



Taller de Casos Clínicos

“Diagnóstico de Laboratorio en la Enfermedad de von Willebrand”

Grupo de Trabajo Laboratorio

Coordinadores: Dra. Alicia Blanco, Dra. Analía Sánchez Luceros

Participantes: Estuvieron a cargo de las presentaciones los bioquímicos Yanina Rico (La Plata), Celia Asamé (Neuquén), Eugenia Kordys (Mendoza), Fernanda L. González (Córdoba), Santiago Castera (CABA) y la médica hematóloga Carina Gumpel (Rosario).

Asistentes: Participaron del taller 120 personas conectadas de modo remoto, de diferentes lugares del país y de la región (22 CABA, 12 Buenos Aires, 8 Córdoba, 4 Santa Fe, 3 Chubut, 3 Mendoza, 3 Salta, 2 San Luis, 2 Tucumán, 1 Corrientes, 1 Chaco, 1 Neuquén, 1 Tierra del Fuego, 1 Colombia, 2 Costa Rica).

Al finalizar la actividad se registraron 66 profesionales (43 bioquímicos, 20 médicos, 2 microbiólogos, 1 técnico) solicitando la entrega del certificado.

Puntos importantes y/o críticos, surgidos de la presentación y discusión de las ponencias.

-Evaluación clínica, antecedentes personales y familiares de sangrado: críticos al momento de decidir el estudio (1, 2).

-Condiciones preanalíticas:

-Estudios solicitados, tipo y momento del estudio (no en agudo, efecto de sangrado, anemia, drogas, ciclo menstrual/hormonas, etc.) (3, 4, 5, 6, 7).

-Preparación del paciente (considerar condiciones tales como dieta, ejercicio, estrés, medicación, etc.) (3, 4).

-Toma, procesamiento y conservación de las muestras (2, 3).

Recordar que se halla-disponible la guía CLSI H21 para los socios del CAHT. En ella se encuentran especificadas condiciones preanalíticas para ensayos de coagulación; mostramos a continuación algunas relativas al diagnóstico de enfermedad de von Willebrand (VWD).

Condiciones preanalíticas del paciente que pueden afectar los resultados

- **Embarazo**
- **Estrés físico**
- **Dieta**
- **Productos derivados de sangre**
- **Concentrados de factores**
- **ABO**
- **Etapa del ciclo menstrual**
- **Terapia con DDAVP**

Table 2. Examples of Preeexamination Patient Factors That May Affect Test Results

Preeexamination Patient Factor	Potential Effect(s) or Comment
Pregnancy	Change to overall prothrombotic state with increases in fibrinogen, factor VIII, VWF, D-dimer, and decreased levels of free protein S. ²⁸⁻³⁰
Physical stress	Increases in positive acute phase reactants: factor VIII, fibrinogen, VWF, and C4BP (with subsequent decrease in free protein S).
Dietary influences	Nonfasting samples may be lipemic, which can interfere with some photophysical test methods.
Blood products (eg, FFP, cryoprecipitate) or factor concentrates for VKA reversal	<ul style="list-style-type: none"> • To assess response to transfusion, samples can be collected 30 minutes after infusion.¹¹ • To assess response to prothrombin complex concentrates or activated prothrombin complex concentrates, samples can be collected 15–30 minutes after infusion.¹⁰
Factor VIII and factor IX concentrates	<ul style="list-style-type: none"> • Timing of specimen collection for testing <p>Accurate measurement of modified recombinant factor VIII and factor IX therapeutic products is dependent on assay type (clotting vs chromogenic), clotting assay activator (eg, silica, ellagic acid, kaolin), and calibration material. Laboratories should evaluate their methodology to ensure acceptable recovery is obtained when postinfusion monitoring is requested.²⁶⁻²⁸</p>
ABO blood group and menstrual cycle	If the diagnosis of von Willebrand disease (particularly mild forms) is being considered, information on the ABO blood group and menstrual cycle would be useful. ³¹⁻³³
DDAVP therapy	<ul style="list-style-type: none"> • Samples for a desmopressin challenge test are typically collected at baseline and 30 minutes, 2 hours, 4 hours, and 6 hours after DDAVP administration.³⁴ • When administered intravenously, results in approximately a two- to fivefold increase in factor VIII and VWF with peak levels 30–90 minutes after infusion.³⁵

CLSI H21™
Collection, Transport, and Processing of
Blood Specimens for Testing Plasma-Based
Coagulation Assays

CLINICAL
LABORATORY
STANDARDS
INSTITUTE
6th Edition

Estabilidad de las muestras de sangre entera a temperatura ambiente

Assay	Stability of Whole Blood Specimens
APTT (not for heparin monitoring)	6 to 8 hours ^{28,79,85-89,91,94}
Factor VIII	4 to 6 hours ^{24,85,86,98}
VWF antigen and VWF RCo	48 hours ⁹⁸

Estabilidad del plasma pobre en plaquetas en diferentes condiciones

Assay	Processed and Plasma Aliquotted			
	Room Temperature (15 to 25°C)	Refrigerated (2 to 8°C)	Frozen (-20°C)	Frozen (-70°C)
APTT	6 h/24 h ⁵ ; 8 h/24 h ¹² ; 12 h/24 h ⁶	6 h/24 h ⁵ ; 12 h/24 h ^{12,8}	3 mo/4 mo ⁵ ; 8 mo/24 mo ⁶	24 mo/24 mo ⁵ ; 4 mo/4 mo ⁶
Factor VIII	2 h/24 h ¹ ; 3 h/6 h ¹³	2 h/24 h ¹ ; 3 h/6 h ¹³	3 mo/24 mo ⁴	18 mo/24 mo ⁴
VWF antigen	6 h/6 h ¹³	6 h/6 h ¹³	24 mo/24 mo ⁴	24 mo/24 mo ⁴
VWF RCo	6 h/6 h ¹³	6 h/6 h ¹³	No data	No data

CLSI H21™
Collection, Transport, and Processing of
Blood Specimens for Testing Plasma-Based
Coagulation Assays

CLINICAL
LABORATORY
STANDARDS
INSTITUTE
6th Edition

-Metodologías:

FVIII: estabilidad de la muestra, activación, sensibilidad del sistema de medida al defecto, interferencias (LA, otros, dependiendo de los reactivos) (3, 4, 8, 9).

VWF:Ag: medida de la concentración proteica; en general accesible, puede ser automatizada, buena estabilidad y reproducibilidad (4).

Actividad del VWF (VWF:ACT): críticas la solicitud, la elección de la metodología y la disponibilidad de las mismas (1, 2, 4, 10, 11, 12).

-Unión a GPIb α : diferentes principios, comparables en normales, diferente respuesta frente a diferentes defectos o variantes moleculares.

VWF:RCO interacción VWF \leftrightarrow Plaquetas; alta variabilidad (en especial por agregometría) y nivel mínimo de detección elevado comparado con otros métodos.

VWF:GPIbR interacción VWF \leftrightarrow GPIb α "wild type" en presencia de ristocetina

VWF:GPIbM interacción VWF \leftrightarrow GPIb α mutada (sin ristocetina)

-Unión a Colágeno (VWF:CB): diferentes principios y colágenos (I, III, IV, VI) diferente respuesta frente a diferentes defectos o variantes moleculares (1, 2, 4, 13).

VWF:Ab: No refleja actividad sino la presencia del sitio de unión a GPIb α . Se recomienda **no utilizarlo** (2).

RIPA: evidencia defecto severo del VWF; contribuye a diferenciar VWD2A/VWD2M de VWD2B (2, 4, 14).

RIPA dosis bajas: detecta hiper-respuesta; ganancia de función característica de VWD2B, clave en la detección de las formas con presencia de HMWM (2, 4, 14).

Respuesta a DDAVP: es una herramienta diagnóstica, más allá de evaluar la respuesta terapéutica; evidencia aumento de depuración, refleja el comportamiento del VWF liberado por acción de la desmopresina (1, 2, 10).

Multímeros: patrón, reflejo de la estructura molecular; indicado solo en situaciones especiales (1, 2, 14).

VWFpp: refleja la síntesis y depuración del VWF; indicado solo en situaciones especiales (1, 2, 14).

VWF:FVIIIB: Evalúa la interacción VWF \leftrightarrow FVIII; escasa disponibilidad y reproducibilidad; se prioriza el estudio genético (1, 2).

Genético: permite diferenciar entre fenocopias (VWD2B vs. PT-VWD; VWD2N vs. Hemofilia A), confirmar diagnósticos, caracterizar variantes y dilucidar genotipos complejos (1, 2, 15).

-Interpretación de los resultados: fundamental para analizar si se requiere reevaluar al paciente y/o familiares o completar la evaluación con nuevos estudios o si los resultados obtenidos permiten el diagnóstico y la clasificación del tipo de VWD. Las guías ASH ISTH NHF WFH 2021UKHCD0 BSH 2024 y otros grupos de trabajo proponen diferentes algoritmos diagnósticos (1, 2, 4, 16, 17).

-Cuestionarios previo y posterior al desarrollo de la actividad

Surgen de allí, el efecto producido por la actividad y los ítems a reforzar.

Las preguntas 4 y 6 iniciales revelan discrepancias en los conceptos del auditorio; en menor grado en la pregunta 5.

Analizando las respuestas del cuestionario final, el taller permitió aclarar los ítems planteados en 4 y 5; no el 6 (la presencia de LA no interfiere en la actividad de VWF) y generó dudas en el ítem 2 (bajó el número de respuestas satisfactorias).

66 resp.	Cuestionario Bienvenida	SI	NO	59 resp.	Cuestionario Final	SI	NO
1	¿Ud. tiene en cuenta las condiciones de estrés físico y emocional del paciente al momento de realizar la toma de muestra para el estudio de VWD?	92%	8%	1	¿Es importante evitar el estrés físico y emocional para realizar la toma de muestra de un paciente con sospecha de enfermedad de VWD?	98%	2%
2	¿Ante un paciente con antecedentes de sangrado cutáneo-mucoso, Ud. consideraría además de estudiar el VWF, evaluar la función plaquetaria?	97%	3%	2	¿Las manifestaciones de sangrado cutáneo-mucoso se asocian a alteraciones de la hemostasia primaria?	90%	10%
3	¿Ud. realiza diagnóstico de VWD midiendo exclusivamente la concentración proteica del VWF (VWF:Ag)?	8%	92%	3	¿Es suficiente determinar la concentración proteica del VWF (VWF:Ag) para diagnosticar VWD?	3%	97%
4	¿Ud. incluye el ensayo de RIPA a dosis bajas en el perfil de estudio para el diagnóstico VWD?	40%	60%	4	¿Es útil realizar el ensayo de RIPA a dosis bajas para el diagnóstico y clasificación de VWD?	98%	2%
5	¿Ud. evalúa el cociente entre VWF: ACT / VWF: Ag para el diagnóstico VWD?	86%	14%	5	¿Es necesario estimar el cociente entre VWF: ACT / VWF: Ag para clasificar VWD?	100%	0%
6	¿Si confirma la presencia de Anticoagulante Lípico en la muestra del paciente, Ud. realiza igualmente los ensayos para el estudio de VWD?	50%	50%	6	¿La presencia de Anticoagulante Lípico en la muestra del paciente, altera la actividad del VWF?	43%	57%

1-¿Es importante evitar el estrés físico y emocional para realizar la toma de muestra de un paciente con sospecha de enfermedad de VWD?

2-¿Las manifestaciones de sangrado cutáneo-mucoso se asocian a alteraciones de la hemostasia primaria?

a) Si 90% ↓98 a 90** b) No 10%

3-¿Es suficiente determinar la concentración proteica del VWF (VWF:Ag) para diagnosticar VWD?

a) Si 3%

b) No 97% ↑92 a 97

4-¿Es útil realizar el ensayo de RIPA a dosis bajas para el diagnóstico y clasificación de VWD?

a) Si 98% ↑↑↑40 a 98

b) No 2%

5-¿Es necesario estimar el cociente entre VWF: ACT / VWF: Ag para clasificar VWD?

6-¿La presencia de Anticoagulante Lúpico en la muestra del paciente, altera la actividad del VWF?

a) Si 43%**

b) No 57% ↑50 a 57

**Ítems a reforzar

En resumen, recordar:

-Es importante evitar el estrés físico y emocional al realizar la toma de muestra de un paciente con sospecha de enfermedad de VWD, como parte de la adecuada preparación del paciente.

- Las manifestaciones de sangrado cutáneo-mucoso **se asocian** a alteraciones de la hemostasia primaria. Esencial evaluar posibles defectos plaquetarios (cuantitativos/cualitativos).
- No basta determinar la concentración proteica del VWF (VWF:Ag) para diagnosticar VWD; se requiere evaluar la actividad del VWF, considerando las diferentes metodologías.
- Es útil realizar el ensayo de RIPA a dosis bajas para el diagnóstico y clasificación de VWD.
- Es necesario estimar el cociente entre VWF: ACT / VWF: Ag y el cociente entre FVIII / VWF:Ag para clasificar la VWD.
- El anticoagulante lúpico (LA) **no interfiere** en la actividad del VWF; sí puede afectar la actividad coagulante del FVIII, dependiendo de la sensibilidad del reactivo y equipo utilizado en la determinación.

Referencias:

- 1- *ASH ISTH NHF WFH 2021 guidelines on the diagnosis of von Willebrand disease.* James PD, Connell NT, Ameer B, Di Paola J, Eikenboom J, Giraud N, Haberichter S, Jacobs-Pratt V, Konkle B, McLintock C, McRae S, R Montgomery R, O'Donnell JS, Scappe N, Sidonio R, Flood VH, Husainat N, Kalot MA, Mustafa RA. *Blood Adv.* 2021 Jan 12;5(1):280-300. doi: 10.1182/bloodadvances.2020003265.
- 2- *Guideline for laboratory diagnosis and monitoring of von Willebrand disease: A joint guideline from the United Kingdom Haemophilia Centre Doctors' Organisation and the British Society for Haematology.* Platton S, Baker P, Bowyer A, Keenan C, Lawrence C, Lester W, Riddell A, Sutherland M. *Br J Haematol.* 2024 May; 204(5):1714-1731. doi: 10.1111/bjh.19385.
- 3- *CLSI. Collection, Transport, and processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assay.* 6th ed. CLSI guidelines H21. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2024.
- 4- *Laboratory diagnosis of von Willebrand disease in the age of the new guidelines: considerations based on geography and resources.* Favaloro EJ, Pasalic L. *Res Pract Thromb Haemost.* 2023 Jun 30;7(5):102143. doi: 10.1016/j.rpth.2023.102143.
- 5- *Elevated von Willebrand factor levels during heavy menstrual bleeding episodes limit the diagnostic utility for von Willebrand disease.* Brown MC, White MH, Friedberg R, Woods K, Childress K, Kulkarni M, Sidonio RF Jr. *Res Pract Thromb Haemost.* 2021 May 4;5(4):e12513. doi: 10.1002/rth2.12513.
- 6- *Association between hemoglobin values and VWF assays: a multicenter investigation.* Simoneau J, Tay C, Wheeler A, Amos L, McCormick M, Collado Y, Brown M, Weyand AC. *Blood Adv.* 2024 Mar 12;8(5):1152-1154. doi: 10.1182/bloodadvances.2023011910.
- 7- *Clotting Factor Concentration During Menstrual Phases in Women With and Without Heavy Menstrual Bleeding: A Systematic Review and Meta-Analysis.* de Vaan A, Goedkoop MM, Welsing PMJ, van Hanegem N, Schutgens REG, van Galen KPM. *Haemophilia.* 2025 Jul;31(4):780-786. doi: 10.1111/hae.70076.
- 8- *How to Optimize Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) Testing: Solutions to Establishing and Verifying Normal Reference Intervals and Assessing APTT Reagents for Sensitivity to Heparin, Lupus Anticoagulant, and Clotting Factors.* Favaloro EJ, Kershaw G, Mohammed S, Lippi G. *Semin Thromb Hemost.* 2019 Feb;45(1):22-35. doi: 10.1055/s-0038-1677018.
- 9- *Guía para el estudio de anticoagulante lúpico.* Grupo de Trabajo de Laboratorio 2019. Grupo CAHT (disponible on-line en la página del Grupo CAHT).
- 10- *Laboratory assays of VWF activity and use of desmopressin trials in the diagnosis of VWD: a systematic review and meta-analysis.* Kalot MA, Husainat N, Abughanimeh O, Diab O, El Alayli A, Tayiem S, Madoukh B, Dimassi A, Qureini A, Ameer B, Eikenboom J, Giraud N, Haberichter S, Jacobs-

- Pratt V, Konkle BA, McRae S, Montgomery R, O'Donnell JS, Brignardello-Petersen R, Flood V, Connell NT, James P, Mustafa RA. *Blood Adv.* 2022 Jun 28;6(12):3735-3745. doi: 10.1182/bloodadvances.2021005431.
- 11- *Beyond the guidelines: how we approach challenging scenarios in the diagnosis and management of von Willebrand disease.* Abou-Ismail MY, James PD, Flood VH, Connell NT. *J Thromb Haemost.* 2023 Feb;21(2):204-214. doi: 10.1016/j.jtha.2022.11.042.
- 12- *A comparative study in patients with type 2 von Willebrand disease using 4 different platelet-dependent von Willebrand factor assays.* Colpani P, Baronciani L, Stufano F, Cozzi G, Boscarino M, Pagliari MT, Biguzzi E, Peyvandi F. *Res Pract Thromb Haemost.* 2023 Mar 30;7(3):100139. doi: 10.1016/j.rpth.2023.100139.
- 13- *Comparison of type I, type III and type VI collagen binding assays in diagnosis of von Willebrand disease.* Flood VH, Gill JC, Christopherson PA, Wren JS, Friedman KD, Haberichter SL, Hoffmann RG, Montgomery RR. *J Thromb Haemost.* 2012 Jul;10(7):1425-32. doi: 10.1111/j.1538-7836.2012.04747.x.
- 14- *How we make an accurate diagnosis of von Willebrand disease.* Baronciani L, Peyvandi F. *Thromb Res.* 2020 Dec;196:579-589. doi: 10.1016/j.thromres.2019.07.010.
- 15- *Application of genetic testing for the diagnosis of von Willebrand disease.* Seidizadeh O, Baronciani L, Lillicrap D, Peyvandi F. *J Thromb Haemost.* 2024 Aug;22(8):2115-2128. doi: 10.1016/j.jtha.2024.05.006.
- 16- *The necessity of repeat testing for von Willebrand disease in adult patients with mild to moderate bleeding disorders.* Mehic D, Kraemmer D, Tolios A, Bücheler J, Quehenberger P, Haslacher H, Ay C, Pabinger I, Gebhart J. *J Thromb Haemost.* 2024 Jan;22(1):101-111. doi: 10.1016/j.jtha.2023.09.010
- 17- *Why is Misdiagnosis of von Willebrand Disease Still Prevalent and How Can We Overcome It? A Focus on Clinical Considerations and Recommendations.* Colonne CK, Reardon B, Curnow J, Favaloro EJ. *J Blood Med.* 2021 Aug 17;12:755-768. doi: 10.2147/JBM.S266791