

Guida rapida all'Emostasi

Test di screening in Emostasi

Monitoraggio della Terapia anticoagulante (1): Antagonisti della vitamina K

Monitoraggio della Terapia anticoagulante (2): Eparine

Test per altre terapie anticoagulanti (3)

Coagulazione Intravascolare Disseminata (CID)

Trombofilia

Dosaggio del D-Dimero per l'esclusione del tromboembolismo venoso (TEV)

Lupus anticoagulant / Anticorpi antifosfolipidi

Test di screening in Emostasi

1) Questionario

- Anamnesi personale e familiare
- Trattamenti
- Malattie
- Sintomi clinici

2) Esame fisico

3) Test di screening dell'Emostasi pre-operatoria

● Tempo di protrombina (PT)

- Test di screening della via estrinseca e comune della coagulazione (fattori II, V, VII, X). Sensibilità limitata per il fibrinogeno.
- Valori normali: 12 - 13 sec (possono variare a seconda del reagente, vedi foglietto illustrativo del produttore)

● Tempo di Tromboplastina Parziale attivata (aPTT)

- Test di screening della via intrinseca e comune della coagulazione (fattori VIII, IX, XI, XII, V e II). Sensibilità limitata per il fibrinogeno.
- Può essere normale in alcune forme della malattia di von Willebrand
- Valori normali: ratio paziente/riferimento ≤ 1.2

● Tempo di trombina

- Esplorazione della formazione di fibrina
- Valori normali: < 21 secondi (vedi foglietto illustrativo del produttore)

Effetti della concentrazione dei fattori e delle proteine sui test di coagulazione globali

Fattori	Valori normali	Livello minimo per basso rischio di emorragia ¹	Influenza sui test di coagulazione ²		
			PT ³	aPTT ⁴	TT ⁵
XII	60 - 150%	-	N	↑	N
XI	60 - 150%	20 - 30%	N	↑	N
VIII	60 - 150%	30 - 40%	N	↑	N
IX	60 - 150%	30 - 40%	N	↑	N
VII	55 - 170%	10 - 20%	N o ↑ ⁷	N	N
X	70 - 120%	30 - 40%	↑	↑	N
V	70 - 120%	30 - 40%	↑	↑	N
II	70 - 120%	30 - 40%	↑	↑	N
Fibrinogeno	2 - 4 g/L	0.5 - 1 g/L	N o ↑	N o ↑	↑
VWF	50 - 160%	40%	N	N o ↑	N
Antitrombina	80 - 120%	-	N	N	N
Proteina C	70 - 130%	-	N	N	N
Proteina S	60 - 140% ⁶	-	N	N	N

1. Livello approssimativo in caso di carenza di un solo fattore. Questi livelli possono variare a seconda dei vari contesti clinici, per es. pazienti emofilici in attesa di intervento chirurgico necessitano di livelli più alti del Fattore VIII.

2. I risultati variano a seconda della sensibilità dei reagenti e dei livelli dei fattori singoli o multipli

3. PT: Tempo di Protrombina

4. aPTT: Tempo di Tromboplastina Parziale attivata

5. TT: Tempo di trombina

6. Dipendente dal sesso e dall'età

7. La sensibilità alla carenza di fattore VII varia a seconda del reagente

Test di screening in Emostasi

● Livello di fibrinogeno

- Test quantitativo del livello di fibrinogeno
- Valori normali: 2 - 4 g/L (200 - 400 mg/dL)
- Livelli alti in caso di sindrome infiammatoria (acuta o cronica)

● Conta piastrinica

- Numero di piastrine
- Valori normali: 150 - 400 M/mm³

4) Test di screening per la Coagulazione Intravascolare Disseminata (CID)

PT, aPTT e i livelli di fibrinogeno, così come il D-Dimero, sono generalmente patologici nella CID acuta, ma possono essere normali nella CID cronica e subacuta. Questi test di screening hanno quindi specificità e sensibilità limitate per la diagnosi della CID (vedi capitolo sulla CID). Recenti studi indicano che il dosaggio dei monomeri di fibrina rappresenta un marker precoce della CID.

5) Test di screening per la trombofilia

- Ad oggi non ci sono test globali per esplorare l'insieme dei fattori della trombofilia.
- Test funzionali sono necessari in prima battuta per il monitoraggio degli inibitori (vedi sezione Trombofilia).

6) Test di screening per Lupus Anticoagulant (LAC)

- I test di screening sono costituiti da test funzionali fosfolipidi dipendenti. Sono necessari almeno due test diversi per l'individuazione del LAC (vedi sezione Lupus Anticoagulant).

Bibliografia:

- Simple coagulation tests survival prediction in patients with septic shock. Lissalde Lavigne G *et al.* J Thromb Haemost 2008, 6:645-653
- Guidelines for the diagnosis and management of DIC. Levi M. *et al.* Br J Haematol, 2009, 145, 1:24-33
- DIC diagnosed based on the Japanese association for acute medicine criteria is a dependant continuum to overt DIC in patient with sepsis. Gando S. *et al.* Thromb Res, 2009, 123, 5:715-718
- Hemostasis, a case oriented approach, D. A. Triplett, Igaku-Shoin Medical publishers, 1985
- Laboratory Techniques in Thrombosis - A Manual, Second revised edition of the ECAT Assay Procedures, Jespersen J, Bertina RM, Haverkate F, 1999, pages 1-308
- Factor VII deficiency. Sevenet PO *et al.* Clin Appl Thromb Haemost 2016. doi: 10.1177/1076029616670257

Monitoraggio della terapia anticoagulante (1)

Terapia anticoagulante orale con antagonisti della vitamina K (VKA*)

- **Gli antagonisti della vitamina K** riducono la sintesi sia dei fattori di coagulazione dipendenti dalla vitamina K (fattori II, VII, IX, X) che di alcune proteine (Proteina C e Proteina S). La carenza di fattori II, VII, IX e X indotta dall'assorbimento di antagonisti della vitamina K determina un allungamento del PT e dell'aPTT.
- **Il tempo di Protrombina** è il test di riferimento per il monitoraggio della terapia con antagonisti della vitamina K. È espresso come tempo di coagulazione, usando la ratio tra i secondi del paziente e quelli di un pool normale, o come tempo di protrombina in %: questo porta a una grande variabilità dei risultati da un laboratorio all'altro, a causa delle differenze dei reagenti e degli analizzatori usati. Per standardizzare i risultati ottenuti sui pazienti con gli antagonisti della vitamina K, i risultati sono espressi in INR.
- **Risultati del Tempo di Protrombina (PT) espressi in INR (International Normalized Ratio)**
 - L'INR si calcola elevando il valore della ratio del PT ad una potenza ISI (International Sensitivity Index). Rappresenta il valore di ratio PT che si sarebbe ottenuto se il test fosse stato effettuato usando un materiale di riferimento internazionale per la tromboplastina.
 - L'ISI è un valore calcolato per ogni lotto di reagente tromboplastina e varia a seconda del tipo di analizzatore utilizzato. I valori ISI sono specifici per la combinazione di reagenti e strumenti. Le raccomandazioni internazionali raccomandano l'uso di reagenti con valore ISI inferiore a 1.7.
 - Il tempo del pool normale è dato dalla media geometrica di valori PT misurati su almeno 20 campioni di plasma fresco di soggetti sani (non affetti da patologie o sottoposti a terapie che potrebbero interferire con la coagulazione).

$$\text{INR} = \left(\frac{\text{Tempo del Paziente (sec)}}{\text{Tempo del controllo (sec)}} \right)^{\text{ISI}}$$

● Monitoraggio della terapia anticoagulante

- Cambio da eparina ad antagonisti della vitamina K
 - Monitoraggio del trattamento con antagonisti della vitamina K attraverso l'INR (usando un reagente insensibile all'eparina a dosi terapeutiche)
 - Monitoraggio del trattamento con eparina
 - aPTT (indica l'effetto combinato degli antagonisti della vitamina K e dell'eparina non frazionata)
 - Test specifico anti-Xa (monitoraggio specifico dell'attività anti-Xa)
 - Il trattamento con eparina e antagonisti della vitamina K può essere somministrato in concomitanza per 4-5 giorni, fino ad ottenere i valori terapeutici desiderati in termini di INR (per es. due INR consecutivi di due giorni consecutivi invariati e nella zona terapeutica).
- Pazienti stabili trattati con antagonisti della vitamina K.

Il valore INR deve essere controllato prima settimanalmente poi mensilmente, e con maggiore frequenza in caso di cambiamenti del dosaggio, risultati sbilanciati nei test o sospette interferenze di altri fattori.

*Antivitamina K o antagonisti della vitamina K

Monitoraggio della terapia anticoagulante (1)

● N.B.:

- Grande variabilità da un paziente all'altro
- Interferenze dovute a:
 - Altri trattamenti (molti farmaci possono interferire con gli antagonisti della vitamina K)
 - Altre malattie
 - Alimenti e bevande ricchi di vitamina K

● Range terapeutici raccomandati (espressi in INR)

INDICAZIONE	INR	
	ACCP ¹ , BCSH ² , GEHT ³	
	Range	Valore target
Profilassi della trombosi venosa.	2.0 - 3.0	2.5
Trattamento della trombosi venosa profonda (TVP) e dell'embolia polmonare (EP). Valvulopatie cardiache. Infarto miocardico. Fibrillazione atriale.	2.0 - 3.0	2.5
Sindrome da antifosfolipidi associata a TVP ricorrente o ulteriori fattori di rischio.	2.5 - 3.5	3.0

¹ ACCP: American College of Chest Physicians

² BCSH: British Committee for Standards in Haematology

³ GEHT: Groupe d'Etude sur l'Hémostase et la Thrombose

Bibliografia:

- Guidelines on oral anticoagulation (warfarin): third edition - 2005 update. Baglin T.P., Keeling D.M., Watson H.G. for the British Committee for Standards in Haematology. Br J Haematol, 2005; 132: 277-285
- Evidence-Based Management of Anticoagulant Therapy. Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th Ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. Holbrook A., Schulman S., Witt D.M., Vandvik P.O., Fish J., Kovacs M.J., Svensson P.J., Veenstra D.L., Crowther M., Guyatt G.H. Chest, 2012; 141: 152S-184S

Monitoraggio della terapia anticoagulante (2)

Monitoraggio dell'Eparina non frazionata

L'eparina non frazionata (UFH) è una miscela eterogenea di catene polisaccaridiche di vario peso molecolare. Un terzo di queste catene ha una sequenza pentasaccaridica con alta affinità di legame all'Antitrombina.

Peso molecolare: da 2.000 a 40.000 Dalton (media: 15.000).

Queste catene sono usate sia a scopo terapeutico che profilattico.

● Limiti:

- Breve emivita, dipendente dal dosaggio
- Legame non specifico
- Effetto aleatorio dose-risposta
- Rischio di emorragia maggiore

● Raccolta dei campioni e trattamento:

- Per la raccolta e il trattamento dei campioni deve essere seguito un protocollo standard
- Raccolta: provetta contenente un anticoagulante - sodio citrato 0.105/0.109 M o CTAD (Citrato, Teofillina, Adenosina, Dipiridamolo).
- Centrifugazione entro un'ora dalla raccolta.
- Stabilità a +20°C: 2 ore in provetta con citrato o 4 ore in provetta con CTAD

● Test:

■ aPTT

- Molto diffuso per monitorare il trattamento con UFH, ma sensibile anche ad alcune anomalie della coagulazione e ad alcuni farmaci come gli antagonisti della vitamina K (durante la terapia mista con eparina-antagonisti della vitamina K) o i farmaci trombolitici.

Nota: I range terapeutici dipendono dal reagente usato

- **Attività anti-Xa:** misura standardizzata riferita ad uno standard internazionale (vedi Tabelle 1 e 2)
- **Conta piastrinica:** per il rilevamento della trombocitopenia indotta da eparina (HIT)
 - HIT, Tipo II:
 - Reazione immunoallergica al farmaco
 - Fino al 3% dei pazienti trattati⁽¹⁾
 - In genere si verifica dopo il 5° giorno di trattamento
 - Trombocitopenia severa, seguita da complicazioni trombotiche che mettono a rischio la vita del paziente

- **Antitrombina (AT):** per l'esclusione della carenza di antitrombina in caso di resistenza all'eparina.

Bibliografia:

- (1) Treatment and Prevention of Heparin-Induced Thrombocytopenia. Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines.

Linkins L.A., Dans A.L., Moores L.K., Bona R., Davidson B.L., Schulman S., Crowther M. Chest, 2012; 141: 495S-530S

Monitoraggio della terapia anticoagulante (2)

Tabella 1: Eparina non frazionata: range durante il trattamento terapeutico

Modalita' di somministrazione	Raccolta campioni	Range terapeutico	
		Ratio aPTT* paziente/riferimento	Attività anti-Xa
infusione endovenosa continua	in qualsiasi momento dopo quattro ore di trattamento	1.5-3.5 volte	0.3 to 0.7 IU/mL
infusione endovenosa o sottocutanea discontinua	tra due iniezioni e prima dell'iniezione successiva	1.5-3.5 volte	0.3 to 0.7 IU/mL

Tabella 2: Eparina non frazionata: range durante il trattamento preventivo

Modalita' di somministrazione	Raccolta campioni	Trattamento preventivo	
		Ratio aPTT* paziente/riferimento	Attività anti-Xa
Infusione endovenosa o sottocutanea	tra due iniezioni e prima dell'iniezione successiva	1.2-1.3 volte	0.1 to 0.2 IU/mL

* L'allungamento dell'aPTT varia a seconda del reagente. Ciascun laboratorio dovrebbe stabilire il proprio range terapeutico dell'aPTT secondo le proprie procedure operative.

Monitoraggio dell'eparina a basso peso molecolare (LMWH)

L'eparina a basso peso molecolare si ottiene mediante depolimerizzazione chimica o enzimatica dell'eparina non frazionata.

Peso molecolare: da 2.000 a 12.000 Dalton (media: 5.000 Da)

● Profilo anticoagulante:

- Rapporto attività anti-fattore Xa / anti-fattore IIa:
 - UFH: 1:1
 - LMWH: 2:1 a 5:1 (e di più per la stessa preparazione LMWH)

● Vantaggi:

- Risposta anticoagulante più prevedibile
- Migliore biodisponibilità a bassi dosaggi
- Clearance indipendente dalla dose
- Emivita più lunga

● Tests:

- I risultati dei test di coagulazione globale (aPTT) non sono correlati con l'attività anticoagulante del LMWH
- Gli unici test disponibili attualmente sono quelli che misurano specificatamente l'attività anti-Xa nel plasma
- Esistenza di uno standard internazionale per LMWH (anti-Xa IU/mL)
- L'attività anti-Xa per regolare la dose di LMWH deve essere verificata almeno 48 ore dopo l'iniezione iniziale (trattamento terapeutico)
- Il monitoraggio non è necessario durante il trattamento profilattico (tranne in caso di problemi renali, aumento di peso o rischio di emorragia o trombosi)
- Il monitoraggio è particolarmente raccomandato per i bambini e per i soggetti anziani
- Effettuare una conta piastrinica:
 - entro le prime 24 ore di trattamento
 - in seguito due volte a settimana per tutto il trattamento.

Bibliografia:

- Parenteral anticoagulants. Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis. 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-based Clinical Practice Guidelines. Garcia D.A., Bagin T.P. Witz J., Samama M.M. Chest, 2012; 141: e24S-e43S

Tabella 3: Nomogrammi di dosaggio di LMWH e Fondaparinux per valori terapeutici sono disponibili (come da raccomandazioni francesi, 2017)

Prodotto	Indicazioni	Dosaggio	Picco dell'attività anti-Xa		Prolungamento dell'APTT (se misurato)
			Valori medi ¹ m±sd	Soglia di overdose ²	
LMWH: terapia di iniezione due volte al giorno: <i>campione prelevato ai picchi di attività, da 3 a 4 ore dopo l'iniezione</i>					
LOVENOX® (enoxaparina INN)	TVP con o senza EP Sindrome coronarica acuta	100 IU/kg/12 ore (1 mg/kg/12 ore)	1.20 ± 0.17 IU/mL	NA	Prolungamento moderato
FRAGMINE® (dalteparin INN)	TVP stabilita Angina instabile	100 a 120 IU/ kg/12 ore	0.6 ± 0.25 IU/mL	1.0 IU/mL	Prolungamento moderato
FRAXIPARINE® (INN nadroparin)	Infarto del miocardio non-Q	85 IU/kg/12 ore	1.0 ± 0.2 IU/mL	NA	Prolungamento moderato
LMWH: terapia di iniezione una volta al giorno: <i>campione prelevato ai picchi di attività, da 4 a 6 ore dopo l'iniezione</i>					
INNOHEP® (tinzaparin INN)	TVP stabilita EP non severa	175 IU/kg/24 ore	0.87 ± 0.15 IU/mL	< 1.5 IU/mL	Prolungamento
FRAXODI® (nadroparin INN)	TVP stabilita	171 IU/kg/24 ore	1.34 ± 0.15 IU/mL	< 1.8 IU/mL	Prolungamento moderato
Fondaparinux: terapia di iniezione una volta al giorno: <i>campione prelevato ai picchi di attività, da 2 a 3 ore dopo l'iniezione</i>					
ARIXTRA® (fondaparinux INN)	TVP stabilita EP non severa	7.5 mg/24 ore ³	1.41 µg/mL	NA	Nessun Prolungamento
ARIXTRA® (fondaparinux INN)	Sindrome coronarica acuta	2.5 mg/24 ore	0.45 µg/mL	NA	Nessun Prolungamento

IU = International Units

TVP: Trombosi Venosa Profonda; EP: Embolia Polmonare

INN: International Name Nonproprietary

¹NB: valori medi misurati nei soggetti in trattamento con LMWH;

²Soglia sopra la quale la riduzione della dose può essere considerata;

³Per pazienti di peso compreso tra 50 e 100 kg; 5 mg/24 ore per pazienti con peso < 50 kg;

10 mg/24 ore per pazienti con peso > 100 kg

Test per altre terapie anticoagulanti (3)

Monitoraggio delle terapie alternative

Irudina - desirudina (Revasc®)

Proteina prodotta dalle ghiandole salivari delle sanguisughe.
Inibitore diretto della trombina.

Irudine ricombinanti commerciali sono attualmente disponibili.

● **Indicazioni** (a seconda del Paese)

- Trattamento di pazienti con trombocitopenia indotta da eparina (HIT)
- Prevenzione di complicanze tromboemboliche dopo intervento chirurgico ortopedico (sostituzione totale dell'anca o del ginocchio) nei pazienti con anamnesi di HIT

● **Test di laboratorio**

■ **Trattamento**

- aPTT: c'è un rapporto diretto tra il prolungamento dell'aPTT e la concentrazione di irudina nel plasma, salvo alle alte concentrazioni.
- Tempo di Ecarina
- Test cromogenico con ecarina (ECA): per la determinazione quantitativa dell'irudina e dei suoi analoghi

■ **Profilassi**

Nessuna raccomandazione per il monitoraggio, tranne che in caso di insufficienza renale o epatica o in caso di trattamento concomitante con anticoagulanti orali.

Sodio Danaparoid (Orgaran®)

Miscela di eparansolfato (~ 84%), dermatansolfato (~ 12%) e condroitinsolfato (~ 4%). Peso molecolare: circa 5.500 Dalton. Inibitore specifico del fattore Xa.

● **Indicazioni** (a seconda del Paese)

- Trattamento di pazienti con HIT
- Profilassi della trombosi venosa profonda post-operatoria a seguito di intervento chirurgico di sostituzione totale dell'anca o del ginocchio (in pazienti con precedente anamnesi di HIT)

● **Test di laboratorio**

- Monitoraggio non necessario per trattamenti profilattici, ma raccomandato; per trattamenti terapeutici.
 - effetto lieve sui test coagulativi (PT e aPTT)
 - test anti-Xa (protocollo specifico)

Test per altre terapie anticoagulanti (3)

Fondaparinux (Arixtra®)

Fondaparinux, un pentasaccaride, è un inibitore sintetico selettivo del fattore Xa. La somministrazione del farmaco è semplice: un'iniezione sottocutanea al giorno a una dose fissa indipendentemente dalle caratteristiche del paziente.

L'emivita varia secondo l'età, ed è tra 17 e 21 ore, con un picco di concentrazione a 2-3 ore dall'iniezione.

● **Indicazioni** (a seconda del Paese)

- Prevenzione della trombosi nella chirurgia ortopedica
- Prevenzione della trombosi nella chirurgia addominale ad alto rischio
- Prevenzione di eventi tromboembolici e costretti a letto per problemi medici acuti (insufficienza cardiaca, problemi respiratori ecc.)
- Trattamento terapeutico della trombosi venosa profonda
- Trattamento terapeutico dell'embolia polmonare acuta

● **Zona terapeutica**

- Trattamento preventivo:
2.5 mg (o 1.5 mg per pazienti con insufficienza renale) / giorno
- Trattamento terapeutico:
7.5 mg/giorno per pazienti di peso compreso tra 50 e 100 kg

● **Test di laboratorio**

Il monitoraggio non è raccomandato ufficialmente, tuttavia alcune situazioni cliniche possono richiedere un dosaggio:

- Incidenti trombotici o emorragici
- Chirurgia supplementare
- Insufficienza renale
- ecc.

Test dell'attività anti-Xa con calibratore e controlli dedicati per il monitoraggio di Fondaparinux (STA® - Fondaparinux Control and Calibrator)

- Range di misura: da 0.1 a 2 µg/mL
 - Il range di misura del test copre tutte le dosi

Inibitori diretti del fattore Xa

Rivaroxaban (Xarelto®) - Apixaban (Eliquis®) - Edoxaban (Savaysa®/Lixiana®)

Rivaroxaban, apixaban e edoxaban sono inibitori sintetici diretti del fattore Xa. Hanno una breve emivita e sono quasi immediatamente biodisponibili dopo somministrazione orale.

Non serve monitorare la concentrazione dei DOACs anti Xa in modo sistematico tuttavia potrebbe essere necessario misurare l'attività anticoagulante in alcuni pazienti oppure in alcune condizioni cliniche (sanguinamento, chirurgia d'urgenza, sospetto di sovradosaggio, insufficienza renale, pazienti anziani, condizioni estreme di peso corporeo).

● Indicazioni

- Profilassi di VTE dopo chirurgia totale del ginocchio o chirurgia sostitutiva dell'anca
- Prevenzione di ictus nei pazienti con fibrillazione atriale non valvolare
- Trattamento della TVP e PE
- Prevenzione secondaria di VTE
- Prevenzione di eventi aterotrombotici dopo ACS con marcatori cardiaci elevati, in associazione con farmaci antiaggreganti (rivaroxaban - solo in Europa)

● Test specifico: l'attività anti Xa di rivaroxaban, apixaban e edoxaban è misurata utilizzando controlli e calibratori specifici (STA-Rivaroxaban Control & Calibrator, STA-Apixaban Control & Calibrator e STA-Edoxaban Control & Calibrator)

- Per la determinazione specifica dell'attività anticoagulante degli inibitori diretti del fattore Xa
- Test da eseguire da 2 a 4 ore dopo l'ultima assunzione o a valle
- Range di misura: da 20 a 500 ng/mL

Inibitori diretti della trombina (DTI)

DTI (Dabigatran, Pradaxa®, Argatroban®, Bivalirudina®, ecc.) sono inibitori diretti della trombina, con zone terapeutiche di vari livelli.

Hanno un'emivita breve e biodisponibilità praticamente immediata.

Può essere necessario misurare la concentrazione per certe molecole e in alcuni pazienti.

● Indicazioni (a seconda del farmaco e del paese)

- Trattamento di pazienti con trombocitopenia indotta dall'eparina (Argatroban®, Bivalirudina®)
- Prevenzione della trombosi
- Prevenzione di ictus in pazienti con fibrillazione atriale non valvolare
- Prevenzione di complicanze tromboemboliche dopo intervento chirurgico ortopedico o cardiaco

● Test di laboratorio

- aPTT: c'è un rapporto diretto tra l'allungamento dell'aPTT e la concentrazione dei DTI nel plasma, tuttavia:
 - Il test è fortemente influenzato da diverse variabili (presenza di lupus anticoagulant, carenze di fattori ecc.) e da trattamenti concomitanti (antagonisti della vitamina K, eparina, ecc.)
 - Il range di misura non è adatto ai DTI
 - C'è scarsa linearità con alti dosaggi dei DTI
- Tempo di ecarina (ECT- Ecarin clotting time): è considerato il test di riferimento, ma:
 - Dipende dai livelli di trombina e fibrinogeno del paziente.
 - Non c'è standardizzazione
- Test cromogenico Ecarina (ECA): test quantitativo specifico per il dosaggio dei DTI. L'attività del Dabigatran è misurata usando controlli e calibratori specifici sviluppati per il test STA-ECA II (STA-Dabigatran Calibrator e Control)

Coagulazione Intravascolare Disseminata (CID)

● La CID è una sindrome acquisita caratterizzata da un'eccessiva attivazione intravascolare sistemica della coagulazione, senza una sede precisa e dovuta a una varietà di cause e origini diverse (ISTH definition, 2001).

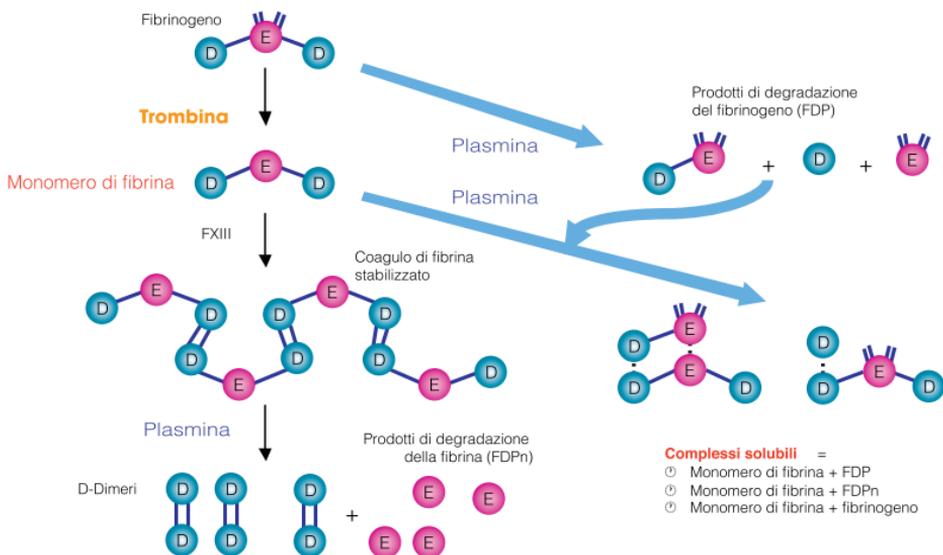
● La diagnosi della CID si basa su criteri clinici (presenza di una malattia latente o di condizioni cliniche specifiche come setticemia, trauma, tumore maligno, ecc.) e su criteri di laboratorio.

● Ci sono 2 tipi di CID:

- **CID compensata** o incipiente
- **CID non compensata** o «conclamata»

La CID compensata è definita una CID senza manifestazioni di emorragia o trombosi. La diagnosi di CID compensata si basa soprattutto su criteri di laboratorio.

La CID conclamata è una CID confermata, evidente e grave. La diagnosi si basa su una combinazione di segni clinici e test di laboratorio.



Diagnosi di Coagulazione Intravascolare Disseminata (CID)

Diagnosi clinica

La manifestazione clinica della CID si basa su eventi trombotici o emorragici, oppure di entrambi nello stesso tempo.

I pazienti sono classificati secondo tre diversi sistemi di punteggio clinico.

Diagnosi di laboratorio

Non esistono test di laboratorio specifici per la CID.

PT, aPTT e fibrinogeno sono in genere patologici nella CID acuta, ma possono essere normali nella CID cronica o subacuta. Questi test di screening hanno quindi specificità e sensibilità limitate per la diagnosi della CID. Studi clinici hanno dimostrato che i monomeri di fibrina rappresentano un marcatore precoce di CID.

Il calcolo del punteggio per la diagnosi della CID definita dalla Società Internazionale di Trombosi ed Emostasi (ISTH) si basa sulla presenza di disordini latenti e su test di coagulazione che consentono l'identificazione di pazienti affetti da CID compensata o conclamata.

PRESENZA DI DISORDINI LATENTI ASSOCIATI ALLA CID

SI: **procedere con score ISTH per la CID**

Test PT, APTT,
Fibrinogeno,
conta delle piastrine,
marcatori correlati alla fibrina

NO: **stop**

Score:

- Conta delle piastrine:
> 100 G/L = 0 — < 100 G/L = 1 — < 50 G/L = 2
- Fibrinolisi: (es.: D-Di, FDP, **FM**):
Nessun aumento = 0
Aumento moderato = 2 - Forte aumento = 3
- Allungamento PT: < 3 sec. = 0
3 sec. < PT < 6 sec. = 1 — > 6 sec. = 2
- Fibrinogeno: > 1 g/L = 0 — > 1 g/L = 1

Score complessivo:

- ≥ 5 compatibile con CID conclamata
(ripetere giornalmente)
- < 5 non-indicativo di CID conclamata
(ripetere dopo 1-2 giorni)

Bibliografia:

- Disseminated Intravascular Coagulation. Levi M, Cate H. ten. NEJM, 1999, 586-592
- Diagnostic Criteria and Laboratory Tests for Disseminated Intravascular Coagulation. Kaneko T., Wada H. J. Clin. Exp. Hematopathol. 2011; 51: 57-76
- Laboratory diagnosis of DIC and activated coagulation. Schmaier AH., DIC assessment ABC monography, 1989, 2-18
- Towards Definition, Clinical and Laboratory Criteria, and a Scoring System for Disseminated Intravascular Coagulation (ISTH), Taylor F.B., Toh C.H., Hoots W.K., Wada H., Levi M., Thromb Haemost, 2001; 86: 1327-30
- Diagnostic criteria and laboratory tests for disseminated intravascular coagulation. Kaneko T, Wada H. J. Clin. Exp. Hematopathol 2011; 51: 67-76

Trombofilia

- La Trombofilia può essere definita come la tendenza a sviluppare trombosi:
 - La trombofilia ereditaria (congenita), è una tendenza geneticamente determinata a sviluppare trombosi venose.
 - Trombofilia acquisita.

Classificazione

- **Trombofilia ereditaria (congenita)**
 - Associata a un'anamnesi familiare di trombosi venosa (nella maggior parte dei casi).
 - Trombosi ricorrente in alcuni pazienti.
 - Non sempre associata a un chiaro fattore scatenante.
 - Colpisce soggetti giovani: < 60 anni.
- **Trombofilia acquisita**
 - Anamnesi familiare priva di casi associabili (in genere).
 - Terapia estroprogestinica.
 - Anticorpi antifosfolipidi.
 - Può essere associata ad altri stati patologici come:
 - Cancro.
 - Trombocitopenia indotta da eparina.
- **VTE idiopatica vs VTE con cause conclamate**
 - VTE è considerata idiopatica in assenza di fattori scatenanti.
 - VTE è considerata con cause conclamate in presenza di fattori scatenanti.
- La definizione di fattori scatenanti può variare in letteratura, ma può includere chirurgia, trauma, immobilizzazione, contraccezione orale, gravidanza e fase post-parto.

Test diagnostici per la trombofilia

- **Screening preliminare:**
 - Antitrombina, Proteina C, Proteina S, resistenza alla Proteina C attivata / Fattore V Leiden, mutazione del gene della protrombina, lupus anticoagulant (LA) e anticorpi antifosfolipidi (APA).
- **Screening di secondo livello:**
 - Fibrinogeno, omocisteina.
 - Misura dell'attività del Fattore FVIII.
 - Investigazione della fibrinolisi (tPA, etc, ...).

Trombofilia

Prevalenza nei soggetti con problemi trombotici

Cause	Valori normali	Rischio relativo (per trombosi iniziale)	Prevalenza
Antitrombina	80 - 120%	10-20 nei pazienti eterozigoti	1-2% nei pazienti con tromboembolismo venoso (VTE)
Proteina C	70 - 130%	6	3% in pazienti con VTE
Proteina S*	60 - 140%	5	0.05-1% nella popolazione generale 2-3% nei pazienti con VTE
FV leiden	—————	3-5 nei pazienti eterozigoti	5% nei pazienti generali >20% nei pazienti con VTE
Polimorfismo del gene FII	—————	2-3 nei pazienti eterozigoti	2% nella popolazione europea
Anticorpi antifosfolipidi (anti-β2GPI e anti-cardiolipina)	—————	2.2	—————

*dipende dall'età e dal sesso

● Procedura di raccolta dei campioni

I campioni usati per la conferma della trombofilia devono essere raccolti almeno 3 mesi dopo l'ultimo episodio trombotico e rispettando i limiti di tempo associati al test da effettuare dopo la fine del trattamento.

■ I campioni non devono essere prelevati nei seguenti casi:

- Durante episodi acuti di TVP/EP
- Durante il trattamento anticoagulante orale con antagonisti della vitamina K, i livelli di PC e PS si riducono del 50% e i livelli di attività sono ridotti.
- E' necessario attendere un mese dopo l'interruzione del trattamento con antagonisti della vitamina K prima di effettuare i test della Proteina C e Proteina S
- In caso di trattamento con eparina, che potrebbe ridurre i livelli di antitrombina
- Nelle donne in stato di gravidanza e fino a tre mesi dopo il parto
- In pazienti sottoposti a terapia estroprogestinica fino a 2 cicli dopo la sospensione del trattamento (es. pillola anticoncezionale)
- In pazienti trattati con L-asparaginasi
- In pazienti con sindrome nefritica, insufficienza epatica, CID o condizioni infiammatorie
- In caso di test positivi per lupus anticoagulant, ripetere lo screening dopo 12 settimane.
- I DOACs (dabigatran, rivaroxaban, apixaban ed edoxaban) possono interferire con i test di screening della trombofilia (test coagulativi e cromogenici).

Basso livelli di PC e PS si riscontrano in campioni pediatrici normali.

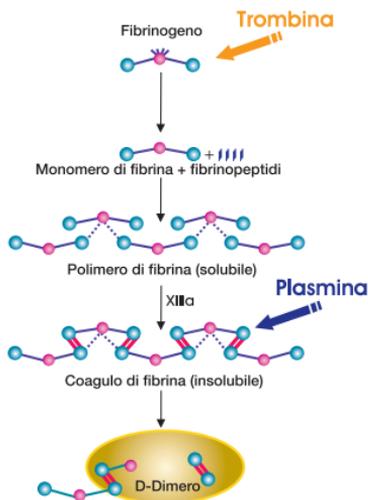
Nei test effettuati su campioni pediatrici, devono essere stabiliti i valori normali dei pazienti dello stesso gruppo di età prima di formulare la diagnosi.

Bibliografia:

- Risk factors for venous thrombotic disease. Rosendaal FR. *Thromb Haemost.* 199; 82: 610-19.
- Protein C and protein S deficiencies are the most important risk factors associated with thrombosis in Chinese venous thrombophilic patients in Taiwan. *Thromb Res.* 2000; 99: 447-52.
- Management of thrombophilia, Bauer K. A., *J Thromb Haemost.* 2003; 1: 1429-1434
- Screening for thrombophilia: a laboratory perspective, Jennings I., Cooper P., *Br J Biomed Sc.* 2003; 60: 39-51

Dosaggio del D-Dimero per l'esclusione del tromboembolismo venoso (TEV)

- I D-dimeri sono prodotti di degradazione specifici della fibrina, che riflettono l'attivazione della coagulazione e la conseguente fibrinolisi. Il test del D-Dimero è sensibile alla VTE. Livelli di D-dimero inferiori alla soglia permettono un'esclusione sicura quando viene eseguito un dosaggio ad alta sensibilità nel caso di pazienti con probabilità clinica pre-test non elevata.



N.B.: Alti livelli di D-Dimero non implicano necessariamente una TVP/EP in quanto possono essere associati a molte altre cause.

Valori di D-Dimero elevati si possono riscontrare anche in campioni prelevati:

- Da pazienti in stato di gravidanza
 - Da pazienti anziani
 - Da pazienti con infezioni
 - Dopo lesioni traumatiche
 - Nel periodo post-operatorio
 - Da pazienti affetti da cancro
 - Da pazienti ricoverati in ospedale (che in genere hanno un livello base di D-Dimero più alto rispetto ai pazienti ambulatori)
 - Da pazienti con sindrome infiammatoria.
- **Interesse del D-Dimero nella diagnosi della trombosi venosa profonda:**
 - Valore Predittivo Negativo (NPV) vicino al 100%
 - Uso del D-Dimero combinato con il calcolo della probabilità clinica pre-test (score di Wells)
 - Con uno score < 2 per i pazienti con sospetta TVP
 - Con uno score ≤ 4 per i pazienti con sospetta EP
 - Può essere usato per tutti i pazienti con sospetta TVP
 - Metodo non-invasivo
 - Limita il numero di test richiesti, nonché l'esigenza di test diagnostici per immagine.
 - Migliora la diagnosi

Dosaggio del D-Dimero per l'esclusione del tromboembolismo venoso (TEV)

- Il recente studio DiET eseguito in accordo con i requisiti CLSI/FDA per la diagnosi di esclusione di VTE ha dimostrato le eccellenti prestazioni del test.



STA-Liatest D-Di				Raccomandazioni CLSI	
Esclusione di PE	Performances	Limite inferiore di CI*	Limite superiore di CI*	Performances	Limite inferiore di CI*
NPV	99.7%	99.2%	100.0%	≥98%	≥95%
Sensibilità	97%	91.6%	99.4%	≥97%	≥90%
Specificità	75.5%	72.8%	78.1%	None	None



STA-Liatest D-Di				Raccomandazioni CLSI	
Esclusione di TVP	Performances	Limite inferiore di CI*	Limite superiore di CI*	Performances	Limite inferiore di CI*
NPV	100.0%	99.3%	100.0%	≥98%	≥95%
Sensibilità	100.0%	95.8%	100.0%	≥97%	≥90%
Specificità	55.2%	51.9%	58.5%	None	None

* 95% Confidence Interval (CI)

Bibliografia:

- Evaluation of a new, rapid, and quantitative D Dimer test in patients with suspected pulmonary embolism. Oger E. and al., Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1998; 158: 65-70.
- Performances of a new, rapid and automated microlatex D Dimer assay for the exclusion of pulmonary embolism in symptomatic outpatients. Reber G. et al., Thromb Haemost. 1998; 80: 719-720.
- Comparative study of 4 new and rapid DDimer assays to exclude deep venous thrombosis or pulmonary embolism. Breton E. et al., Thromb Haemost. 1997; suppl 1 844: 720.
- Validation of STA-Liatest D-Di assay for exclusion of pulmonary embolism according to the latest Clinical and Laboratory Standard Institute/Food and Drug Administration guideline. Results of a multicenter management study. Pernod G et al. Blood Coagul Fibrinolysis 2016; 28 (3): 254-60.
- Validation of the STA-Liatest DDi assay for exclusion of proximal deep vein thrombosis according to the latest Clinical and Laboratory Standards Institute/Food and Drug Administration guideline: results of a multicenter management study. Aguilar C, Sartori M, D'Angelo A et al. Blood Coagul Fibrinolysis. 2018; 29(6): 562-566.

Lupus Anticoagulant (LA) / Anticorpi antifosfolipidi (APA)

- Gli Anticorpi antifosfolipidi sono una famiglia eterogenea di anticorpi diretti contro proteine legate a fosfolipidi di carica elettrica negativa. Gli inibitori tipo lupus appartengono a questa famiglia di anticorpi, così come gli anticorpi anticardiolipina e anti- β 2GPI. La presenza di anticorpi antifosfolipidi rappresenta un marker biologico per la sindrome da anticorpi antifosfolipidi (APS).
- L'APS è una malattia autoimmune associata a un alto rischio di trombosi, aborto spontaneo ricorrente, trombocitopenia e numerose altre manifestazioni cliniche.
- L'inibitore lupico è detto anche «anticorpo anticoagulante di tipo antiprotrombinasi» o «Lupus AntiCoagulant» (LAC).
 - Il LAC è un'anomalia acquisita che colpisce una percentuale compresa tra l'1 e il 5% della popolazione generale. Tuttavia solo il 15-20% di questi soggetti risultano positivi ai test di controllo effettuati diversi mesi dopo.
 - *In vitro*, il LAC porta a tempi di coagulazione prolungati in test dipendenti dai fosfolipidi (per es. aPTT o PT, nonché alcuni test per l'APCR). Il test al veleno di vipera Russell diluito (dRVVT) è un test specifico usato per lo screening del LAC.
 - *In vivo*, il LAC è associato a un rischio di trombosi che può causare complicazioni ostetriche, neurologiche (CVA), renali o polmonari.
- Poiché nessun test è 100% sensibile, è necessaria la combinazione di test diversi per l'identificazione di anticorpi antifosfolipidi.
- In alcuni pazienti, anticorpi antifosfolipidi transitori possono essere dovuti a infezioni o ad altri trattamenti, non mostrano quindi presenza di segni clinici.

Algoritmo diagnostico decisionale per lo screening di LAC secondo le raccomandazioni ISTH



RN: Razio Normalizzata.

CT: Tempo di Coagulazione.

* Se il paziente è sotto trattamento con AVK, il test può essere eseguito su una miscela 1:1 del plasma del paziente e il Pool Norm

** Determinato in presenza e in assenza di fosfolipidi

Lupus Anticoagulant (LA) / Anticorpi antifosfolipidi (APA)

Diagnosi di laboratorio

La diagnosi può essere effettuata solo sulla base di due tipi di test: test immunologici per lo screening di APA e/o test di coagulazione specifici per i LA.

Le raccomandazioni dello «Scientific Subcommittee of the International Society of Thrombosis and Haemostasis» (SSC ISTH) sono le seguenti:

1) Lupus Anticoagulant (LA)

Deve essere rilevato nel plasma in almeno due occasioni separate da un intervallo minimo di 12 settimane:

● **Screening:** rilevamento dell'aumento del tempo di coagulazione di un test fosfolipide-dipendente;

- Si devono eseguire almeno due test diversi prima di escludere la presenza di LA:
 - Per primo si deve eseguire il DRVV test.
 - Il secondo test consiste in un aPTT sensibile contenente un attivatore di tipo silice e una bassa concentrazione di fosfolipidi.

● **Identificazione della presenza di un inibitore:** 50/50 mix paziente + normale (può essere usato un pool commerciale disponibile).

● **Test di conferma che l'inibizione è fosfolipide-dipendente;** il test scelto deve contenere un'alta concentrazione di fosfolipidi. Deve essere basato sullo stesso principio del test di screening.

Esclusione di disturbi della coagulazione associati.

2) Anticorpi Anticardiolipina (aCL) (IgG e/o IgM)

Possono essere presenti nel siero o plasma, in concentrazioni da moderate ad elevate (ad esempio > 40 GPL o MPL, o > 99° percentile), in almeno due prelievi, separate da un intervallo minimo di 12 settimane, dosati con un metodo standardizzato ELISA.

3) Anticorpi Anti-β2 glicoproteina I (IgG e/o IgM)

Possono essere presenti nel siero o plasma (titolo > 99° percentile), in uno o due prelievi, separati da un intervallo minimo di 12 settimane, dosati con un metodo standardizzato ELISA, in conformità della procedura di esecuzione consigliata.

Bibliografia:

- Pengo A, Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. J. Thromb Haemost. 2009; 7: 137-40.
- Miyakis S et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite anti-phospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost. 2006; 4: 295-306.



Stago Italia S.r.l. unipersonale
via Giovanni Antonio Amadeo, 59
20134 Milano
Italia
Tel: +39 02 49 58 85 01
Fax: +39 02 49 58 85 50
info@it.stago.com
www.stago.it

L2R.fr - © 2001 Diagnostica Stago, - Tutti i diritti riservati - Fotografie non contrattuali - 11/2019 - Ref. 300941

Questo documento contiene informazioni su prodotti destinati a un'ampia diffusione e può quindi contenere dettagli su prodotti o informazioni che non sono accessibili o validi nel vostro paese.
This document contains information on products which is targeted to a wide range of audiences and could contain product details or information otherwise not accessible or valid in your country.