

COMPARAISON DE 3 METHODES DE MESURE DE L'ACTIVITE COFACTEUR DE LA RISTOCETINE DU FACTEUR WILLEBRAND (VWF:RCo)

Bérangère Joly¹, Sylvaine Savigny¹, Sophie Capdenat¹, Sandrine Benghezal¹, Nathalie Itzhar-Baikian¹, Alain Stepanian¹, Agnès Veyradier¹

¹ Hématologie biologique, Hôpital Lariboisière, APHP, Université Denis Diderot, Paris 7, Paris

INTRODUCTION

Facteur Willebrand (VWF)

Glycoprotéine multimérique indispensable à l'adhésion des plaquettes au sous-endothélium et à l'agrégation plaquettaire.

Maladie de Willebrand (VWD)

- Pathologie hémorragique héréditaire due à un déficit en VWF
 - VWD type 1 : déficit quantitatif partiel (50-75% des déficits)
 - VWD type 2 : déficit qualitatif (20-45% des déficits)
 - VWD type 3 : déficit quantitatif total (5% des déficits)
- Grande hétérogénéité clinique et biologique

Syndrome de Willebrand acquis (AVWS)

- Déficit acquis en VWF (2% des déficits)

Activité cofacteur de la ristocétine du VWF (VWF:RCo)

- Méthode de référence pour mesurer la fonction du VWF**
- Evaluer la capacité du VWF à interagir avec des plaquettes normales en présence de ristocétine grâce à un test d'agglutination → mélange de plaquettes normales fixées, lyophilisées + ristocétine (1-1,5 mg/ml) + dilutions de plasma pauvre en plaquettes
- Test dépendant du site de liaison du VWF à la GpIbα et à la présence de multimères de haut poids moléculaires du VWF
- Mesuré manuellement par un test d'agglutination sur lame (mesure semi-quantitative) ou par agrégométrie (mesure de la pente d'agrégation)
- Mesuré par des méthodes automatisées dépendantes des lots de plaquettes ; variabilité des performances analytiques

PATIENTS ET MÉTHODES

Patients

Etude rétrospective

- 35 plasmas congelés (plasmathèque du laboratoire investigateur)
 - 21 patients atteints d'une VWD ou d'un AVWS préalablement diagnostiqués et recrutés dans le cadre de leur suivi habituel au sein d'une consultation d'hémostase : 11 VWD type 1 (dont 4 type « Vicenza »), 8 VWD type 2, 2 AVWS
 - 14 sujets témoins présumés sains recrutés dans le cadre d'une consultation d'anesthésie pré-opératoire
 - Consentement oral des patients éligibles (note d'information)
- Valeurs de VWF:RCo testées → de 5 à 150 UI/dL

Méthodes

- Dosage de référence des taux plasmatiques de VWF:RCo**
 - VWF:RCo <25 UI/dL → test d'agglutination sur lame
 - VWF:RCo >25 UI/dL → BC Von Willebrand reagent® (Siemens) sur automate STA-R
- Méthode testée : ABP VWF Ricof Assay® (Stago) sur STA-R**
 - Principe : activation du VWF plasmatique par la ristocétine en présence de plaquettes stabilisées
 - Evaluation de la performance du coffret
 - 3 lots

OBJECTIFS

- Etude de la concordance des différentes méthode de dosage du VWF:Rco (méthode testée vs méthodes de référence)
- Mesure de la répétabilité et de la reproductibilité du coffret ABP VWF Ricof Assay® et comparaison des 3 lots

RÉSULTATS

Performance de la technique ABP VWF Ricof Assay®

- Essais de répétabilité et de reproductibilité réalisés sur les contrôles :
 - Contrôle STA-Liatest CN (taux moyen de VWF:RCo : 65 UI/dL)
 - Contrôle STA-Liatest CP (taux moyen de VWF:RCo : 31 UI/dL)
 - Contrôle interne ABP (taux moyen de VWF:RCo : 31 UI/dL)
 - Cf Tableau ci-contre (n = 15 à 20 mesures)
- Taux de VWF:RCo <10 UI/dL non mesurables
- Corrélation inter-lots satisfaisante ($r^2 \geq 0.98$) pour les valeurs de VWF:RCo > 10 UI/dL
- Bonne corrélation globale à la méthode de référence ($r^2 \geq 0.98$)
- Tendance à surestimer les valeurs de VWF:RCo (test de Bland-Altman) en particulier dans la zone de mesure de 11 à 25 UI/dL

Corrélations entre les 3 lots du coffret ABP VWF Ricof Assay®

- 5 patients VWD dont le VWF:RCo <10 UI/dL exclus des corrélations
- $r^2 \geq 0,98$ pour les droites de corrélations entre les 3 lots du coffret

Corrélations entre la méthode ABP VWF Ricof Assay® et les méthodes de référence

- $r^2 \geq 0,98$ pour les 3 lots de réactif ABP VWF Ricof Assay®
- Tendance à la surestimation des valeurs par le test ABP VWF Ricof Assay® (test de Bland-Altman)

ABP VWF Ricof Assay®	Lot 4 CV (%)	Lot 5 CV (%)	Lot 6 CV (%)
Répétabilité STA-Liatest CN	5,64	4,65	3,34
Répétabilité STA-Liatest CP	8,18	2,79	2,63
Écart entre duplicate Plasmas sujets témoins Plasmas VWD / AVWS	6,13 6,95	5,25 8,67	5,97 7,83
Reproductibilité STA-Liatest CN	7,69	7,88	6,80
Reproductibilité STA-Liatest CP	9,17	6,06	8,64
Reproductibilité Contrôle interne ABP	11,34	11,40	9,49

CONCLUSION

- Les 3 lots de réactif ABP VWF Ricof Assay® testés sont globalement équivalents en terme de répétabilité, reproductibilité et corrélation aux méthodes de référence (lot 6 : meilleure répétabilité et reproductibilité).
- La répétabilité et la reproductibilité du réactif ABP VWF Ricof Assay® sont satisfaisantes .
- La détermination du seuil de détection n'a pas été réalisée dans cette étude.
- Nous recommandons de contrôler systématiquement en agglutination sur lame les valeurs de VWF:RCo ≤25 UI/dL dans un souci de précision de la mesure, de manière similaire à notre pratique avec le BC von Willebrand reagent®.
- Le réactif ABP VWF Ricof Assay® est au moins équivalent au BC Von Willebrand reagent® pour dépister un déficit en VWF, dans notre étude.
- Le réactif ABP VWF Ricof Assay® peut être utilisé comme test automatisé de première intention pour la mesure du VWF:RCo.