bajo la influencia de los antagonistas de la vitamina K.

La sensibilidad del reactivo en ensayo es acorde a lo recomendado por Comités Internacionales de Expertos en Hemostasia y Trombosis (ISI < 1,3).

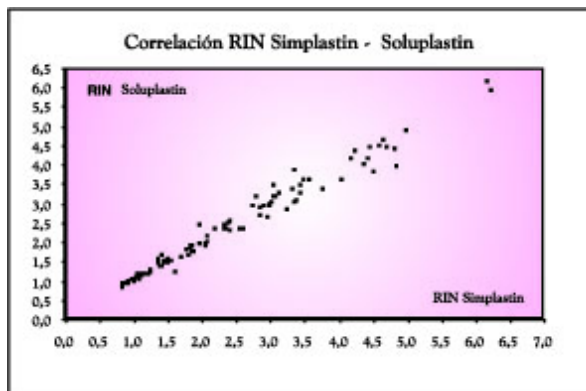
La calibración del sistema en estudio con los actuales Standards Internacionales, nos permite asegurar que los resultados obtenidos con Soluplastin de Wiener lab. serán comparables a aquellos que se obtendrían con el Primer Standard Internacional de Tromboplastina (WHO 67/40).

Dada la aceptable correlación obtenida entre Soluplastin de Wiener lab. y los reactivos comerciales comparados, tanto de igual como de diferente origen de tromboplastina, se puede considerar una equivalencia de los resultados obtenidos, independientemente de la tromboplastina utilizada por el laboratorio.

Bibliografía

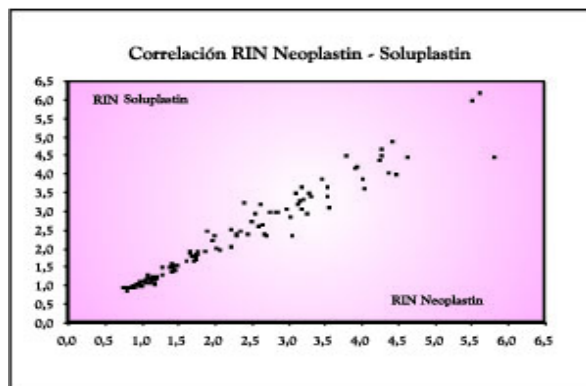
- WHO - Technical Report Series N°: 687, 1983.

- Taberner D., Poller L, Thomson J., Darby K. - Clin. Pathol. 42/92, 1989.



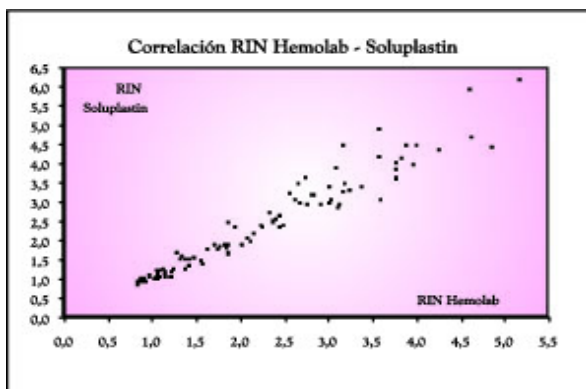
a: 0,1236
b: 0,9367
r: 0,9886

Figura 3



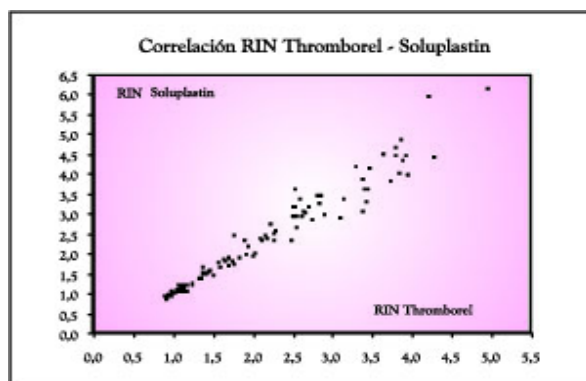
a: 0,0982
b: 0,9759
r: 0,9748

Figura 4



a: -0,0823
b: 1,0964
r: 0,9680

Figura 5



a: -0,1984
b: 1,1963
r: 0,9765

Figura 6



Hipogammaglobulinemia transitoria en la infancia (HTI)

Knutsen, Alan P. - Pediatric Clinical Immunology Laboratory - Saint Louis University Health Sciences Center

La HTI es una inmunodeficiencia primaria relativamente común que afecta a niños pequeños.

Luego del nacimiento, la inmunoglobulina G (IgG) de la madre es catabolizada mientras comienza a acumularse gradualmente la IgG sintetizada por el niño. Los niveles séricos alcanzan su punto más bajo fisiológico entre los 2 y los 6 meses.

Los pacientes con HTI presentan un aumento en la frecuencia de infecciones respiratorias de las vías superiores, especialmente otitis media y sinusitis.

Características

La HTI se caracteriza por un descenso de IgG e IgA a niveles menores de 2 desviaciones standard (DS) del valor promedio de referencia del primer año de vida. Estos niveles habitualmente vuelven a los niveles de referencia entre los 2 y 6 años.

Se ha observado que en la HTI existe un descenso de la función T-helper responsable por el descenso en la síntesis de IgG e IgA. No se observa defecto en las células B. Esto contrasta con otras agammaglobulinemias en las que el responsable es un defecto intrínseco de las células B. La formación de anticuerpos luego de inmunizaciones es fácilmente detectada en la HTI, aunque la respuesta es menor que en los controles sanos. Ocurre en individuos de cualquier origen étnico. Su frecuencia se ha estimado en un caso cada 10.000 nacimientos y su forma de herencia es desconocida. No existen diferencias por sexo. Los pacientes frecuentemente tienen historia de otras inmunodeficiencias primarias como la deficiencia selectiva de IgA.

La HTI es una inmunodeficiencia congénita que se manifiesta luego de catabolizada la IgG materna, generalmente a los 6 meses de edad. La mayoría de los niños afectados superan este desorden

entre los 2 y 6 años cuando los niveles de IgG, IgA e IgM se normalizan, así como la respuesta al estímulo por antígenos polisacáridos y proteicos.

Historia

A los 6 meses de edad aproximadamente, los niños con HTI comienzan a sufrir en forma frecuente y recurrente, otitis media, sinusitis y bronquitis. También se producen rinitis alérgicas y asma. En cambio no son frecuentes neumonías o infecciones bacterianas graves o fatales. Ocasionalmente se han descrito síntomas relacionados con alergia gastrointestinal.

En el examen físico no se hallan anormalidades.

Causas

Siegal y cols. informan una disminución de la función de células CD4+, T-helper y una disminución de la síntesis de IgG e IgA en las células B.

La respuesta a antígenos proteicos es normal o cercana a la normal. Sin embargo en algunos pacientes existe una deficiencia selectiva de anticuerpos contra antígenos polisacáridos bacterianos (por ejemplo inmunizaciones con neumococos) caracterizada por la deficiencia de anticuerpos IgA/IgG-2 o IgG-2. Este parece ser un defecto de

maduración del niño dado que en la mayoría de los casos el problema se soluciona con la edad.

La HTI, por lo tanto puede representar un defecto de maduración que afecta las células CD4+ y/o células presentadoras de antígenos.

Laboratorio

En la evaluación de la HTI, las IgG séricas decrecen a menos de 2 DS respecto a los valores de referencia para la edad. A veces, aunque no en todos los casos, la IgA sérica también decrece, aunque la IgM se encuentra en los valores de referencia. La medida de las células T, B y NK por citometría de flujo revela porcentaje y número normales de células B. El porcentaje de células T CD3+ y CD4+ puede estar ligeramente disminuido pero el número de células T y su función es normal. La función de las células T puede ser estudiada por una prueba cutánea de hipersensibilidad tardía (DTH) o respuesta linfoproliferativa "in vitro". La determinación de título de anticuerpos ante una inmunización (ej. toxina tetánica, diftérica, vacunas conjugadas para influenza o polio) revela títulos normales. Esto distingue la HTI de otras formas más serias de desórdenes inmunológicos que afectan a células B y T.

Tratamiento

El tratamiento médico es conservativo y depende de la severidad de las infecciones y de la respuesta del paciente a la terapia. En muchos casos un tratamiento antibiótico apropiado es suficiente. En algunos casos se administran antibióticos en forma profiláctica. Muy raramente se requiere una terapia de reemplazo de anticuerpos con inmunoglobulinas. La rinitis alérgica si se encuentra presente se trata con corticosteroides nasales tópicos y antihistamínicos ya que pueden contribuir a otitis media recurrente y sinusitis.

En el niño con HTI se continúa con los programas de vacunación habituales para cada edad.

