Analisi delle Risposte della VEQ in Coagulazione 1 e 2

Anna Paola Cellai

SOD Malattie Aterotrombotiche, Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi, Firenze

15.05.2018

Centro di Riferimento Sicurezza di Qualità

Valutazione Esterna di Qualità

V.E.Q.

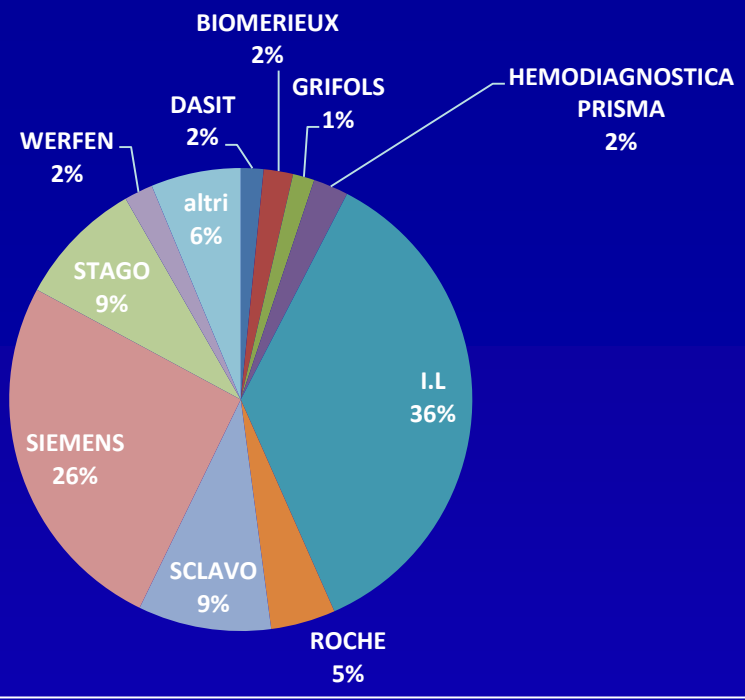
Coagulazione 1
dati 2017

Laboratori partecipanti 2016: 460

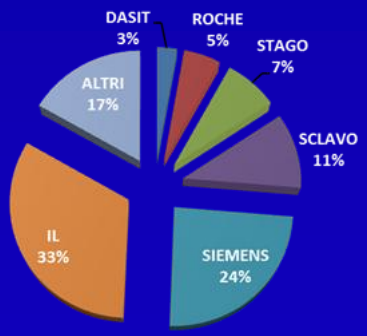
Laboratori partecipanti 2017: 434

IL PROGRAMMA PREVEDE L'INVIO DI 12 CAMPIONI.

Ditte analiti VEQ 2017 coagulazione I



	2017	2016
DASIT	2%	3%
BIOMERIEUX	2%	
GRIFOLS	1%	
HEMOD.PRISMA	2%	
I.L	**36%**	**33%**
ROCHE	5%	5%
SCLAVO	9%	11%
SIEMENS	**26%**	**24%**
STAGO	9%	7%
WERFEN	2%	
altri	6%	17%



2016

PT Prothrombin Time

aPTT activated Partial Thromboplastin Time

Fibrinogeno, Antitrombina, D-Dimero

Test secondo e terzo livello

Prothrombin Time
(PT)

Tempo di Protrombina (PT)

Le tromboplastine del commercio sono variamente sensibili:

- alle carenze di fattori congenite ed acquisite

- a quelle indotte dalla TAO.

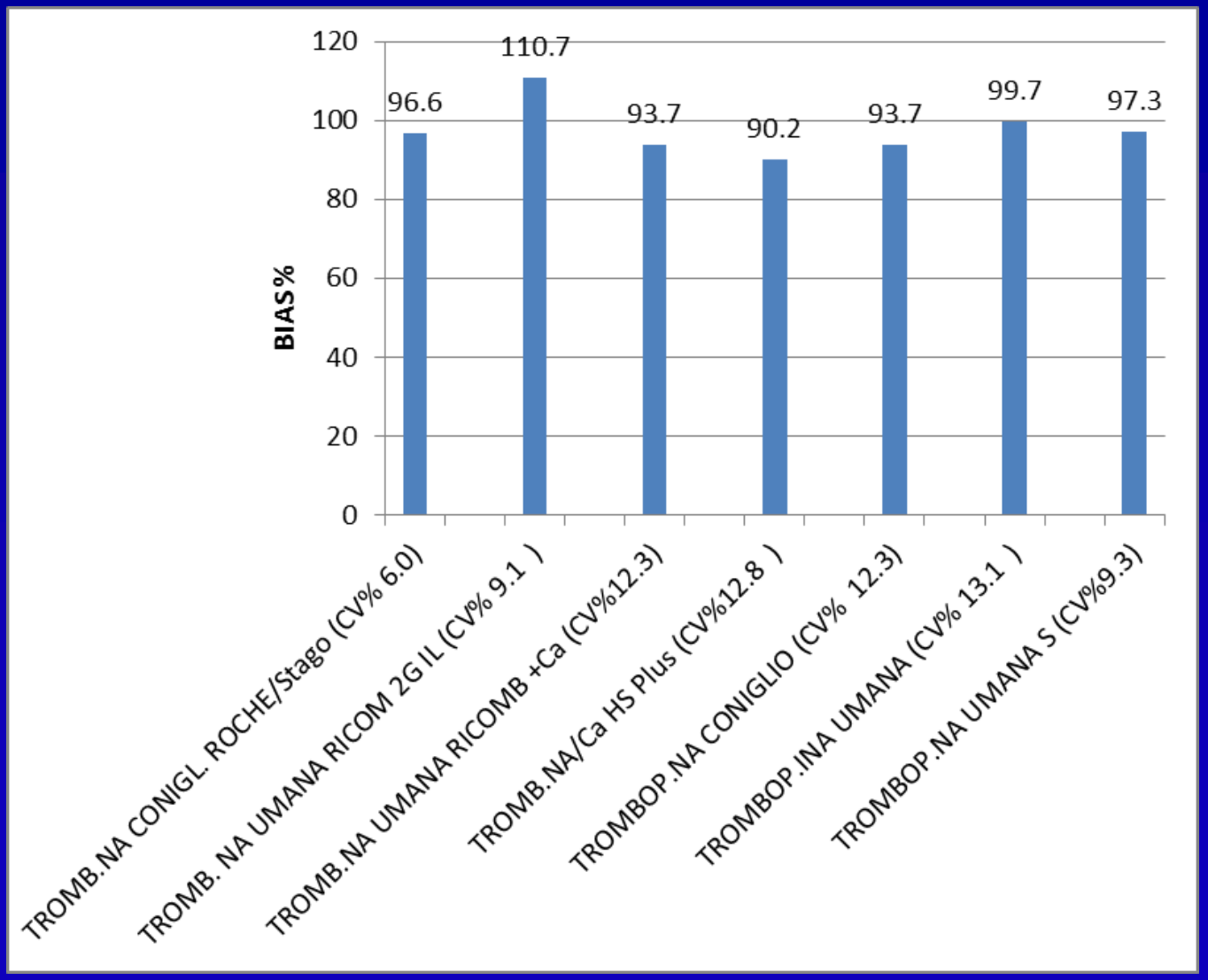
Le **tromboplastine derivanti da cervello di coniglio** sono meno sensibili alle carenze di FVII rispetto a quelle di origine umana o bovina, riuscendo ad evidenziare riduzioni del livello di attività dell'ordine del 15-20%.

Le **tromboplastine umane ricombinanti** sono, al momento attuale, le più sensibili alle carenze di Fatt.VII.

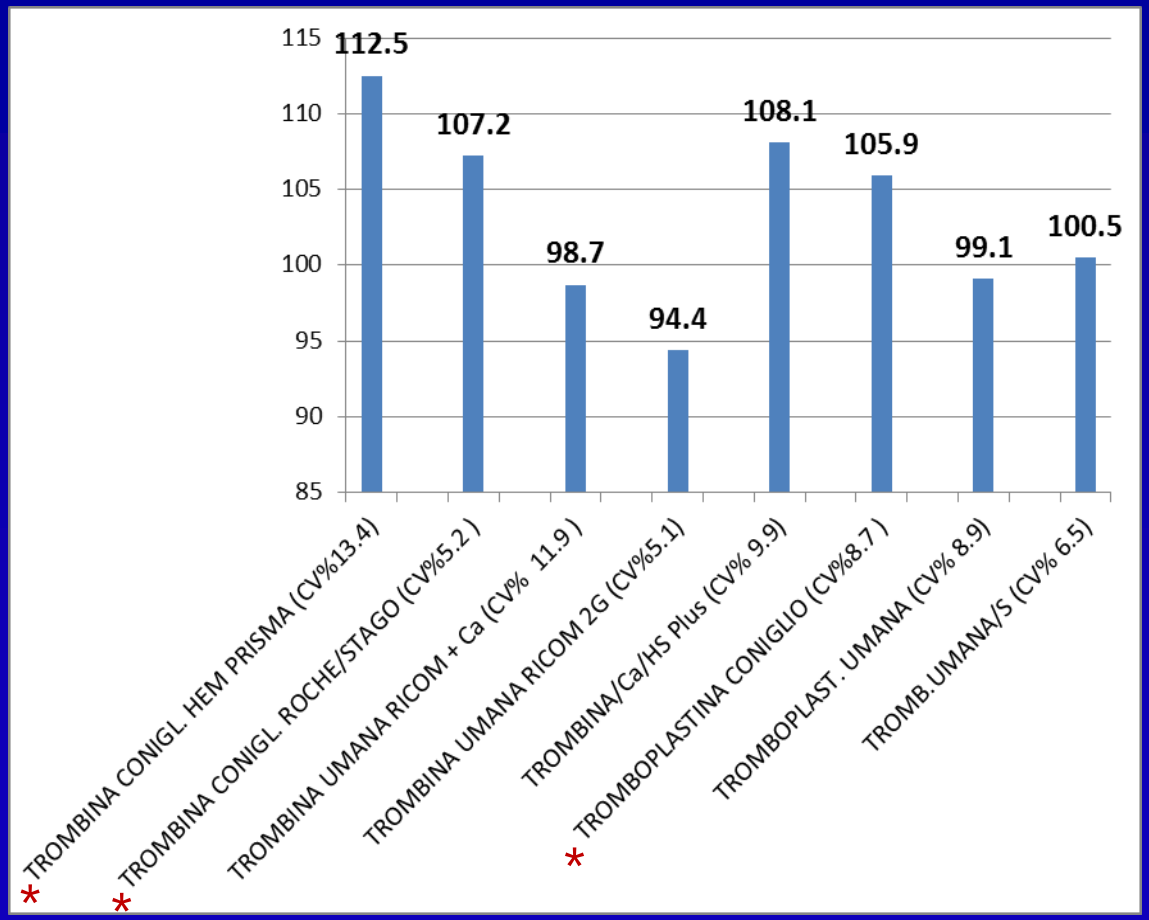
Tutte le tromboplastine sono poco sensibili alle carenze di FII ma sono idonee a rilevare riduzioni di attività del FV e del FX dell'ordine del 30%.

Le **tromboplastine di origine umana o di scimmia** sono più sensibili alle carenze indotte dalla TAO rispetto alle tromboplastine di coniglio

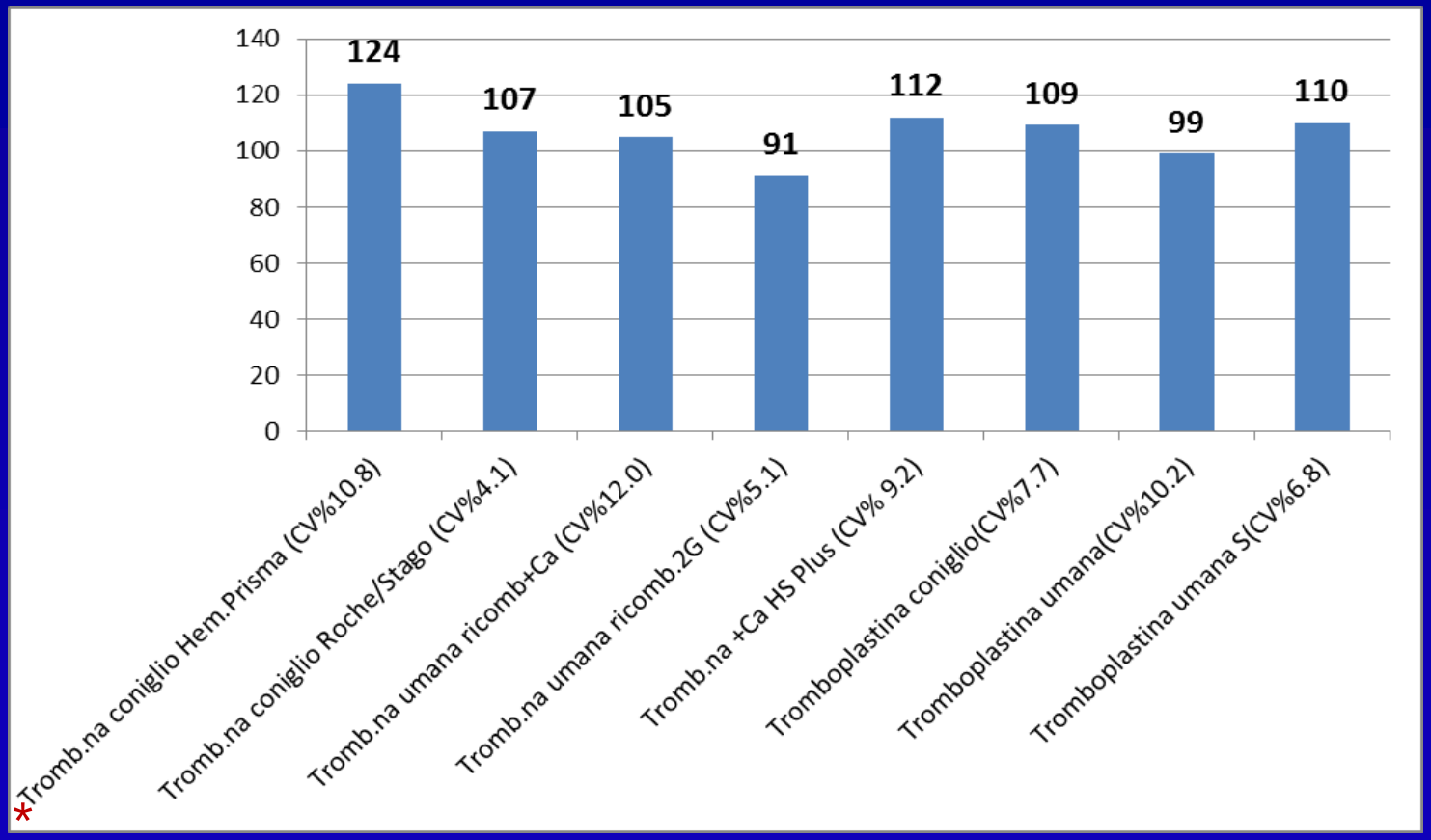
2017 Tempo di Protrombina (PT: %)
Imprecisione-Inesattezza metodi



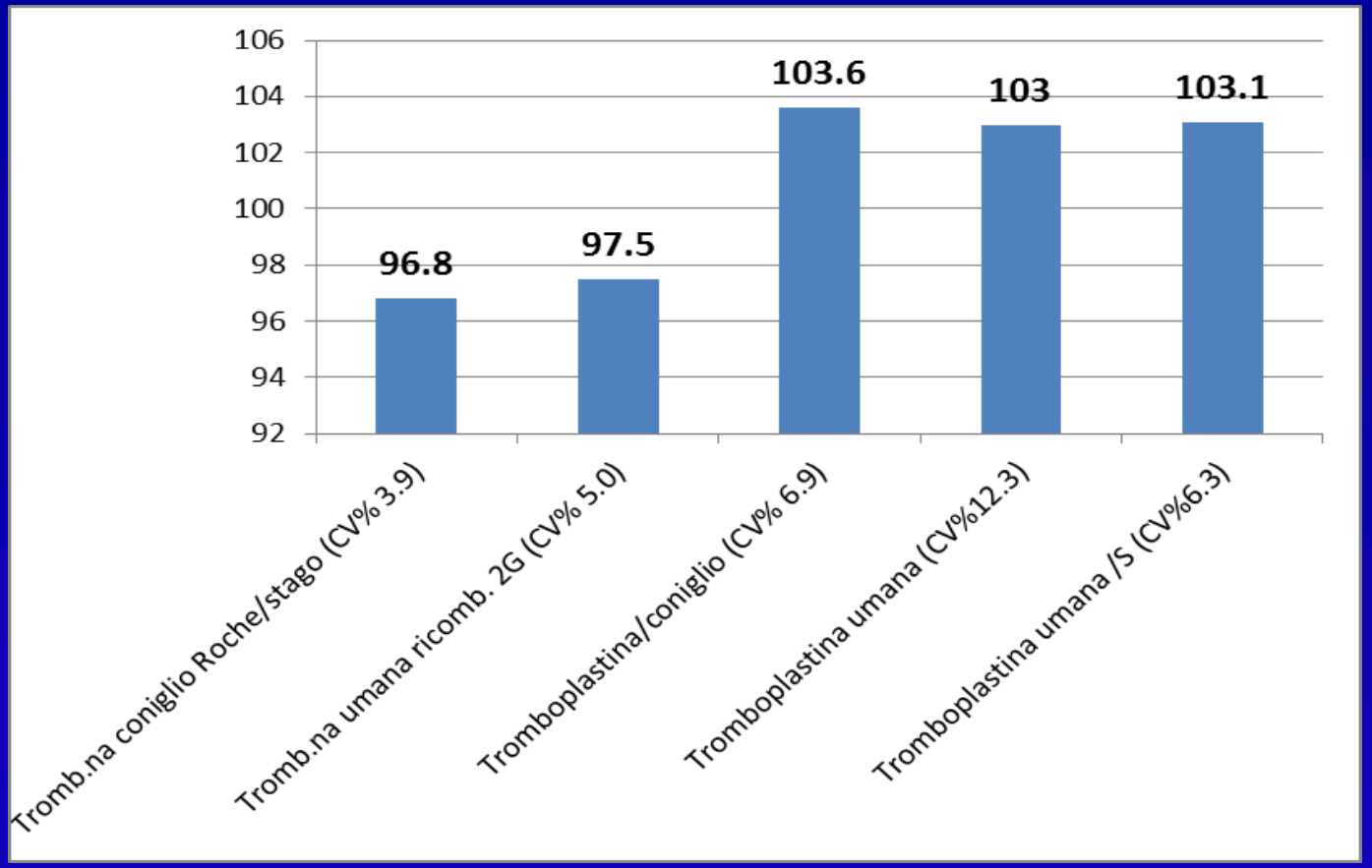
2017 Tempo di Protrombina (PT: INR)
Imprecisione-Inesattezza metodi



2017 Tempo di Protrombina (PT: sec)
Imprecisione-Inesattezza metodi



2017 Tempo di Protrombina (PT: ratio)
Imprecisione-Inesattezza metodi



Opinion Paper

Clin Chem Lab Med 2016; 54(2): 215–222

Armando Tripodi*, Giuseppe Lippi and Mario Plebani

How to report results of prothrombin and activated partial thromboplastin times

- **Percentage (prothrombin activity) should be abandoned**

- **PT-INR results** should be reported only for patients on VKA, with the appropriate therapeutic interval (usually 2.0–3.0 INR)
- **PT-ratio** in all the other situations (including chronic liver disease, disseminated intravascular coagulation and therapy with direct oral anticoagulants), with the appropriate (locally determined) reference range,
- **PT-seconds** for disseminated intravascular coagulation, when the ISTH score system is applied.

Double or triple result reporting (i.e. clotting time, INR and PT-ratio) is discouraged, as it is not educational and may create confusion.

.....NOW....

Il Gruppo di Studio Coagulazione SIBioC-SIPMEL della Regione Toscana

GESTIONE DELLA FASE PREANALITICA IN COAGULAZIONE

- Prelievo e AC
- Tempo di consegna al laboratorio
- Posta pneumatica
- Temperatura
- Centrifugazione
- Interferenti (HCT, HIL)
- Congelamento e Scongelamento
- Diluizione

AREA VASTA NORD OVEST

VALORI DI RIFERIMENTO E MODALITA' DI ESPRESSIONE DI PT e aPTT

AREA VASTA CENTRO

PREPARAZIONE E GESTIONE DEL POOL

- Reclutamento soggetti idonei
- Preparazione del pool
- Validazione del pool
- Aliquotazione e stoccaggio
- Utilizzo appropriato del pool (Test Miscela)

AREA VASTA SUD EST

Activated Partial Thromboplastin Time

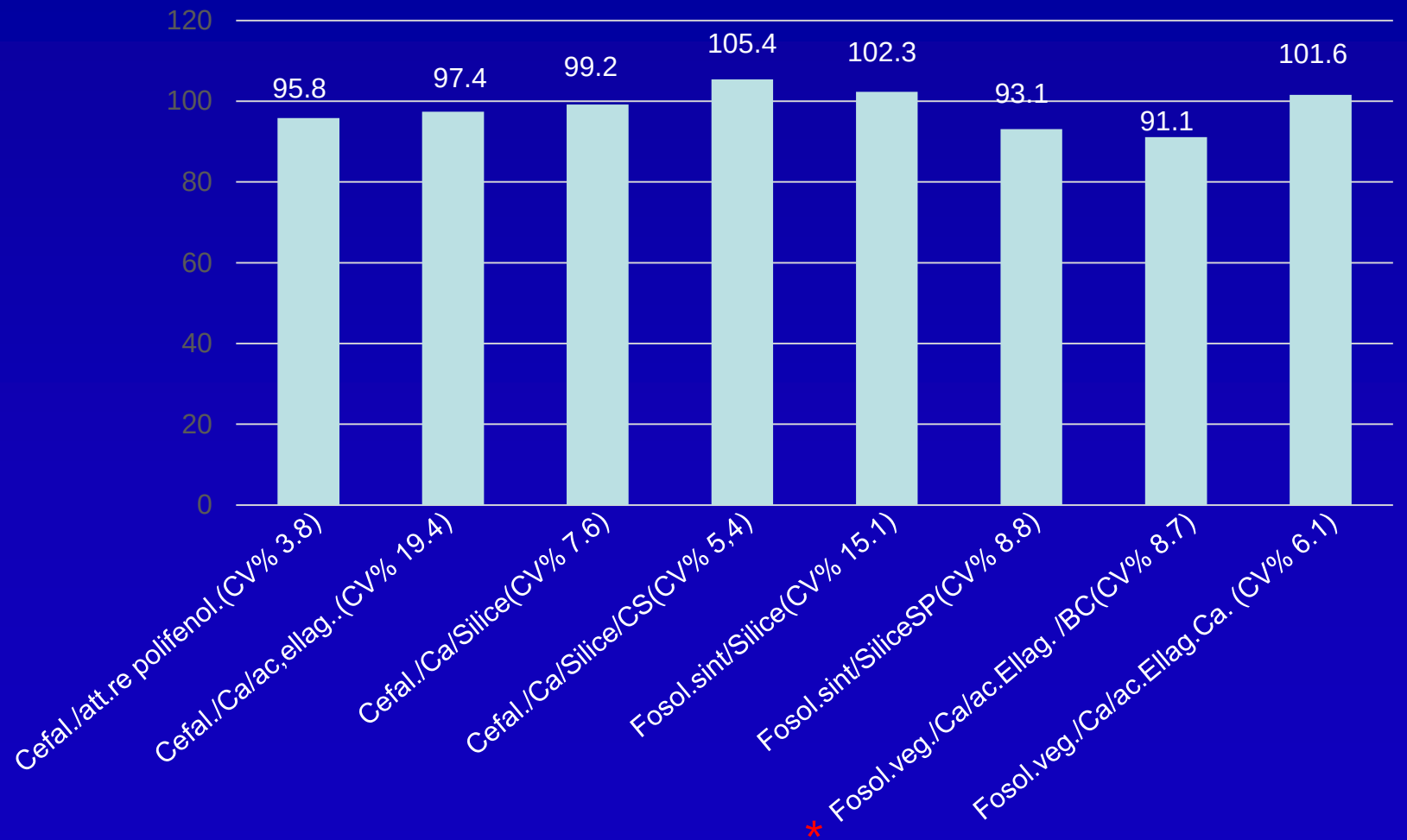
(aPTT)

Activated Partial Thromboplastin Time (aPTT)
Quali differenze ?

	Actin	Actin FS	Actin FSL	Pathrontin SL
Reagente Fosfolipidi	Cervello Coniglio	Fosfatidi di Soia	Fosfatidi di Soia e Coniglio	Fosfatidi Vegetali
Attivatore	Acido Ellagico	Acido Ellagico	Acido Ellagico	Silice
Valori Normali sec	25 - 35	25 - 33	25 - 33	26 - 36
Sensibilità Eparina	+	+++	++	++++
Sensibilità Fattori rilevare carenze almeno del 30%	++	++++	+++	++++
Sensibilità Lupus	++	+	++++	++

2017 Tempo di Tromboplastina Parziale Attivato (APTT: secondi)

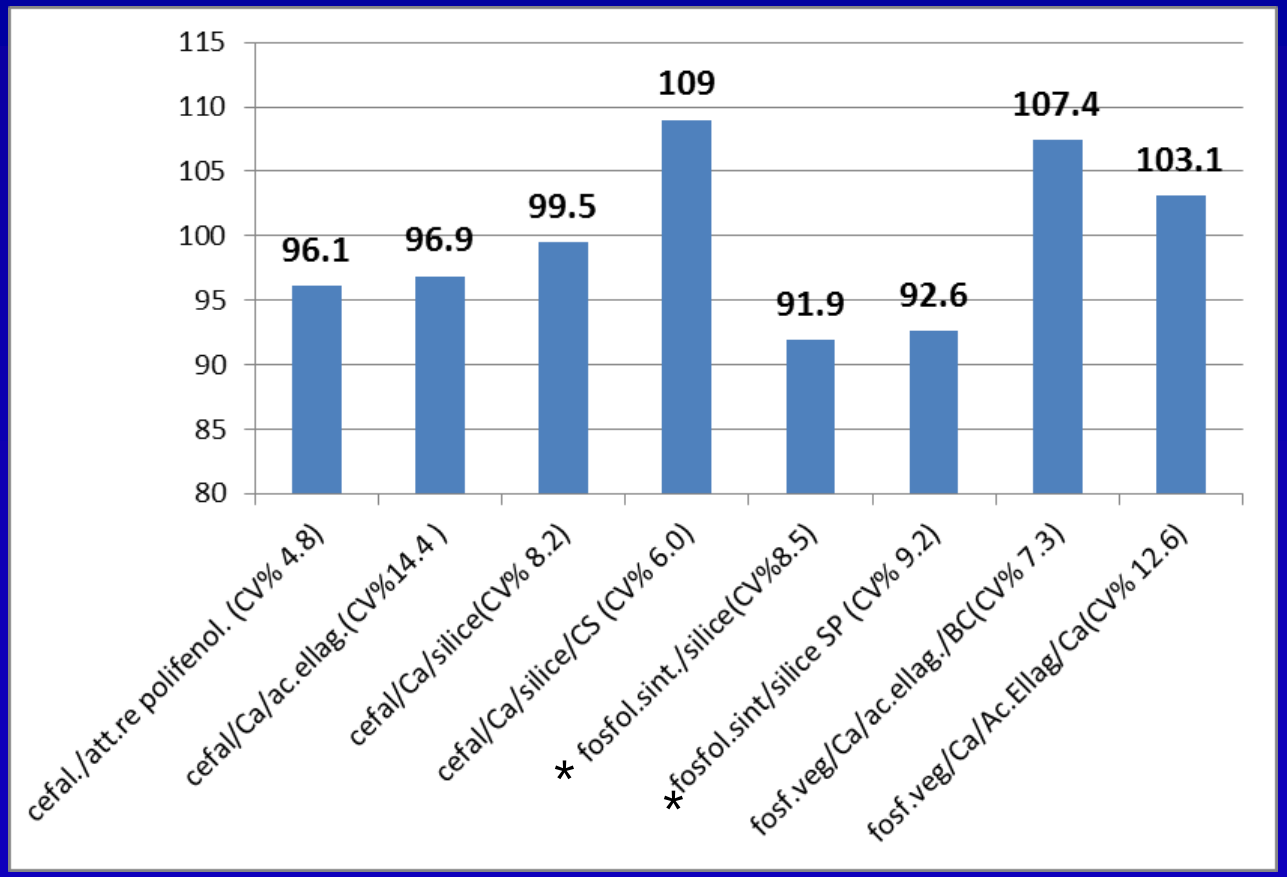
Imprecisione-Inesattezza metodi



*

2017 Tempo di Tromboplastina Parziale Attivato (APTT: Ratio)

Imprecisione-Inesattezza metodi



Opinion Paper

Clin Chem Lab Med 2016; 54(2): 215–222

Armando Tripodi*, Giuseppe Lippi and Mario Plebani

How to report results of prothrombin and activated partial thromboplastin times

APTT should be reported as ratio (patient-to-normal clotting time) together with the appropriate therapeutic interval for monitoring unfractionated heparin (UFH) and the appropriate normal reference range in all other situations (when used to investigate patients suspected of (or having) bleeding diathesis)

the APTT-ratio has additional advantages over the clotting time in seconds, as it contributes to minimize within laboratory variability of the measurement.

there are no specific recommendations on how to express results for the APTT when used to investigate patients suspected of (or having) bleeding diathesis. In our opinion, however, the APTT-ratio should also be recommended in this contex

Metodi di dosaggio del FIBRINOGENO

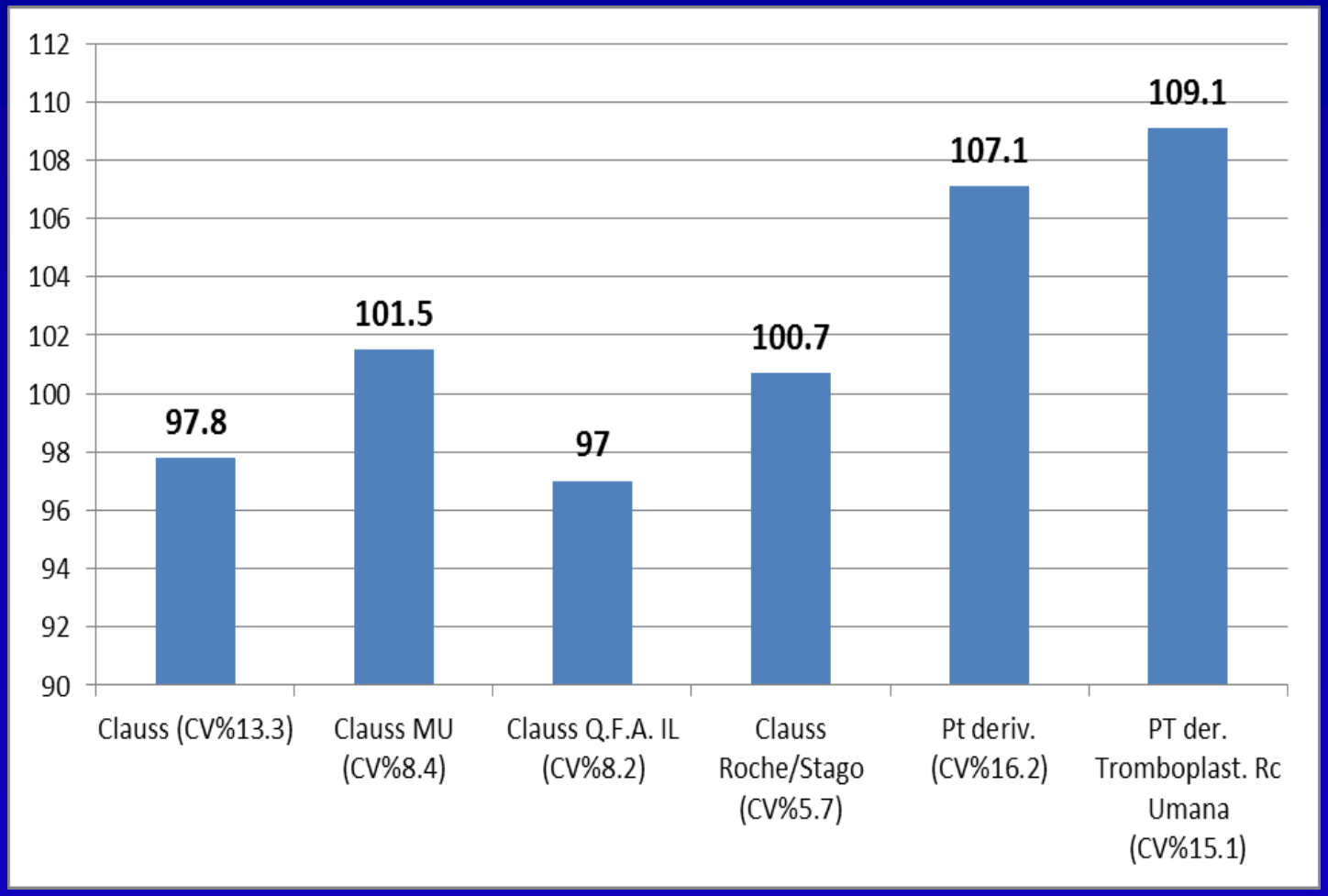
Metodi qualitativi: misura dell'attività

- Tempo di coagulazione (metodo di Clauss o della coagulazione con trombina : richiede plasma diluito e trombina in eccesso)
- Misura dell'incremento di D.O. durante la formazione del coagulo (metodo derivato dal PT)

Metodi quantitativi: dosaggio della molecola

- Dosaggio della proteina con metodi immunologici (sfrutta la capacità del fibrinogeno di comportarsi da antigene e reagire con anticorpi specifici anti-fibrinogeno = RID)

Fibrinogeno
2017 Imprecisione-Inesattezza metodi



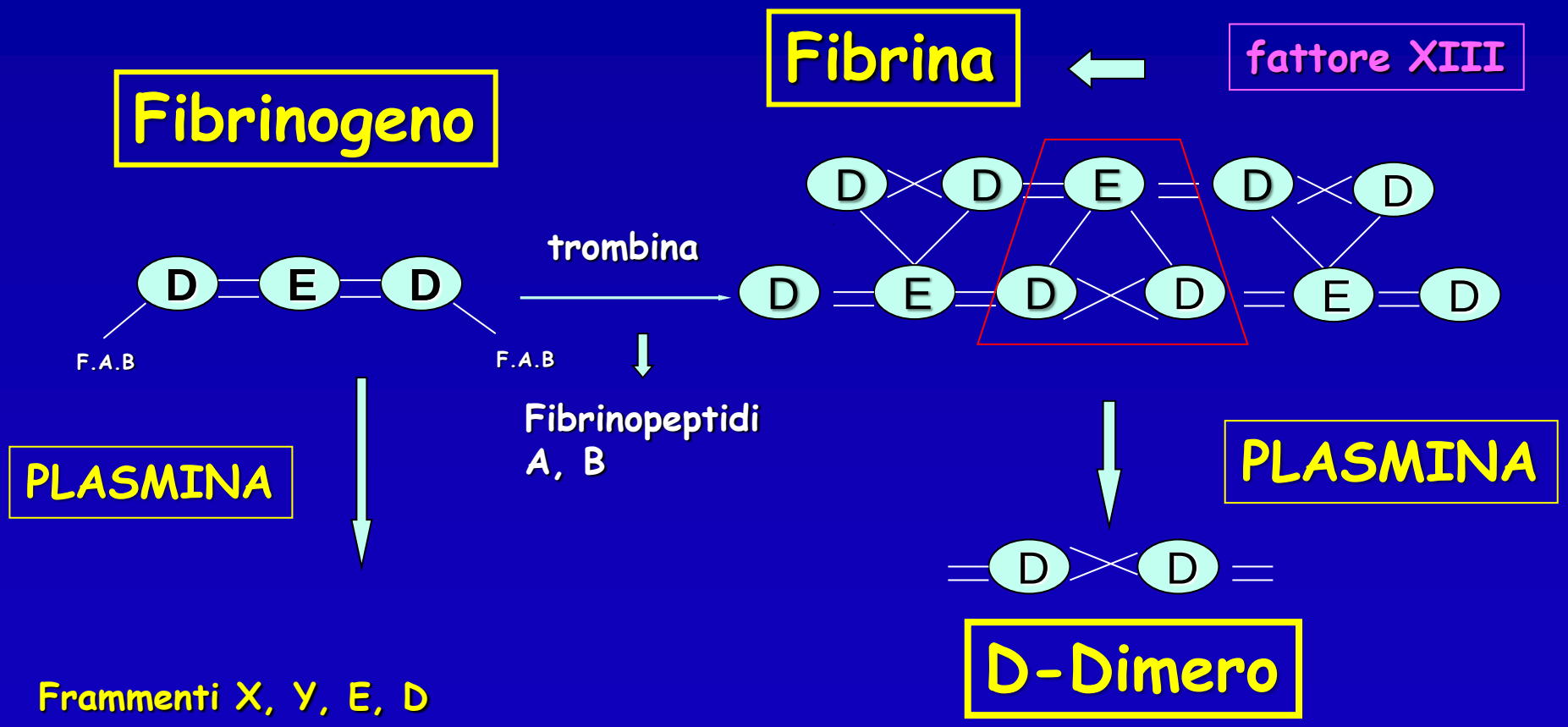
D-Dimero

COS'E' IL D-DIMERO?

Il D-Dimero è un frammento proteico rilasciato in circolo durante il processo di degradazione della fibrina cross-linked

- **Significato: la presenza indica attivazione della fibrinolisi successiva ad attivazione della coagulazione**

FIBRINOLISI



Frammenti X, Y, E, D
Fibrinogen Degradation Products

Il plasma contiene una miscela di prodotti di degradazione (ciascuno dei quali contiene il D-dimero) che sono molto diversi tra loro (anche per peso molecolare

Uso del D-Dimero nella diagnosi della trombosi venosa profonda e dell'embolia polmonare

I metodi per il dosaggio del D-Dimero hanno un'**elevata sensibilità** ma **bassa specificità** e vengono utilizzati per il loro **ELEVATO VALORE PREDITTIVO NEGATIVO**.

Un **valore elevato** di D-Dimero **non è** diagnostico per la trombosi venosa o l'embolia polmonare, mentre **un risultato normale esclude il sospetto di tali patologie**

Cut-off clinici

Nella maggior parte delle applicazioni cliniche non interessa sapere se un valore dei D-dimeri è normale o patologico riferendosi ad una popolazione sana, bensì se si può escludere/confermare sulla base del risultato la presenza di una certa patologia

- Evitare l'uso del range di normalità
- Buono se derivato dalla letteratura
- Ottimale se calcolato in uno studio pilota (curve ROC)

Metodi per la determinazione del D-Dimero

- **ELISA** (test quantitativo): richiede tempi di esecuzione lunghi, ha elevata sensibilità, ha elevato VPN
- **Agglutinazione di particelle di lattice su vetrino** (semiquantitativo, manuale): ha bassa sensibilità e basso VPN, operatore dipendente
- **Immunoturbidimetrico**:(quantitativo, automatizzato): rapido, buona sensibilità e buon VPN
- **Agglutinazione su sangue intero**: (qualitativo/quantitativo), eseguibile al letto del paziente, buona sensibilità e buono VPN, operatore dipendente.

STANDARDIZZAZIONE dei metodi per il dosaggio dei D-Dimeri

Dal 1993 il SSC per la standardizzazione dei metodi della ISTH ha fatto vari tentativi di standardizzazione utilizzando materiali diversi (D-Dimero purificato, plasma di pazienti con CID) ma nessuno di questi materiali ha permesso la standardizzazione dei vari metodi commerciali

- I risultati sono metodi dipendenti
- Ciascun metodo dove essere validato da specifici studi clinici

PROBLEMI

Standardizzazione dei metodi

1°eterogeneità dell'analita

D Dimero isolato presente in piccola quantità

Frammenti più grandi frequentemente aggregati

Miscela di prodotti di degradazione

2°scelta del calibratore

- D-Dimero purificato = risultati in unità D-Dimero
- Fibrina stabilizzata digerita con plasmina = risultati in unità di fibrinogeno equivalenti (FEU) o in unità D-Dimero. (1 unità FEU ≈ 2 unità D-Dimero)

3°tipo di anticorpi monoclonali utilizzati

Il D-Dimero, contenuto all'interno dei diversi prodotti di degradazione, può avere una diversa immunoreattività per l'anticorpo usato, in funzione della diversa esposizione degli epitopi

	DD HS DEU < 250 ng/mL	DD VIDAS FEU < 500 ng/mL
paziente A	220	1081
paziente B	180	851
paziente C	2438	276
paziente D	2998	489
paziente E	2353	271

Documento di consenso AcEMC, CISMEL, SIBioC e SIMeL sull'utilizzo del D-dimero per il sospetto di tromboembolismo venoso in urgenza.

G.Lippi, G.Cervellin, I.Casagranda, B. Morelli, S.Testa, A.Tripodi.

20.02.2014 SIBioC

Riassunto delle indicazioni di consenso per la determinazione del D-dimero in urgenza in pazienti con sospetto tromboembolismo venoso

Tab.1

- Il risultato del D-dimero non dovrebbe essere utilizzato a sé stante per escludere o diagnosticare il TEV
- La determinazione del D-dimero dovrebbe essere utilizzata nell'ambito di un algoritmo diagnostico validato
- Utilizzare tecniche di imaging in accordo con le raccomandazioni attuali
- Determinare preferibilmente il D-dimero in un campione di sangue anticoagulato con 3.2% (105-109 mM) sodio citrato
- Raccogliere il campione utilizzando preferibilmente prelievo con ago tradizionale
- Utilizzare metodi immunochimici quantitativi e validati
- Preferire metodi con elevato valore predittivo negativo e accettabile valore predittivo positivo
- Linearità del metodo preferibilmente compresa tra 50 e 5000 µg/L
- Imprecisione del metodo alla soglia diagnostica inferiore al 10%
- Valutare la possibile presenza di errori analitici ed interferenze
- Tempo di risposta (turnaround time, TAT) inferiore a 60 minuti
- Non ripetere la determinazione del D-dimero prima di 6-8 ore
- Riportare i risultati in termini di µg/L di fibrinogeno equivalenti (FEU)
- Utilizzare un cut-off validato clinicamente al di sotto di 50 anni (ad esempio 500 µg/L FEU)
- Utilizzare un cut-off aggiustato per età al di sopra dei 50 anni, utilizzando preferibilmente la formula [cut-off, µg/L FEU] = [età in anni] x [10]
- Considerare che specificità del D-dimero è sostanzialmente ridotta in presenza di varie comorbidità
- Risultati ottenuti con metodi diversi non devono mai essere confrontati
- Considerare che le prestazioni analitiche del test sono sostanzialmente ridotte in pazienti con presentazione molto precoce (es. entro 2-3 ore) o tardiva (es. dopo 15 giorni) dalla comparsa del TEV, in pazienti sottoposti a fibrinolisi o terapia anticoagulante

Potential of an age adjusted D-dimer cut-off value to improve the exclusion of pulmonary embolism in older patients: a retrospective analysis of three large cohorts

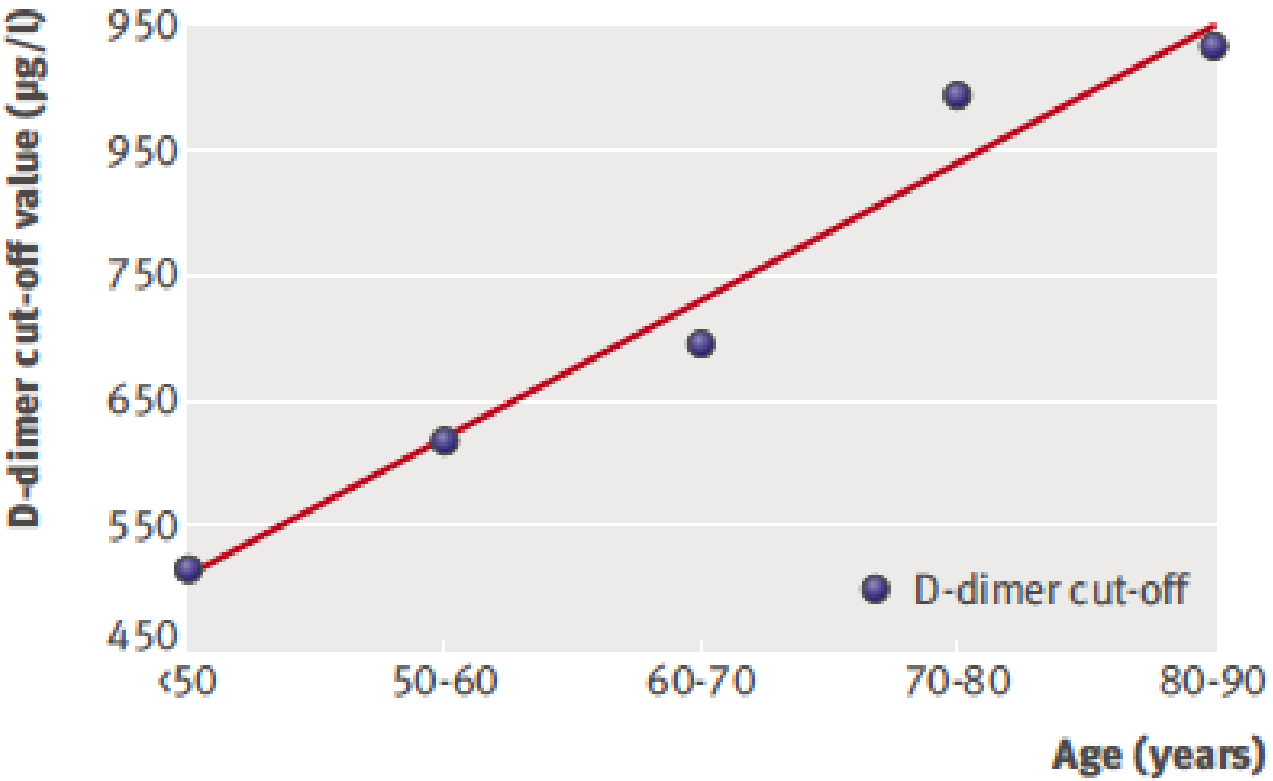
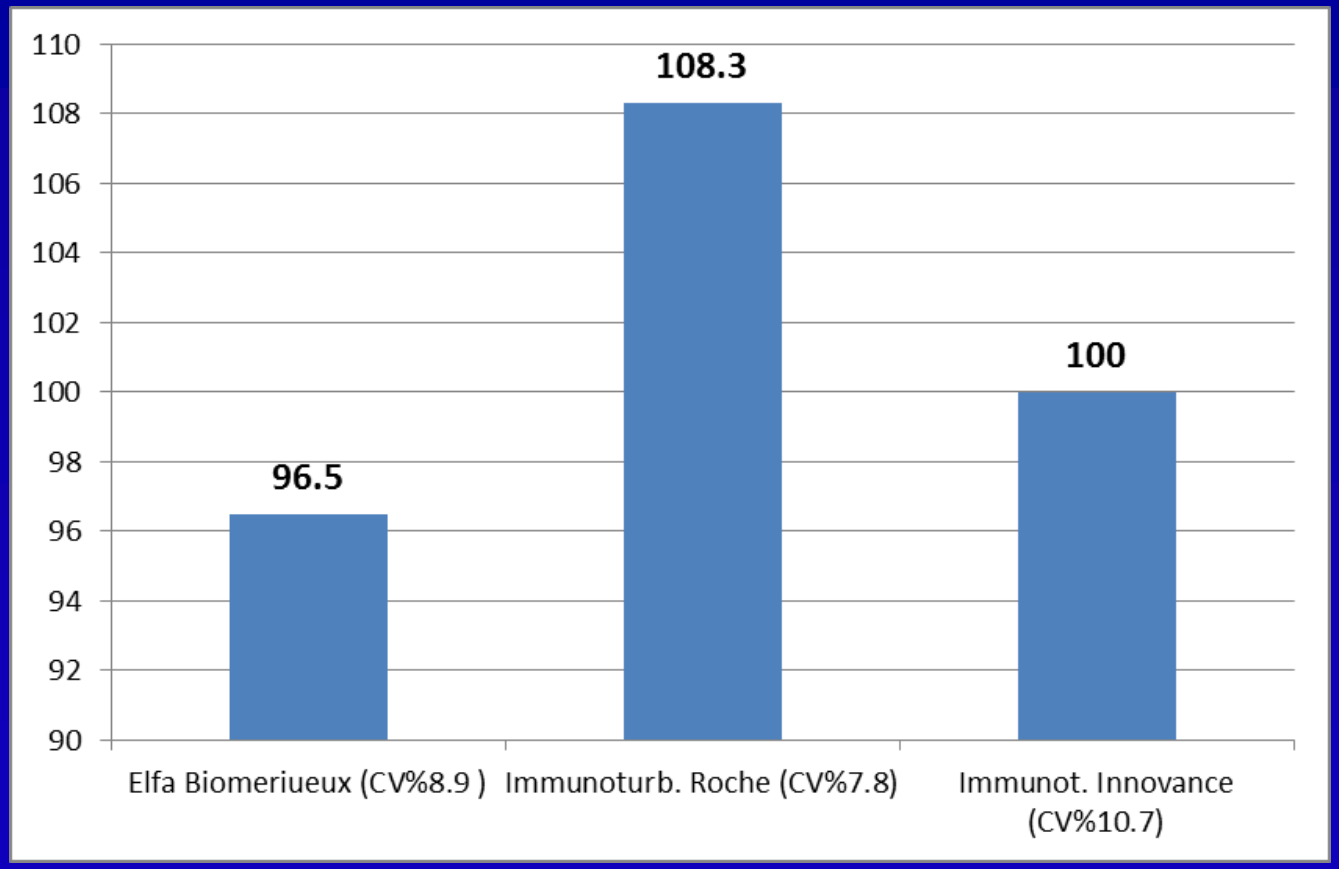


Fig 1 | Optimal cut-off values for D-dimer test for pulmonary embolism by age in patients with an unlikely clinical probability of pulmonary embolism (sensitivity set at 100%)

R.A.Douma et al BMJ 2010

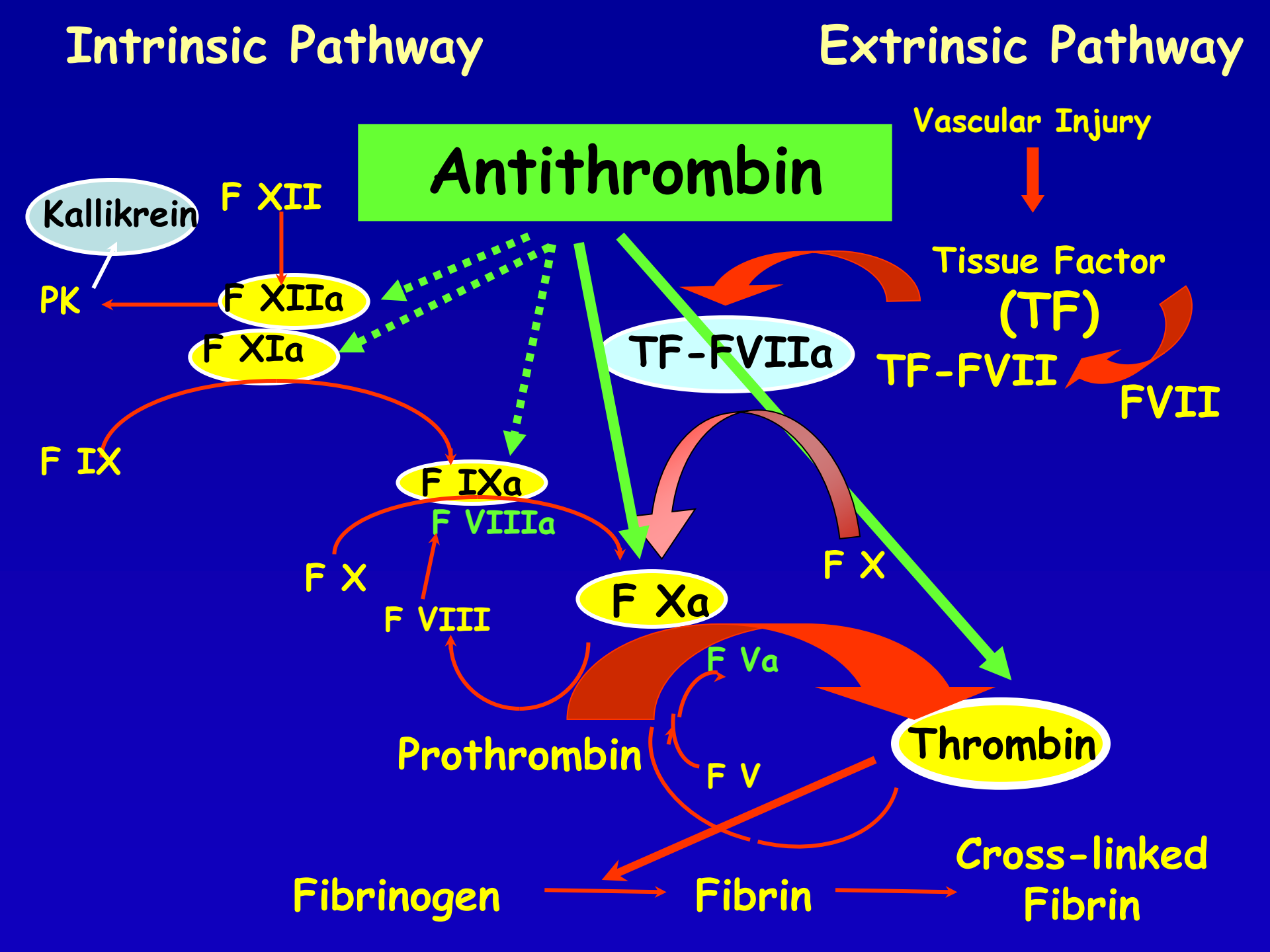
D-dimero FEU
2017 Imprecisione-Inesattezza metodi



ANTITROMBINA

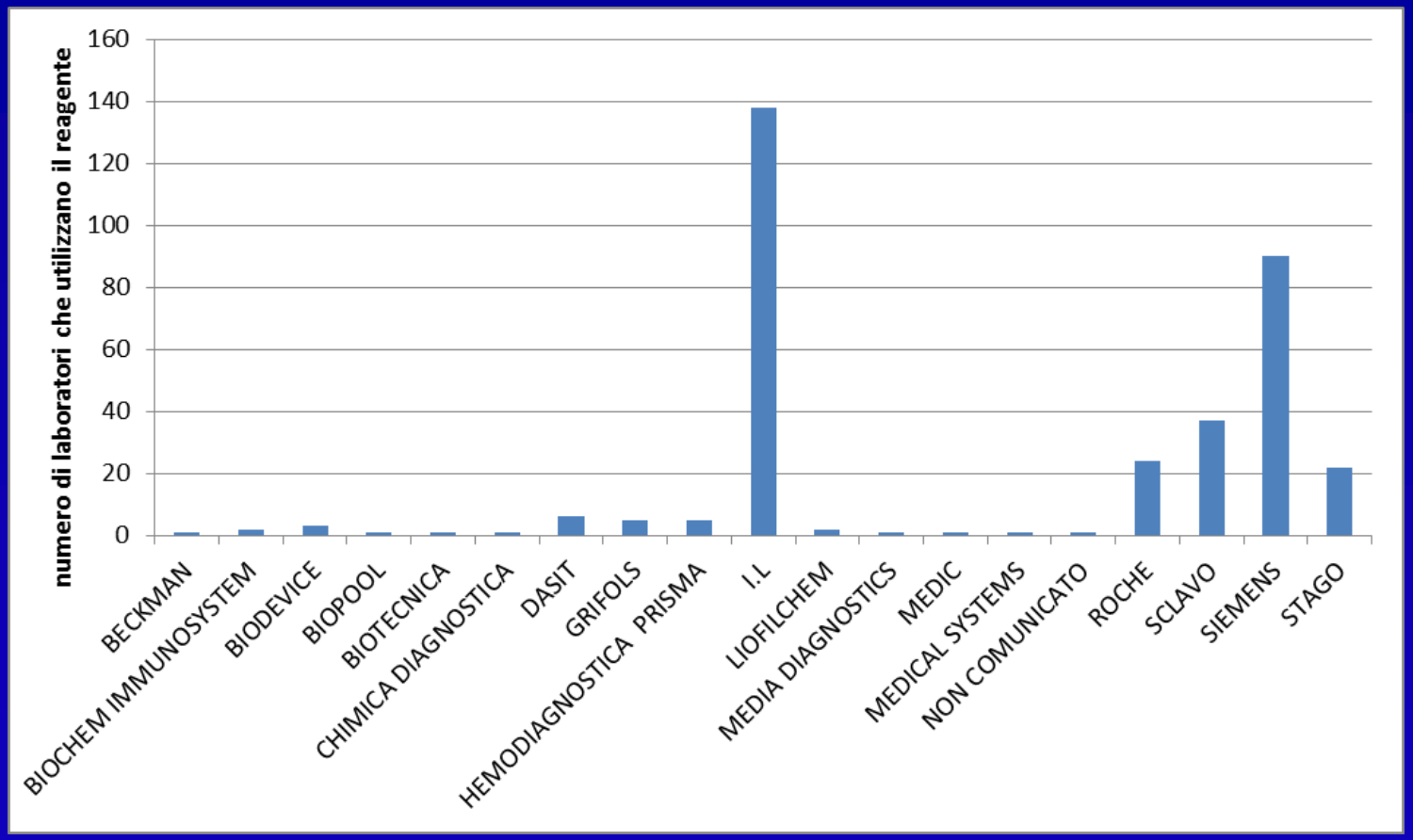
ANTITROMBINA
Definizione

- Glicoproteina a singola catena
- Peso molecolare 58 KD
- Circola nel plasma in due isoforme (α che rappresenta il 90% dell'AT totale e β che è circa il 10%).
- Sintetizzata negli epatociti e nelle cellule endoteliali ed escreta dai reni
- Emivita 36-60 ore
- Appartiene alla famiglia delle serpine (inibitore delle serin-proteasi) e inibisce le proteasi seriniche che intervengono nel processo coagulativo.


Intrinsic Pathway
Extrinsic Pathway
Antithrombin
Vascular Injury
Kallikrein
F XII
PK
F XIIa
F XIa
F IX
F IXa
F VIIIa
F X
F VIII
F Xa
TF-FVIIa
Tissue Factor
(TF)
TF-FVII
FVII
F X
F Va
F V
Prothrombin
Thrombin
Fibrinogen
Fibrin
Cross-linked
Fibrin

Antitrombina

metodo cromogenico – ditte produttrici reagente 2017



ANTITROMBINA

Diagnosi di laboratorio

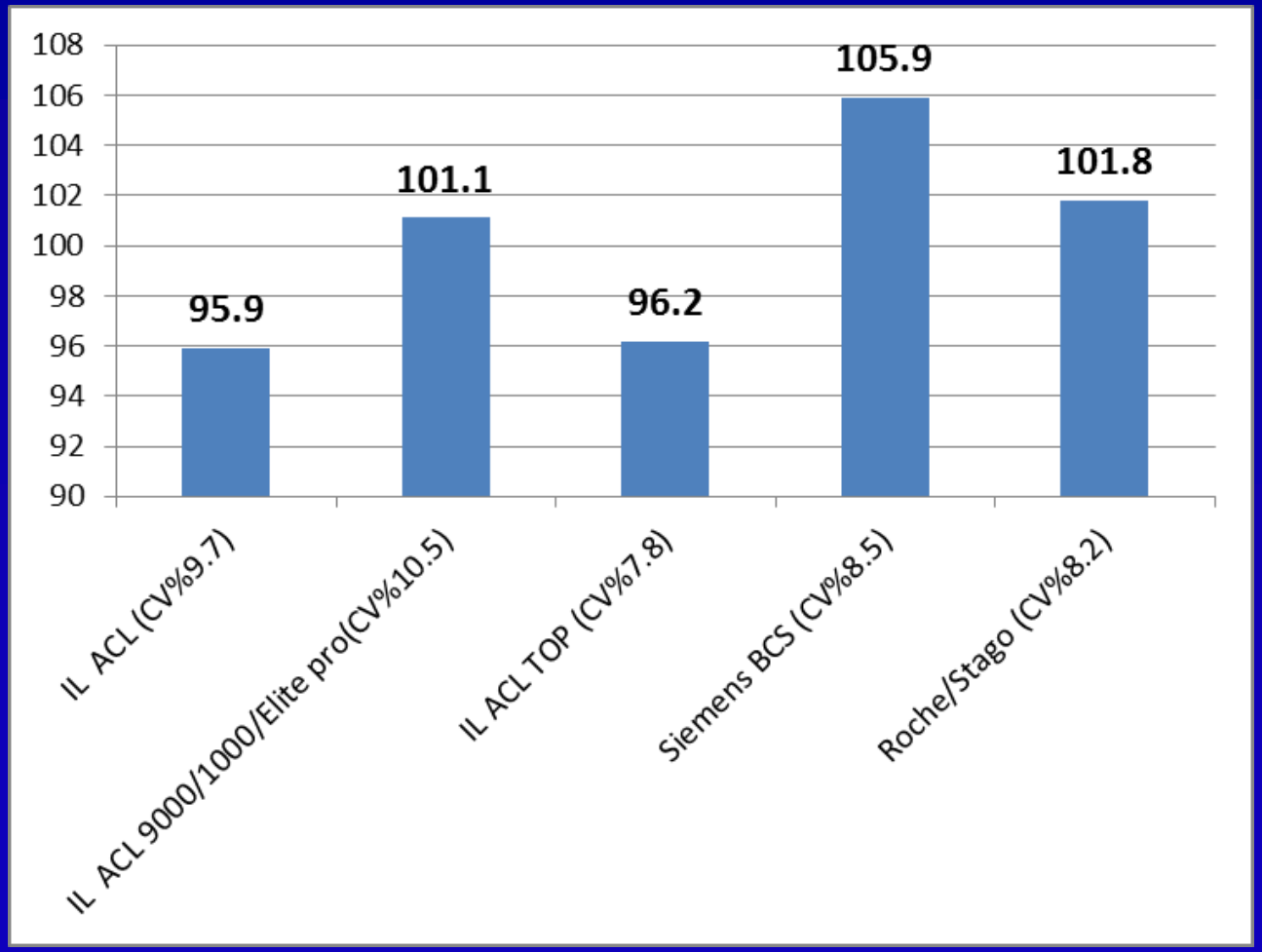
Metodi immunologici	Metodi funzionali: metodi coagulativi metodi cromogenici
Immunodiffusione radiale	Anti-IIa senza eparina
Immunoturbidimetria	Anti-Xa senza eparina
ELISA	Anti-IIa con eparina
Immunoelettroforesi crociata in presenza di eparina (per le varianti HBS e RS)	**Anti-Xa con eparina**

ANTITROMBINA: Metodo cromogenico

- Il test è basato sull'utilizzo di:
  - un **substrato sintetico cromogenico** e sulla
  - **inattivazione del fattore Xa (o del FIIa)**

- Incubazione del plasma, fortemente diluito, con il reattivo **Fattore Xa** (o FIIa) in presenza di un eccesso di **eparina**
- Determinazione **dell'attività residua** del Fattore Xa (o del FIIa) con un substrato cromogenico.
- La paranitroanilina rilasciata è monitorata cineticamente a 405 nm ed è **inversamente proporzionale** al livello di antitrombina presente nel campione.

Antitrombina %
2017 imprecisione-inesattezza
ditte produttrici reagente



ANTITROMBINA

Metodo immunologico

Solo per la classificazione dei difetti eredofamiliari

Principio metodo: il plasma del paziente viene incubato con anticorpi anti-AT, il complesso Ag-Ab viene rilevato con diverse metodiche (**immunodiffusione**, nefelometria, **immunoturbidimetria**)

Branca: COAGULAZIONE 1
Ciclo: Ciclo 2017
Cod. Lab.: 00205

Analita: AT (mg/dL)
Metodo: - TUTTI -
Strumento: - TUTTI -

IMMUNOLOGICO (su piastra) NEFELOMETRICO TURBIDIM.

Stampa

IMMUNOLOGICO (su piastra)						
Strumento:	**Pool**	**Concentr.**	**U.M.**	**N.**	**Valore Medio (%)**	**C.V.**
- TUTTI -	**1***	22.2	mg/dL	5	118.5	N.D
	2*	24.8	mg/dL	6	106.6	N.D
	3*	20.9	mg/dL	4	112.1	N.D
	4	26.4	mg/dL	7	104.0	31.8
	5*	14.5	mg/dL	4	109.7	N.D
	6	15.8	mg/dL	7	121.2	17.1
	7*	9.5	mg/dL	5	107.3	N.D
	8*	16.4	mg/dL	4	111.8	N.D
	9*	25.2	mg/dL	6	114.0	N.D
	10	8.7	mg/dL	7	111.4	21.5
	11	16.5	mg/dL	7	112.4	25.2
	12*	11.6	mg/dL	6	106.6	N.D
	TUTTI*		mg/dL	28	N.D	N.D
MANUALE						

NEFELOMETRICO						
Strumento:	**Pool**	**Concentr.**	**U.M.**	**N.**	**Valore Medio (%)**	**C.V.**

Antithrombin assays

ACTIVITY

IMMUNOLOGICAL
measures only type I deficiency

Clotting
Plasma samples require defibrination
Slow assay, high variability

Chromogenic
Good precision, simple to use

FIIa
Influenced by heparin cofactor II, (no accurate determination in patients receiving heparin therapy) and by thrombin inhibitors.

FXa
The most used assay recommended by ISTH
Better diagnotic accuracy

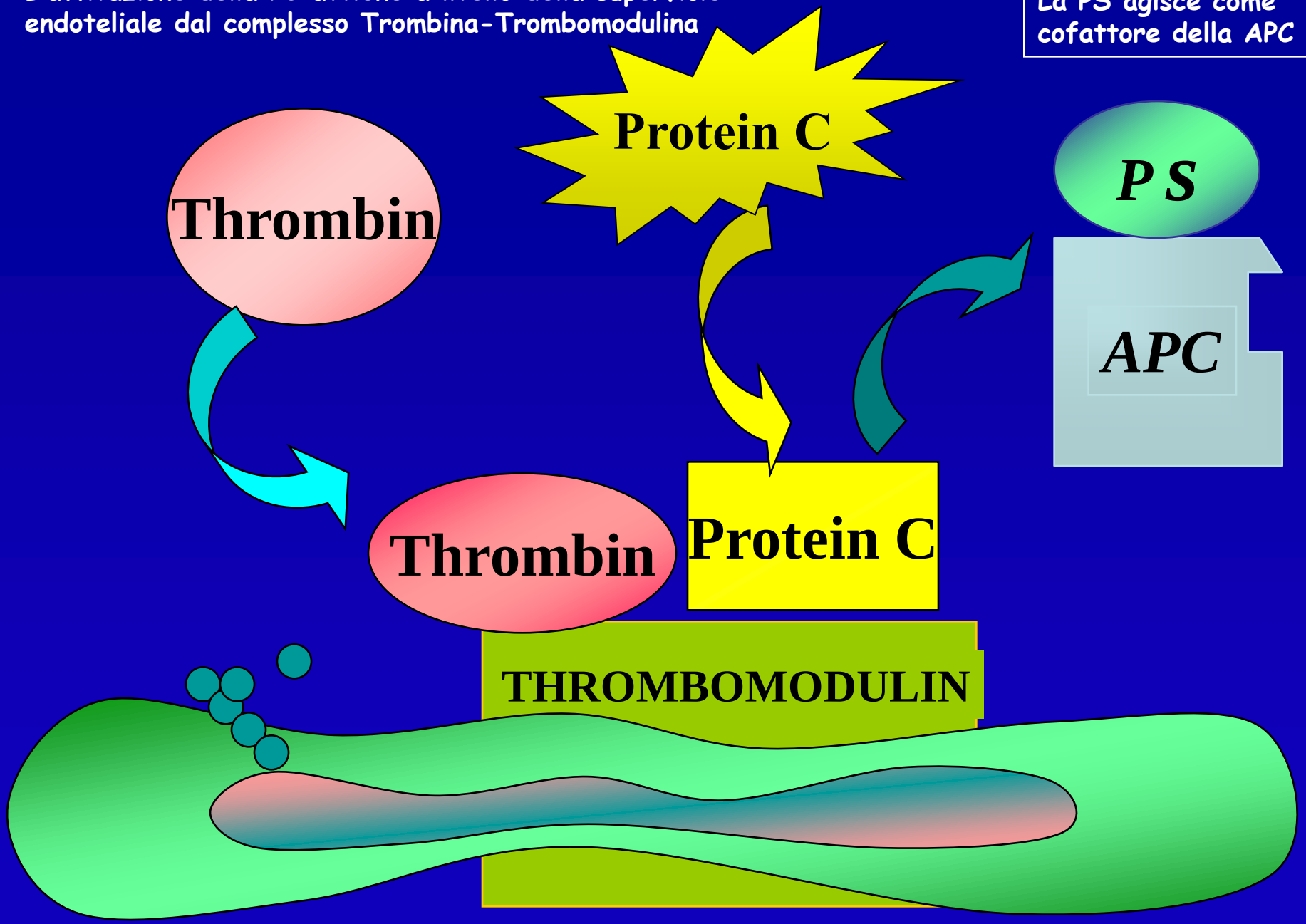
Proteina C

Proteina C

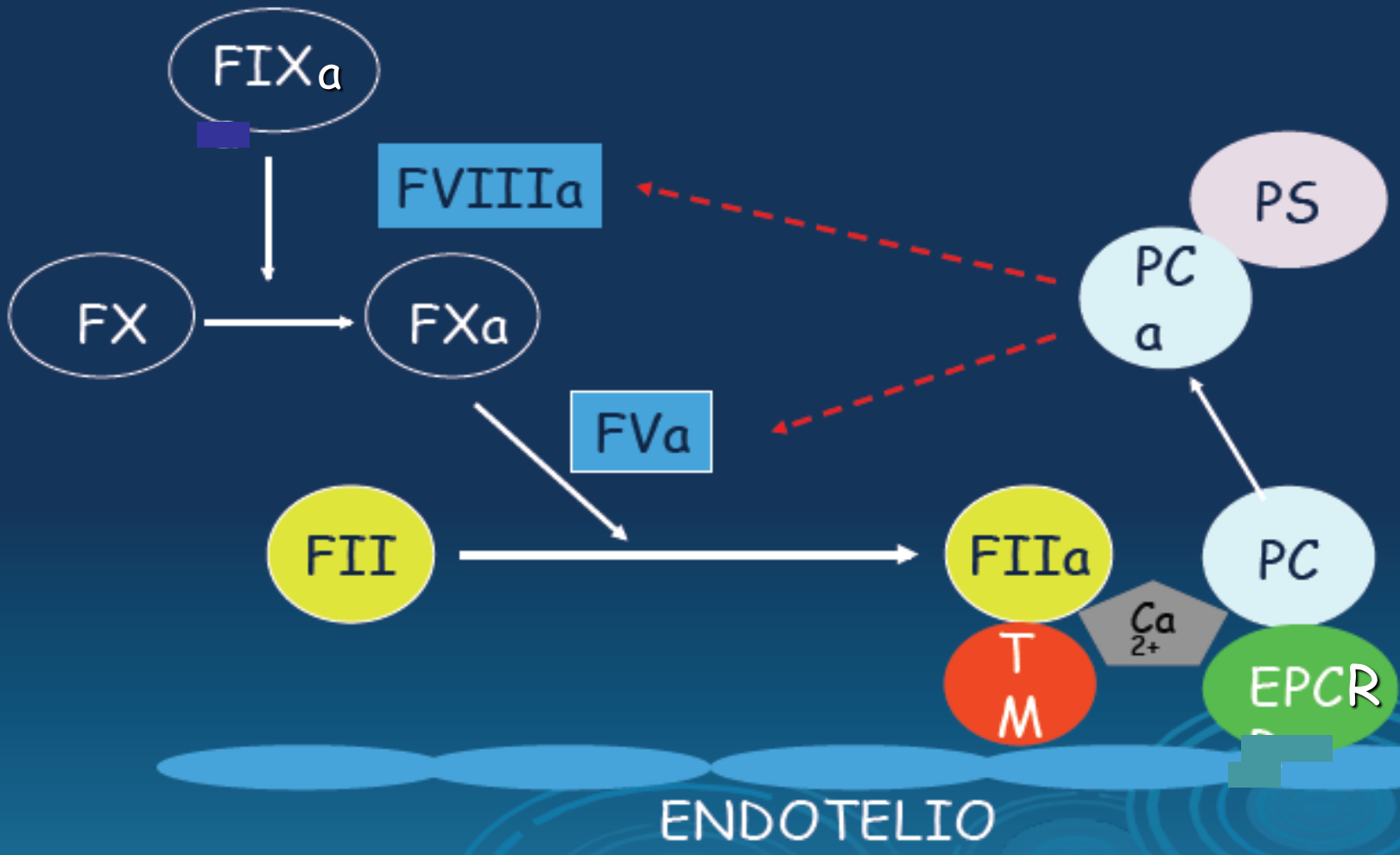
- Glicoproteina vitamina K-dipendente
- Doppia catena (catena leggera PM 21 KD, catena pesante PM 41 KD)
- Sintetizzata nel fegato ed escreta dai reni
- Emivita di 7 ore
- Forma nativa non attiva
- Primo difetto ereditario scoperto nel 1981

L'attivazione della PC avviene a livello della superficie endoteliale dal complesso Trombina-Trombomodulina

La PS agisce come cofattore della APC



Meccanismo anticoagulante del sistema della Proteina C



La proteina C attivata (APC) degrada i fattori Va e VIIIa della coagulazione

DEFICIT DI PROTEINA C

I **dosaggi funzionali** si basano sull'attivazione della Proteina C con veleno di serpente (Protac) e sua valutazione come capacità di allungare un aPTT (**metodo coagulometrico**) o di agire su di un substrato cromogenico **(metodo cromogenico)**

- Il **metodo coagulativo** evidenzia tutti i difetti di tipo II, sensibile a tutte le possibili alterazioni della PC (interazione PC/Ca^{2+},fosfolipidi, PS, FV e FVIII)
- I livelli misurati con metodo coagulometrico possono risultare diminuiti, nei pazienti con APC-resistence, ↑ FVIII
- Falsi valori normali in soggetti con LAC

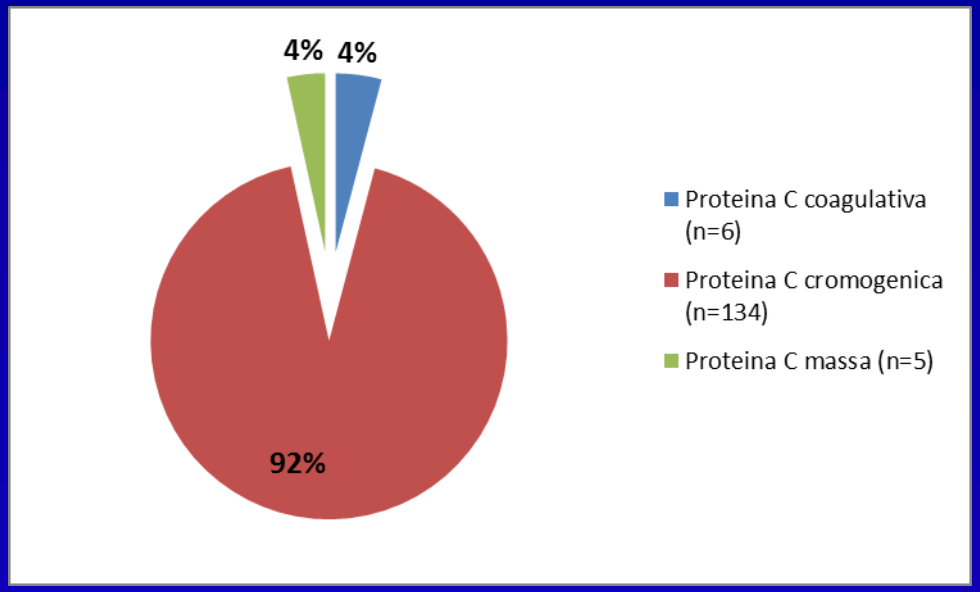
Metodo di "riferimento" per il dosaggio della Proteina C

Proteina C (PC) **metodo cromogenico**

(con veleno di rettile)

- non risente di lievi carenze fattoriali
- non risente di fattori interferenti (↑FVIII, FVLeiden)
- migliore standardizzazione del metodo

Coagulazione ciclo 2017
Proteina C
Metodi di dosaggio



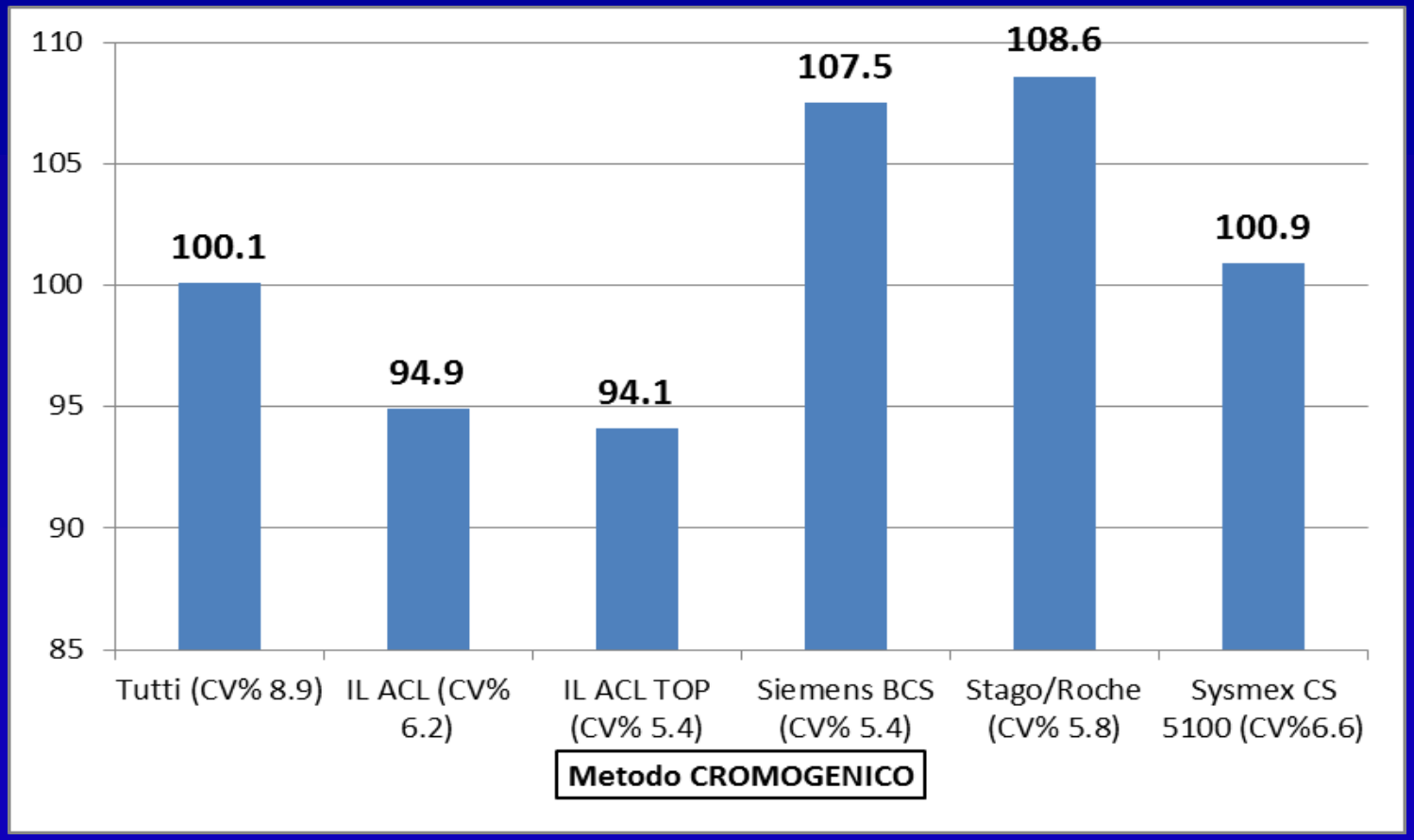
145 laboratori

5/145proteina C immunologica < 7 numero determinazioni: **nd**

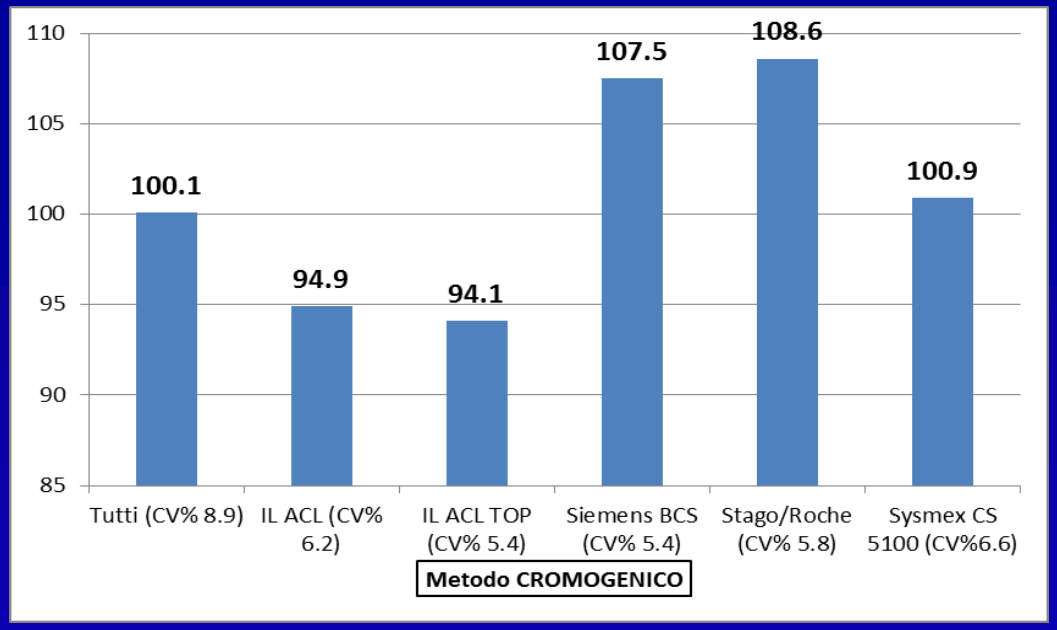
6/145 proteina C coagulativa < 7 numero determinazioni: **nd**

134/145 proteina C cromogenica

Proteina C (metodo cromogenico)
2017 Imprecisione-Inesattezza metodi

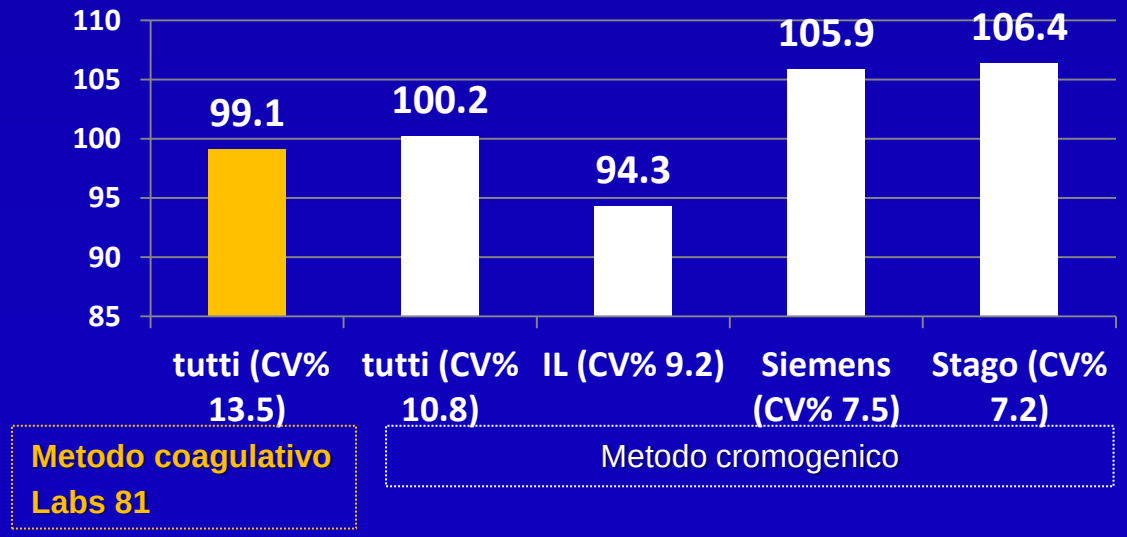


2017



Proteina C (metodo coagulativo e cromogenico) Imprecisione-Inesattezza metodi

2016

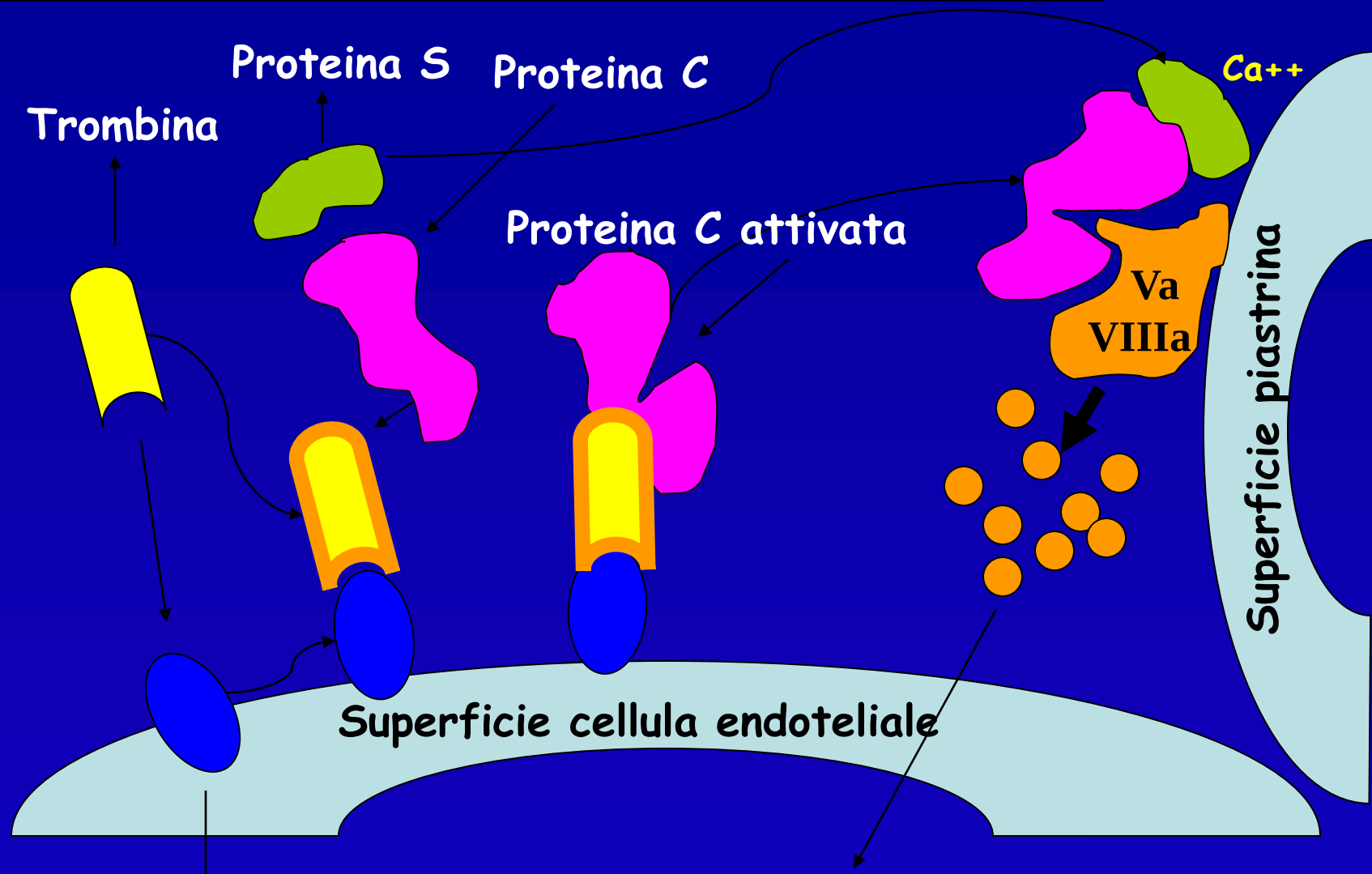


Proteina S

Proteina S

- **Glicoproteina vitamina K-dipendente**
- **Peso molecolare 64 KD**
- **Singola catena**
- **Sintetizzata dal fegato, dalle piastrine, dalle cellule endoteliali e dai megacariociti midollari ed è escreta dai reni**
- **Agisce come cofattore della proteina C attivata nella inattivazione dei fattori Va e VIIIa**
- **Emivita 36-60 ore**
- **Primo difetto ereditario scoperto nel 1984**

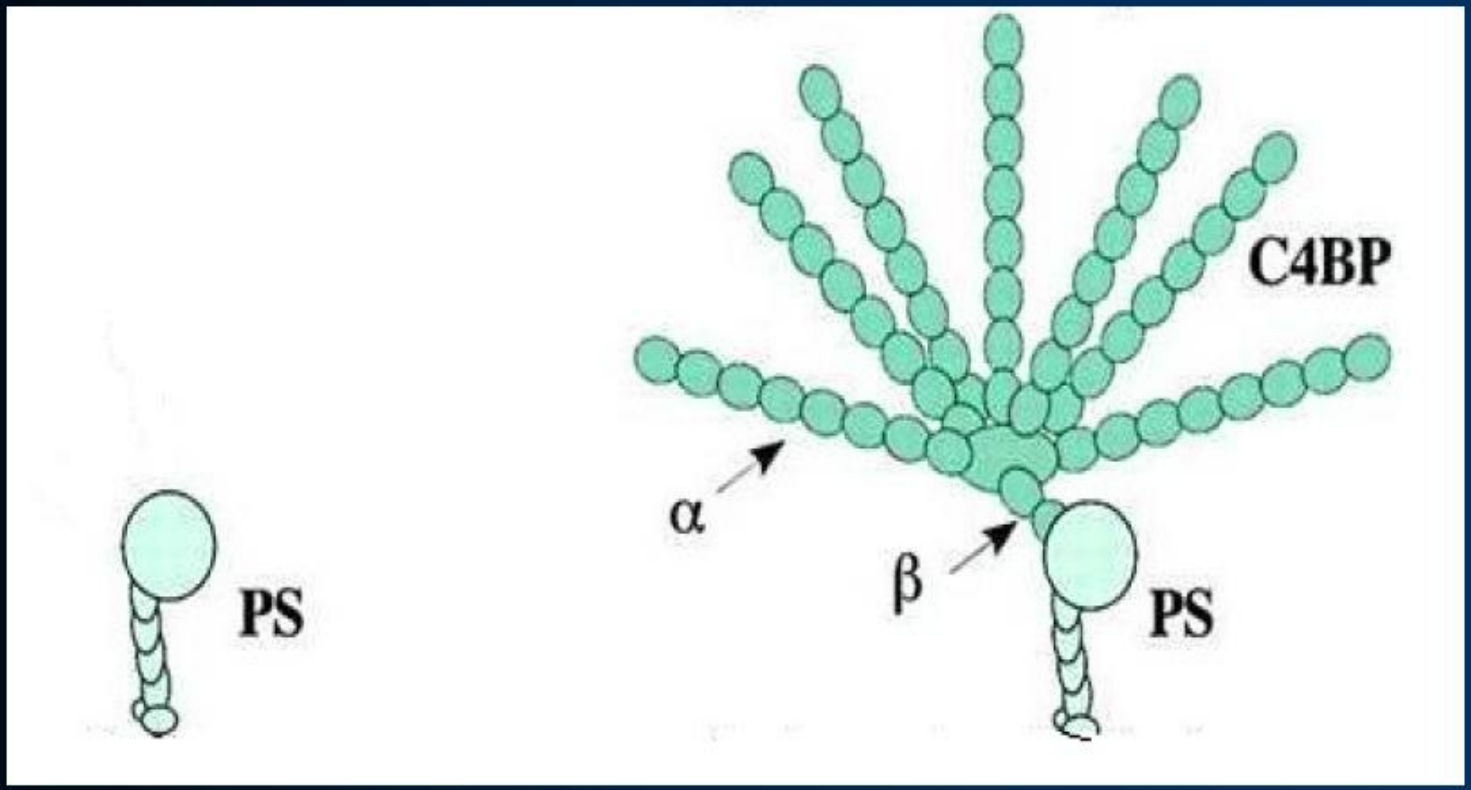
IL SISTEMA PROTEINA C / PROTEINA S



Degradazione proteolitica estensiva del Va e del VIIIa, primariamente sulla superficie piastrinica, ma anche su quella endoteliale e leucocitaria

[TPS] ≈ 25 mg/L (0.30 µM)
Emivita 36÷42 h

~40% FPS ~60% BPS



Dahlbäck B , Villoutreix B O Arterioscler Thromb Vasc Biol 2005; Mod

Metodi per la determinazione della Proteina S

Immunologici	Coagulativi
Immunoelettroforesi bidimensionale Elettroimmunodiffusione IRMA ELISA (PS tot e PS libera) Immunoturbidimetrico (PS libera)	Prolungamento dei tempi di coagulazione: aPTT o PT, con fattore Xa, indotto dalla PC attivata in funzione della proteina S (Interferenze: Fatt.V Leiden, elevati livelli di Fatt. VII e Fatt.VIII)

Proteina S totale immunologica

Solo per la classificazione dei difetti eredofamiliari

- **Immunoelettroforesi secondo Laurell**
- **RIA (RadioImmunoAssay)**
- **IRMA (ImmunoRadioMetricAssay)**
- **ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)**

La scelta di un kit tra quelli che offre il mercato deve essere operata sulla base delle caratteristiche di sensibilità e di specificità del kit stesso.

Inoltre è importante che:

1- sia la PS libera che la PS legata al C4bBP siano riconosciute dall'anticorpo utilizzato nel kit

2- I risultati non devono essere influenzati dalle variazioni della frazione legata al C4bBP

Metodo di "riferimento" per il dosaggio della Proteina S

Proteina S (PS) libera — **metodo immunologico**

- **non risente di fattori interferenti (↑FVIII, ↑FVIIa, FVLeiden)**
- **migliore standardizzazione del metodo**

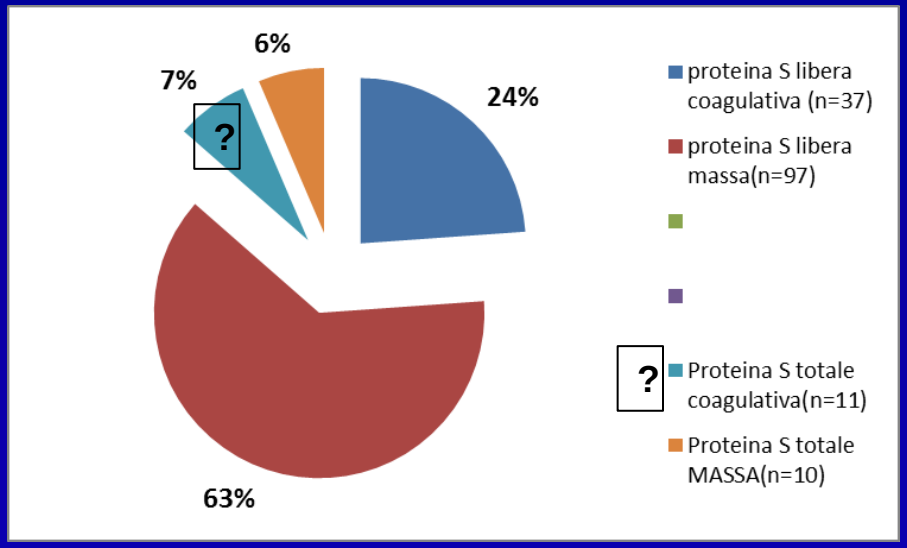
Plasma Phenotype classification of protein S deficiencies and the estimated incidence

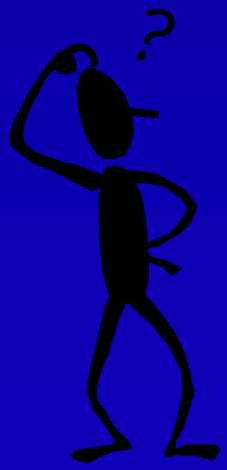
Type	PS activity	Free PS antigen	Total PS antigen	Estimated Incidence*
I	Decreased	Decreased	Decreased	Up to 80%
II	Decreased	Normal	Normal	0,1 - 5%
III	Decreased	Decreased	Normal	Up to 20%

* % for each type

Marlar R, Am.J. of Hematology 2011

Coagulazione ciclo 2017
Proteina S Libera e Totale





Laboratori proteina S
37+97= 155

Laboratori proteina S libera
= 134

Laboratori proteina S totale
11+10= 21

7% dei partecipanti dichiara ERRONEAMENTE di fare la Proteina S totale con metodo coagulativo

Variazioni riguardanti Proteina C e Proteina S nel ciclo 2018

VEQ coagulazione 1

Prestazione	U.M.	Risultati Quantitativo	Qualitativo	
P.T.(ratio)	RATIO	_ . _ _		Inserisci/Modifica Meto
P.T.(sec.)	sec.	_ _ . _		
P.T.(%)	%	_ _ _ . _		Inserisci/Modifica Meto
P.T.(I.N.R.)	INR	_ . _ _		Inserisci/Modifica Meto
ISI		_ _ . _ _		
POOL DI RIFER. P.T.	sec.	_ _ . _		
aP.T.T.(sec)	sec.	_ _ _ . _		Inserisci/Modifica Meto
aP.T.T.(ratio)	RATIO	_ . _ _		Inserisci/Modifica Meto
POOL DI RIFER. aPTT	sec.	_ _ _ . _		
FIBRINOGENO	mg/dL	_ _ _		Inserisci/Modifica Meto
AT (%)	%	_ _ _ . _		Inserisci/Modifica Meto
AT (mg/dL)	mg/dL	_ _ _ _ . _ _		Inserisci/Modifica Meto
D-DIMERO	µg/L	_ _ _ _ . _		Inserisci/Modifica Meto
D-DIMERO FEU	µg/L FEU	_ _ _ _ . _		Inserisci/Modifica Meto
Proteina C antigene	%	_ _ _ . _		Inserisci/Modifica Meto
Proteina S attività	%	_ _ _ . _		Inserisci/Modifica Meto
Proteina C attività	%	_ _ _ . _		Inserisci/Modifica Meto
Proteina S totale Ag	%	_ _ _ . _		Inserisci/Modifica Meto
Proteina S Libera Ag	%	_ _ _ . _		Inserisci/Modifica Meto

Proteina C
Proteina S totale
Proteina S libera

VEQ coagulazione 1 ciclo anni precedenti

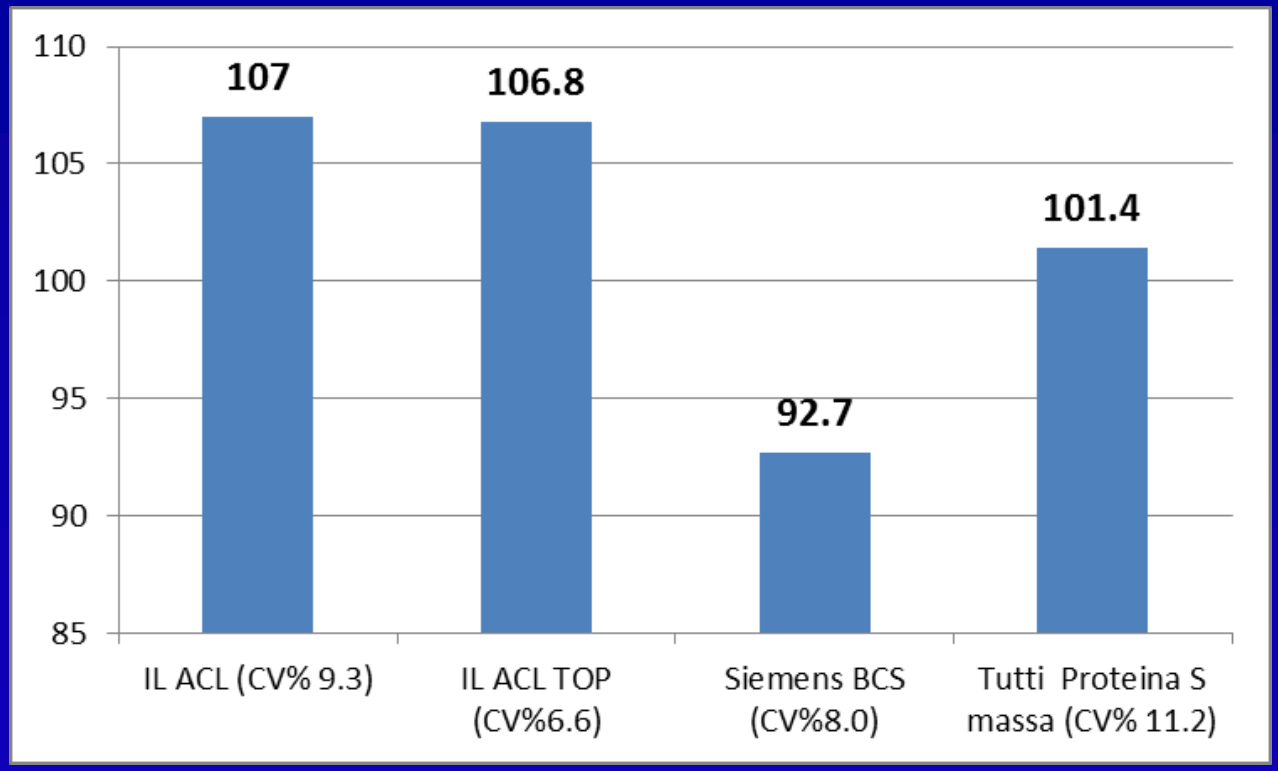
Variazioni su invio dei risultati riguardanti Proteina C e Proteina S VEQ Coagulazione 1 ciclo 2018

consentirà

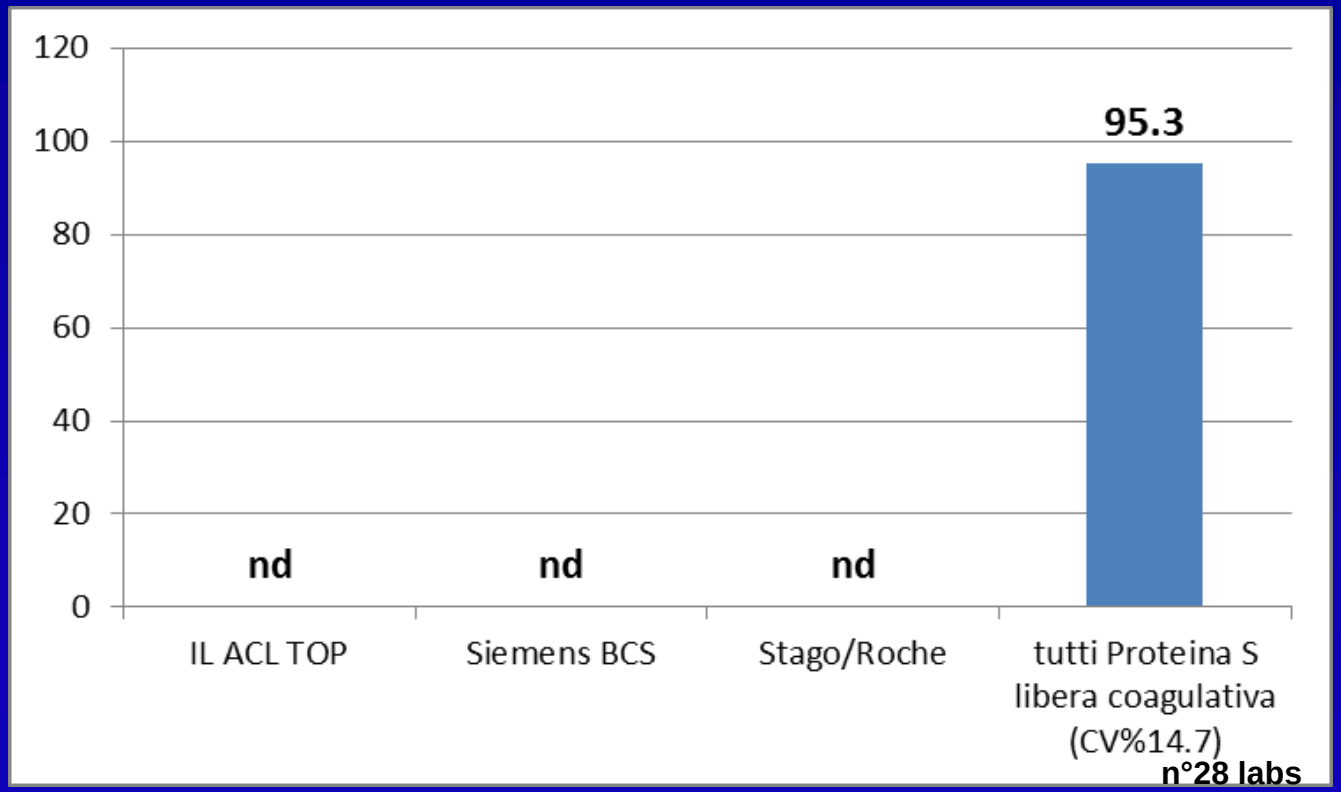
- una più corretta composizione dei gruppi Metodo/Sistema

- una migliore valutazione dei Risultati

Proteina S libera (massa)
2017 Imprecisione-Inesattezza metodi



Proteina S libera (coagulativa)
2017 Imprecisione-Inesattezza metodi



nd: numero di determinazioni < 7

Test di 1° livello: Proteina C e S

Raccomandati i seguenti dosaggi

- **- Proteina C (dosaggio funzionale cromogenico)**

- **- Proteina S (immunologico della frazione libera)**

Proteina S (dosaggio funzionale coagulativo, se usato come test di 1° livello eseguire anche test immunologico della funzionale libera in caso di valore ridotto)

-causa delle numerose interferenze: (FVL,>FVIII,FVIIa, ecc-)

In presenza di un valore ridotto escludere la possibile presenza di condizioni che determinino una riduzione acquisita (nel caso ripetere a distanza di tempo)

Dosaggio immunologico di Proteina C

e Proteina S totale (solo per tipizzare i difetti)

VEQ Coagulazione II

ciclo 2017

102 laboratori iscritti

IL PROGRAMMA PREVEDE L'INVIO DI 6 CAMPIONI

VEQ Coagulazione II ciclo 2017

COAGULAZIONE 2
Campioni

Plasmi liofili di origine umana per la determinazione dei seguenti analiti:

Elenco degli analiti per i quali sono attivati i programmi di Veq	
aPCr (Resistenza prot. C) (ratio)	aPCr (Resistenza prot. C attivata)(ratio normailizzata)
Resistenza prot. C attivata in carenza Fatt.V (ratio)	Resistenza prot. C attivata in carenza Fatt.V (ratio normalizzata)
Fattore II	Fattore VIII
Fattore V	Fattore VII
Fattore IX	Fattore X
Fattore XII	Fattore XI
LAC (Lupus Anticoagulante)	DRVVT (Test al veleno di vip. Russel dil)
DRVVT Screening (sec.)	DRVVT Screening (ratio)
DRVVT Mixing (sec.)	DRVVT Mixing (ratio)
DRVVT Mixing (ICA %)	DRVVT Confirm (sec.)
DRVVT Confirm (ratio)	DRVVT-Ratio Normal: R.Screening/R.Confirm
Test alla Silice	Test alla Silice - Screening (sec.)
Test alla Silice - Screening (ratio)	Test alla Silice - Mixing (sec.)
Test alla Silice - Mixing (ratio)	Test alla Silice - Mixing (ICA %)
Test alla Silice - Confirm(sec.)	Test alla Silice - Confirm (ratio)
Test Silice-Ratio Norm: R.Screening/R.Confirm	Test al Caolino
Test al Caolino - Screening (sec.)	Test al Caolino - Screening (ratio)
Test al Caolino - Mixing (sec.)	Test al Caolino - Mixing (ratio)
Test al Caolino - Mixing (ICA %)	

Il programma prevede 6 campioni inviati in 2 spedizioni.

VEQ Coagulazione II ciclo 2017

COAGULAZIONE 2
Campioni

Plasmi liofili di origine umana per la determinazione dei seguenti analiti:

Elenco degli analiti per i quali sono attivati i programmi di Veq	
aPCr (Resistenza prot. C) (ratio)	aPCr (Resistenza prot. C attivata)(ratio normailizzata)
Resistenza prot. C attivata in carenza Fatt.V (ratio)	Resistenza prot. C attivata in carenza Fatt.V (ratio normalizzata)
Fattore II	Fattore VIII
Fattore V	Fattore VII
Fattore IX	Fattore X
Fattore XII	Fattore XI
LAC (Lupus Anticoagulante)	DRVVT (Test al veleno di vip. Russel dil)
DRVVT Screening (sec.)	DRVVT Screening (ratio)
DRVVT Mixing (sec.)	DRVVT Mixing (ratio)
DRVVT Mixing (ICA %)	DRVVT Confirm (sec.)
DRVVT Confirm (ratio)	DRVVT-Ratio Normal: R.Screening/R.Confirm
Test alla Silice	Test alla Silice - Screening (sec.)
Test alla Silice - Screening (ratio)	Test alla Silice - Mixing (sec.)
Test alla Silice - Mixing (ratio)	Test alla Silice - Mixing (ICA %)
Test alla Silice - Confirm(sec.)	Test alla Silice - Confirm (ratio)
Test Silice-Ratio Norm: R.Screening/R.Confirm	Test al Caolino
Test al Caolino - Screening (sec.)	Test al Caolino - Screening (ratio)
Test al Caolino - Mixing (sec.)	Test al Caolino - Mixing (ratio)
Test al Caolino - Mixing (ICA %)	

Il programma prevede 6 campioni inviati in 2 spedizioni.

- 2 esercizi introdotti sul dosaggio dei fattori II, V, VII, IX, X, XI, XII (ciclo 2017)
- Dosaggio del fattore VIII già presente

FATTORI DELLA COAGULAZIONE

Fattore	Denominazione	Emivita	Sintesi
I	fibrinogeno	5gg	fegato
II	protombina	2-3gg	fegato
III	tromboplastina		ubiquitaria
IV	calcio		
V	proaccelerina	1gg	fegato,endotelio,megac. .
VII	proconvertina	5h	fegato
VIII	f.antiemof. A	15h	fegato,reni,milza
IX	f.antiemofilico B	20h	fegato
X	f. Stuart	2gg	fegato
XI	f.antiemofilico C	2gg	fegato
XII	Hageman	2gg	fegato
! XIII	f.stabilizzante la fibrina	5gg	Fegato,megacariociti

DOSAGGIO DEI FATTORI DELLA COAGULAZIONE

METODI FUNZIONALI

Metodi coagulativi con rilevazione ottica del coagulo

Metodi cromogenici con sviluppo finale di colore

DOSAGGIO FUNZIONALE DEI FATTORI

METODO COAGULATIVO

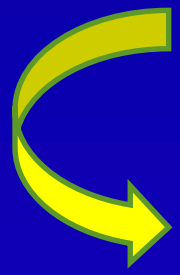
Si basa sul principio della correzione :

un plasma completamente carente dell'attività biologica di un determinato fattore avrà un tempo di PT o aPTT molto lungo, l'aggiunta del plasma del campione in esame correggerà il tempo in modo più o meno evidente se questo plasma conterrà il fattore che si vuole dosare mentre non lo correggerà affatto se ne sarà carente.

PLASMI CARENTI

“DEPLETO” = PLASMA UMANO

sono plasmi privi dell’attività del fattore da dosare



Immunoadsorbito con anticorpi specifici

Da donatori, con deficit congenito del fattore

Tests cromogenici

Sono caratterizzati dalla presenza di un substrato cromogenico. In commercio si trovano Kit per i dosaggi di

- **FVIII e FIX (derivati dai metodi coagulativi a 2 tempi)**
- **FXIII**
- **ATIII, PC, Antiplasmina, PK etc…**

La velocità iniziale di rilascio della p-nitroanilina (pNA), misurata a 405 nm, è proporzionale all'attività FXa, la quantità di FXa è proporzionale all'attività di fattore VIII.

DOSAGGIO CROMOGENICO
Fattore VIII

- PER LA DIAGNOSI DELL'EMOFILIA LIEVE
- NELLA TERAPIA SOSTITUTIVA CON rVIII
- IN PRESENZA DI INIBITORI INTERFERENTI

Coagulazione II ciclo 2017
Fattori della coagulazione

		Risultati		
Prestazione	U.M.	Quantitativo	Qualitativo	
Fattore II	%	_ _ _ . _		Inserisci/Modifica Metc
Fattore VIII	%	_ _ _ . _		Inserisci/Modifica Metc
Fattore V	%	_ _ _ . _		Inserisci/Modifica Metc
Fattore VII	%	_ _ _ . _		Inserisci/Modifica Metc
Fattore IX	%	_ _ _ . _		Inserisci/Modifica Metc
Fattore X	%	_ _ _ . _		Inserisci/Modifica Metc
Fattore XII	%	_ _ _ . _		Inserisci/Modifica Metc
Fattore XI	%	_ _ _ . _		Inserisci/Modifica Metc

Tutti i partecipanti utilizzano Metodo/Sistema coagulativo/automatico

Da camp. a camp.	Analita	Metodo	Sistema
1 - 6	Fattore II	COAGULATIVO	AUTOMATICO
1 - 6	Fattore V	COAGULATIVO	AUTOMATICO
1 - 6	Fattore VII	COAGULATIVO	AUTOMATICO
1 - 6	Fattore IX	COAGULATIVO	AUTOMATICO
1 - 6	Fattore X	COAGULATIVO	AUTOMATICO
1 - 6	Fattore XII	COAGULATIVO	AUTOMATICO
1 - 6	Fattore XI	COAGULATIVO	AUTOMATICO

Coagulazione II ciclo 2017
campione 1

FATTORI coagulazione	media	SD	UM	N.	CV %
II	15.9	2.04	%	46	12.8
V	41.4	4.92	%	51	11.9
VII	14.	1.89	%	54	14.4
VIII	44.2	5.83	%	64	13.2
IX	10.7	2.45	%	51	22.9
X	12.9	1.22	%	43	9.3
XI	31.3	4.11	%	47	13.2
XII	48.3	7.12	%	45	14.7

Coagulazione II ciclo 2017
Fattori II della coagulazione

Analita: *Fattore II*	%

	N.	Out	Media	C.V.	S.D.	Med.na
Tutti	38	2	15.9	12.8	2.04	15.4
Tuo Metodo	38	2	15.9	12.8	2.04	15.4
Tuo Met / Sis	38	2	15.9	12.8	2.04	15.4

Campione	1 *(Scad. 28/03/2017)*
Tuo risultato	17.3

	Diff. S	Diff. %
Tutti	0.68	8.81
Tuo Metodo	0.69	8.81
Tuo Met / Sis	0.69	8.81

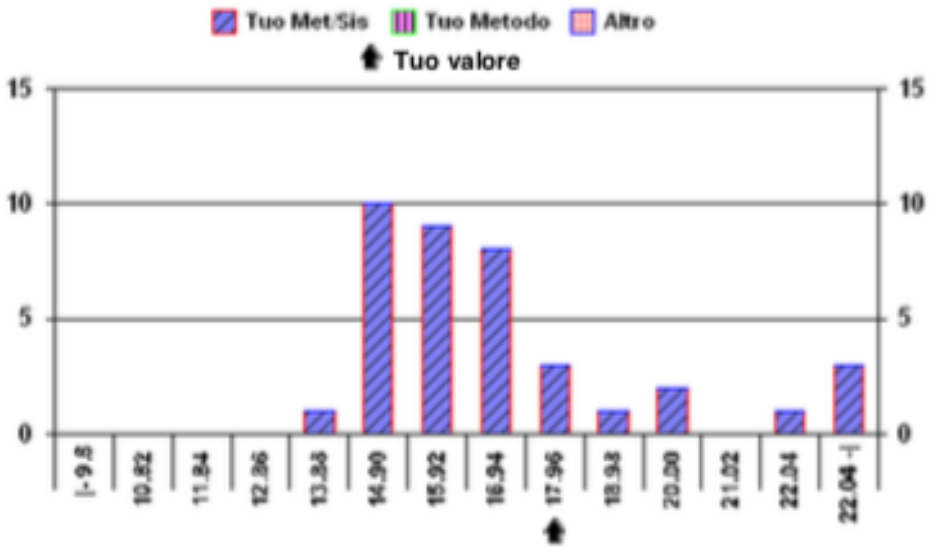
N. risultati numerici	38
N. risultati semiquantitativi/qualitativi	

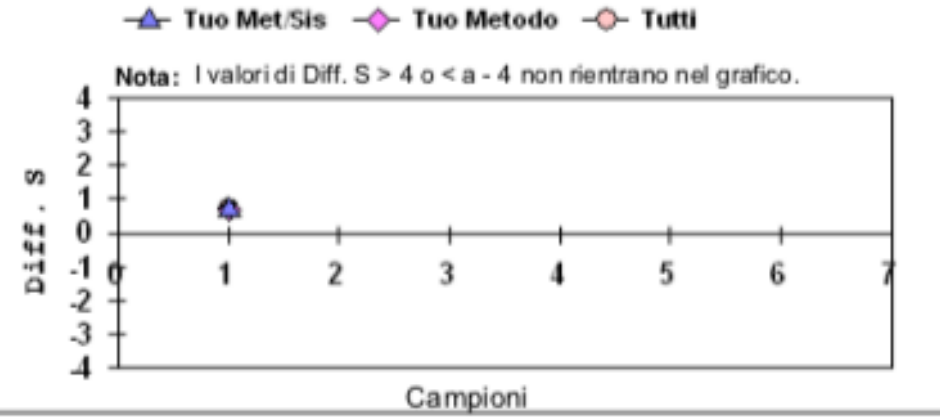
Riepilogo x Met / Sis risultati numerici (> 7 Centri)

Met / Sis	N.	Out	M.	C.V.
COAGULATIVO / AUTOMATICO	38	2	15.9	12.8

46 Laboratori

Tuo Metodo (Met)	Tuo Sistema (Sis)
COAGULATIVO	*AUTOMATICO*





Resistenza alla Proteina C attivata

-APCR-

Resistenza alla Proteina C attivata APCR

- **Nuovo difetto caratterizzato da una ridotta risposta all'effetto anticoagulante della proteina C attivata (aPC) scoperta da DAHLBACK nel 1993.**
- **Aggiungendo APC al plasma umano normale si determina un prolungamento del tempo di coagulazione (aPTT)**
- **In alcuni soggetti "trombofilici" tale prolungamento non avviene, o è di modesta entità.**
- **Un anno piu' tardi Bertina (Leiden Olanda) scopriva una anormalita' nel Fattore V**

Resistenza all'APC e fattore V^{Leiden}: quale rapporto?

~ 95% dei soggetti con resistenza all'APC

sono etero/omozigoti per il Fatt. V Leiden

(Mutazione puntiforme nel gene che codifica per il FV (nucleotide in posizione G1691A) che determina la variante del FV chiamata FV:Q^{506} o FV Leiden)

~ 5% riconoscono altre cause della resistenza:

- elevati livelli di fattore VIII
- gravidanza
- uso di contraccettivi per os
- ?

Presente nel 2 - 9% della popolazione generale (in Italia nel 2 – 3%)

Valutazione della Resistenza alla Proteina C Attivata

Metodo classico

-**RAPPORTO SEMPLICE**: aPTT in presenza /aPTT in assenza di APC

Metodo modificato

-**RAPPORTO SEMPLICE**: aPTT in presenza / aPTT in assenza di APC, ma **con prediluizione** del campione in esame con plasma carente di Fatt.V

TEST CLASSICO

Resistenza alla Proteina C Attivata

-Influenza della preparazione del plasma:

prelievo, centrifugazione, conservazione

-Influenza dei differenti tipi di reagente per aPTT

-Influenza degli anticorpi antifosfolipidi: → allungamento dei tempi di coagulazione e quindi diminuzione della ratio

-Influenza dello strumento

Influenza dei livelli dei fattori

-VIII → livelli molto elevati possono ridurre la ratio

-II e X → concentrazioni < 50% possono produrre ratio più elevate

-IX →concentrazioni < 30% possono produrre ratio più elevate

-V → nessun effetto significativo fino a bassissime riduzioni (<12%)

-Prot C → nessuna influenza perché viene aggiunta una quantità standardizzata di proteina C attivata alla miscela del test

Vantaggi del test MODIFICATO

Resistenza alla Proteina C Attivata

- La prediluizione con un eccesso di plasma deprivato di Fatt.V **normalizza la concentrazione dei fattori della coagulazione**, eccetto quella del Fatt.V, permettendo una **migliore discriminazione della mutazione Leiden del Fatt.V**
- La prediluizione **permette** l'effettuazione del test anche su pazienti in **trattamento con anticoagulanti orali**
- La presenza nel plasma deprivato di Fatt.V di **polibrene**, antagonista della eparina, permette l'effettuazione del test anche in pazienti in trattamento eparinico (Eparina non frazionata o LMWH ≤1 UI/mL)
- La prediluizione **diminuisce** fortemente i **fenomeni interferenti**, ma non esclude che in presenza di **inibitori acquisiti (es. LAC)** si possano ottenere tempi di coagulazione anomali con risultati errati. In tali casi **aumentando il fattore di diluizione è possibile correggere il risultato anomalo**

RESISTENZA ALLA PROTEINA C ATTIVATA

Quale test scegliere:

Test classico: quando interessa il risultato indipendentemente dalla presenza della mutazione Fatt.V Leiden

Test modificato: impiegato esclusivamente come test di screening per la presenza della mutazione Fatt.V Leiden

Resistenza alla Proteina C Attivata

MODALITA' DI ESPRESSIONE DEI RISULTATI

$$\text{Rapporto Normalizzato} = \frac{\text{Rapporto semplice pz}}{\text{Rapporto semplice pool}}$$

senza/con prediluizione del campione in esame con plasma carente di Fatt.V

Vantaggio della espressione del risultato come

RAPPORTO NORMALIZZATO

- Riduce le differenze fra le diverse fonti e diversi batches del reagente usato per l'aPTT

- Riduzione dell'interferenza strumentale

- Permette un confronto più accurato dei risultati fra diversi laboratori che forniscono la prestazione.

Controllo di Qualità Regione Toscana
Coagulazione ciclo 2017

Resistenza alla Proteina C Attivata

format per inserire i risultati

	Prestazione		U.M.	Risultati Quantitativo	Risultati Qualitativo
1-	aPCr (Resistenza prot. C) (ratio)		RATIO		
2-	aPCr (Resistenza prot. C attivata)(ratio normailizzata)	N	RATIO		
3-	Resistenza prot. C attivata in carenza Fatt.V (ratio)		RATIO		
4-	Resistenza prot. C attivata in carenza Fatt.V (ratio normalizzata)	N	RATIO		

Coagulazione II ciclo 2017

Resistenza alla Proteina C Attivata

APCR (Ratio)

Azienda Ospedaliero Universitaria Careggi

Centro di Riferimento Sicurezza e Qualità
Valutazione esterna di qualità
COAGULAZIONE 2 - Ciclo 2017

[redacted]

Analita: *aPCr (Resistenza prot. C) (ratio)* — RATIO

	N.	Out	Media	C.V.	S.D.	Med.na
Tutti	25	1	1.633	25.3	0.41	1.565
Tuo Metodo	25	1	1.633	25.3	0.41	1.565
Tuo Met / Sis	24	1	1.627	25.9	0.42	1.500

Campione	6 *(Scad. 14/12/2017)*
Tuo risultato	2.32

	Diff. S	Diff. %
Tutti	1.67	42.07
Tuo Metodo	1.68	42.07
Tuo Met / Sis	1.65	42.59

Valutazione errore totale					
1	2	3	4	5	6
					X

O = Interno X = Esterno rispetto ai L.A *L.A. camp. corrente: 30*

N. risultati numerici	25
N. risultati semiquantitativi/qualitativi	3

Riepilogo x Met / Sis risultati numerici (> 7 Centri)					
Met / Sis	N.	Out	M.	C.V.	ux
COAGULATIVO / AUTOMATICO	24	1	1.627	25.9	0.11

* ux non trascurabile

26 Laboratori

Tuo Metodo (Met)	Tuo Sistema (Sis)
COAGULATIVO	*AUTOMATICO*

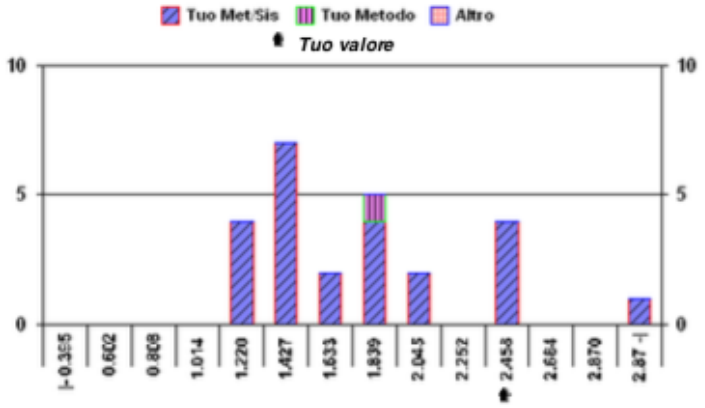
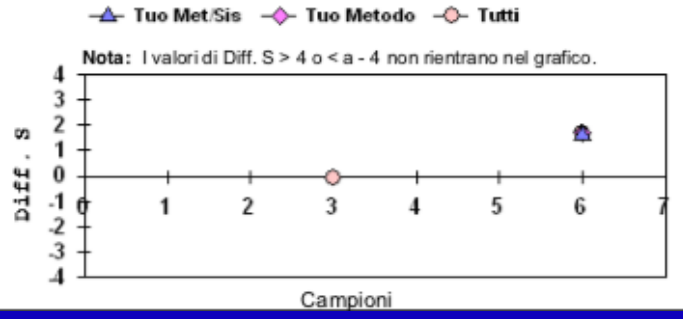


Grafico dati semiquantitativi/qualitativi	Tuo Metodo
NON DI COMPETENZA	1/3



Resistenza alla Proteina C Attivata 2017

APCR in carenza di FV(Ratio)

Analita: *Resistenza prot. C attivata in carenza Fatt.V (ratio)*	RATIO

	N.	Out	Media	C.V.	S.D.	Med.na
Tutti	38	1	1.659	12.2	0.202	1.750
Tuo Metodo	37	1	1.659	12.3	0.204	1.750
Tuo Met / Sis	37	1	1.659	12.3	0.204	1.750

Campione	6 *(Scad. 14/12/2017)*
Tuo risultato	1.78

	Diff. S	Diff. %
Tutti	0.60	7.29
Tuo Metodo	0.59	7.29
Tuo Met / Sis	0.59	7.29

Valutazione errore totale					
1	2	3	4	5	6
					O

O = Interno X = Esterno rispetto ai L.A *L.A. camp. corrente: 15*

N. risultati numerici	38
N. risultati semiquantitativi/qualitativi	3

Riepilogo x Met / Sis risultati numerici (> 7 Centri)					
Met / Sis	N.	Out	M.	C.V.	u_x
COAGULATIVO / AUTOMATICO	37	1	1.659	12.3	0.043

** u_x non trascurabile*

38 Laboratori

Tuo Metodo (Met)	Tuo Sistema (Sis)
COAGULATIVO	*AUTOMATICO*

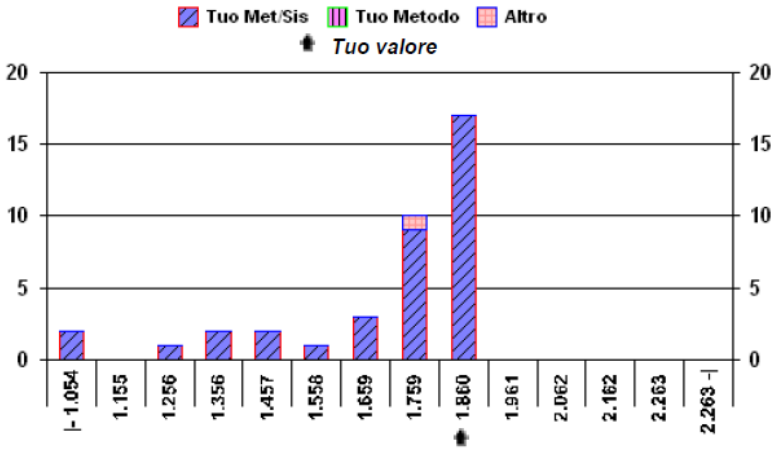
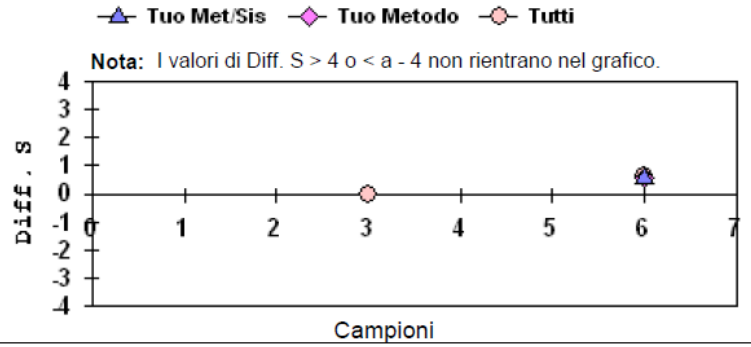


Grafico dati semiquantitativi/qualitativi	Tuo Metodo
NON DI COMPETENZA	1/3



Coagulazione II ciclo 2017
Resistenza alla Proteina C Attivata
APCR (Ratio normalizzata)

Elaborato per singolo campione n. 907680

Azienda Ospedaliero Universitaria Careggi

Centro di Riferimento Sicurezza e Qualità
Valutazione esterna di qualità
COAGULAZIONE 2 - Ciclo 2017

[redacted]

Analita: *aPCr (Resistenza prot. C attivata)(ratio normailizzata)*	RATIO

Tuo Metodo (Met)	Tuo Sistema (Sis)
COAGULATIVO	*AUTOMATICO*

	N.	Out	Media	C.V.	S.D.	Med.na
Tutti	8	1				
Tuo Metodo	8					
Tuo Met / Sis	8					

GRAFICO DATI NUMERICI
NON ESEGUIBILE

Campione	6 *(Scad. 14/12/2017)*
Tuo risultato	0.75

Grafico dati semiquantitativi/qualitativi	Tuo Metodo
NON DI COMPETENZA	1/3

Risultati ricevuti Tuo Met / Sis
0.41 - 0.47 - 0.60 - 0.61 - 0.75 - 0.77 - 0.80 - 3.10

N. risultati numerici	8
N. risultati semiquantitativi/qualitativi	3

Riepilogo x Met / Sis risultati numerici (> 7 Centri)				
Met / Sis	N.	Out	M.	C.V.
COAGULATIVO / AUTOMATICO	8	1		

8/38 Laboratori

Coagulazione II ciclo 2017

Resistenza alla Proteina C Attivata

APCR in carenza di FV(Ratio Normalizzata)

Analita: *Resistenza prot. C attivata in carenza Fatt.V (ratio)* | RATIO

	N.	Out	Media	C.V.	S.D.	Med.na
Tutti	38	1	1.659	12.2	0.202	1.750
Tuo Metodo	37	1	1.659	12.3	0.204	1.750
Tuo Met / Sis	37	1	1.659	12.3	0.204	1.750

Campione	6 *(Scad. 14/12/2017)*
Tuo risultato	1.78

	Diff. S	Diff. %
Tutti	0.60	7.29
Tuo Metodo	0.59	7.29
Tuo Met / Sis	0.59	7.29

Valutazione errore totale					
1	2	3	4	5	6
					O

O = Interno X = Esterno rispetto ai L.A *L.A. camp. corrente: 15*

N. risultati numerici	38
N. risultati semiquantitativi/qualitativi	3

Riepilogo x Met / Sis risultati numerici (> 7 Centri)					
Met / Sis	N.	Out	M.	C.V.	u_x
COAGULATIVO / AUTOMATICO	37	1	1.659	12.3	0.043

** u_x non trascurabile*

38 Laboratori

Tuo Metodo (Met)	Tuo Sistema (Sis)
COAGULATIVO	*AUTOMATICO*

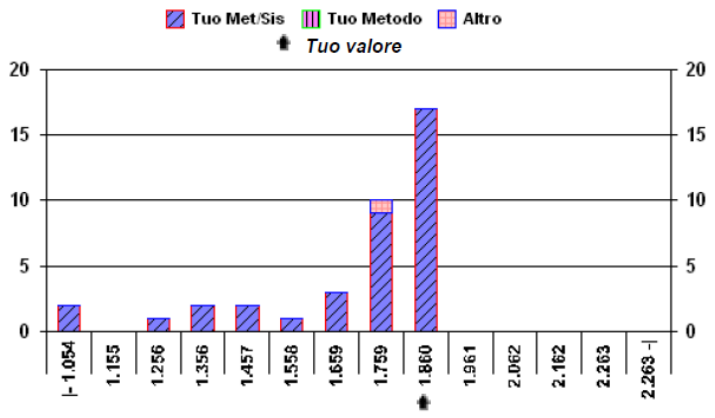
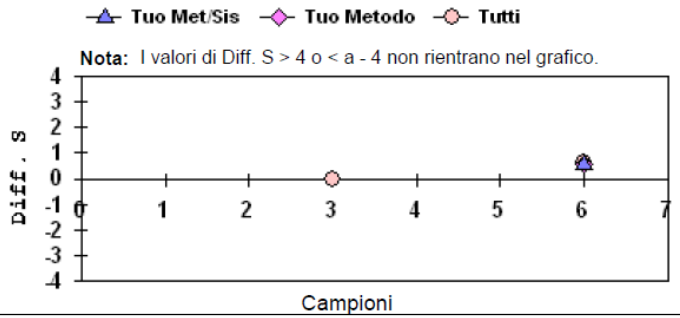


Grafico dati semiquantitativi/qualitativi	Tuo Metodo
NON DI COMPETENZA	1/3



Lupus Anticoagulant

Lupus Anticoagulant

- Famiglia eterogenea di immunoglobuline di tipo IgG, IgM, IgA

- Nel nostro organismo sono responsabili di trombosi arteriose e/o venose, di aborti ripetuti, morti fetali

- In vitro provocano allungamento dei test fosfolipide dipendenti

SCELTA DEI TEST

Journal of Thrombosis and Haemostasis, 7: 1737–1740 DOI: 10.1111/j.1538-7836.2009.03555.x

OFFICIAL COMMUNICATION OF THE SSC

Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection

V. PENGO,* A. TRIPODI,† G. REBER,‡ J. H. RAND,§ T. L. ORTEL,¶ M. GALLI** and P. G. DE GROOT††

- L'utilizzo di più di due test fosfolipide dipendenti aumenta il rischio di risultati falsamente positivi

- I due test devono basarsi su principi diversi
- I test raccomandati sono : dRVVT, SCT

OFFICIAL COMMUNICATION OF THE SSC

Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection

V. PENGO,* A. TRIPODI,† G. REBER,‡ J. H. RAND,§ T. L. ORTEL,¶ M. GALLI** and P. G. DE GROOT††

Recommendations for the optimal laboratory detection of Lupus Anticoagulant

(A) Blood collection

(B) Choice of the test

(C) Mixing test

(D) Confirmatory test

(E) Expression of results

(F) Transmission of Results

Table 1 Recommendations for the optimal laboratory detection of lupus anticoagulant (LA)*

(A) Blood collection
1. Blood collection before the start of any anticoagulant drug or a sufficient period after its discontinuation
2. Fresh venous blood in 0.109 M sodium citrate 9:1
3. Double centrifugation
4. Quickly frozen plasma is required if LA detection is postponed
5. Frozen plasma must be thawed at 37 °C

(B) Choice of the test
1. Two tests based on different principles
2. dRVVT should be the first test considered
3. The second test should be a sensitive aPTT (low phospholipids and silica as activator)
4. LA should be considered as positive if one of the two tests gives a positive result
5. For interpretation see Table 2 (screening test)

(C) Mixing test
1. PNP for mixing studies should ideally be prepared in house. Adequate commercial lyophilized or frozen PNP can alternatively be used
2. A 1:1 proportion of patient : PNP shall be used, without preincubation within 30 min.
3. LA can not be conclusively determined if the TT of the test plasma is significantly prolonged
4. For interpretation see Table 2 (mixing test)

(D) Confirmatory test
1. Confirmatory test(s) must be performed by increasing the concentration of PL of the screening test(s)
2. Bilayer or hexagonal (II) phase PL should be used to increase the concentration of PL.
3. For interpretation see Table 2 (confirmatory test)

(E) Expression of results
1. Results should be expressed as ratio of patient-to-PNP for all procedures (screening, mixing and confirm)

(F) Transmission of results
1. A report with an explanation of the results should be given

J.Thromb.Haemost 2009

OFFICIAL COMMUNICATION OF THE SSC

Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection

V. PENGO,* A. TRIPODI,† G. REBER,‡ J. H. RAND,§ T. L. ORTEL,¶ M. GALLI** and P. G. DE GROOT††

Cut-off values for Lupus Anticoagulant detection

J Thromb.Haemost 2009

Screening test

How should this be determined

Interpretation

Mixing test

How should this be determined

Interpretation

Confirmatory test

How should this be determined

Interpretation

Table 2 Cut-off values for lupus anticoagulant (LA) detection*

Cut-off values
Screening test
How should this be determined
1. Perform testing on plasmas from healthy donors
2. Take the cut-off as the value above the 99th percentile of the distribution
Interpretation
1. Results of screening tests are potentially suggestive of LA when their clotting times are longer than the local cut-off value
Mixing test
How should this be determined
1. Perform testing on plasmas from healthy donors mixed with the pooled normal plasma (PNP) at 1:1 proportion. Testing should be performed without pre-incubation within 30 min
2. Take the cut-off as the value above the 99th percentile of the distribution
3. Alternatively, the cut-off may be the value of the ICA defined according to the equation: ICA = [(b − c)/a] × 100, where a, b and c are the clotting times of the patient plasma, mixture and normal plasma, respectively [16]
Interpretation
1. Results of mixing tests are suggestive of LA when their clotting times are longer than the local cut-off value, or when the ICA is greater than the local cut-off value
Confirmatory test
How should this be determined
1. Perform testing on plasmas from healthy donors at low (screen) and high (confirm) phospholipid concentration
2. Take the cut-off as the value corresponding to the mean of the individual % corrections calculated as defined by the equation [(screen − confirm)/screen] × 100†
Interpretation
1. Results are confirmatory of LA if the % correction is above the local cut-off value

DIAGNOSTICA DEL LAC

dRVVT

- Il veleno di vipera Russell attiva il fattore X in presenza di ioni Ca, FV,e PL.
- Esistono molti reagenti commerciali che sono però molto diversi per sensibilità e specificità
- Molti kit commerciali forniscono anche un reagente di conferma (fosfolipidi concentrati)

DIAGNOSTICA DEL LAC

Kaolin o Silica Clotting Time (KCT, SCT)

- Non contengono PL
- Sono molto sensibili
- Molto influenzati dalla presenza di piastrine residue
- Specificità ridotta dalla presenza di carenza di fattori
- Il SCT è una modifica del KCT che ne consente l'impiego su tutti gli strumenti

TEST DI SCREENING

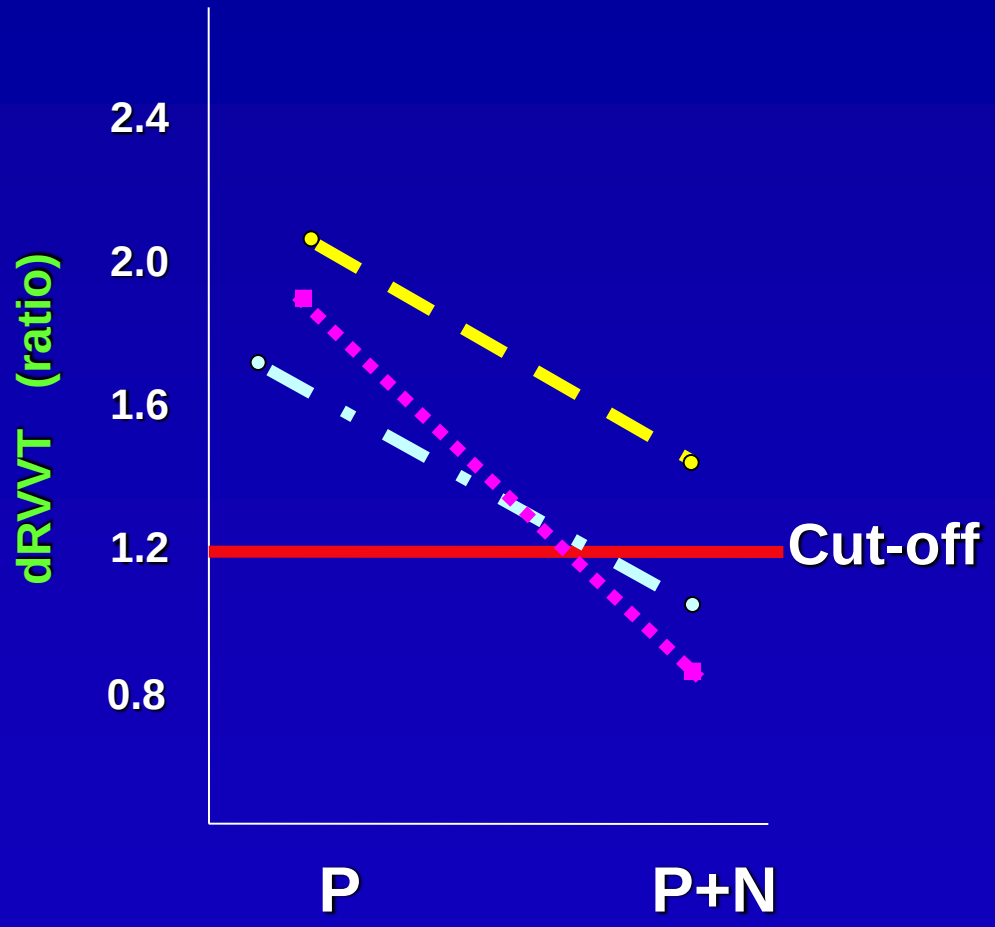
MODALITA' DI ESPRESSIONE DEI RISULTATI

- **SECONDI**

- **RATIO** = $\dfrac{\text{SEC Tempo di coagulazione campione}}{\text{SEC Tempo di coagulazione pool plasmi normali}}$

Studi di “mixing”

Ripetere il test sulla miscela:
plasma del paziente e plasma di un pool di soggetti sani in rapporto 1:1



(La miscela comunemente non è incubata a 37°C)

INIBITORE

Carenza fattoriale

Carenza fattoriale

TEST DI "MIXING"
MODALITA' DI ESPRESSIONE DEI RISULTATI

❖ **RATIO**

$$R = \frac{\text{SEC Tempo di coagulazione miscela (paziente/pool plasmi normali V/V)}}{\text{SEC Tempo di coagulazione pool plasmi normali}}$$

❖

$$ICA = \frac{\text{SEC tempo di miscela - sec tempo pool normale}}{\text{SEC tempo del paziente}} \times 100$$

ICA = (Indice di anticoagulante circolante)

TEST DI CONFERMA

Tempo di coagulazione in presenza di fosfolipidi in eccesso:

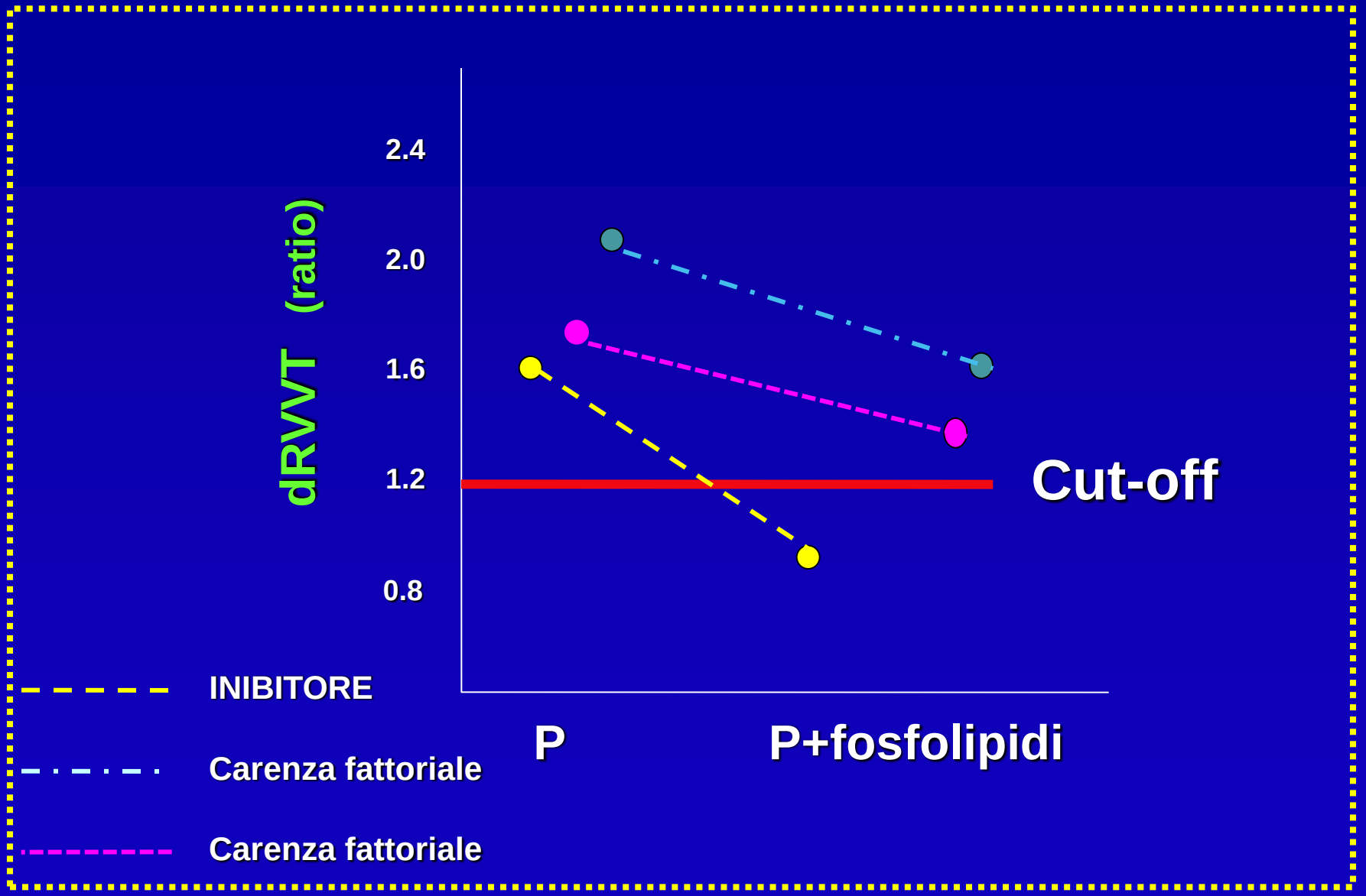
- **Fosfolipidi piastrinici (PNP)**
  - Triplett, Am J Clin Pathol, 1983

- **Fosfolipidi sintetici : in fase lamellare**
  in fase esagonale

- Rauch, Thromb Haemost, 1989
- Triplett, Thromb Haemost, 1993

la conformazione esagonale rende i PL più disponibili a legare il LA : maggiore specificità

Test di conferma



Lupus Anticoagulant: I test integrati

To Mix or Not To Mix in Lupus Anticoagulant Testing ? That is the Question

Armando Tripodi

Seminars Thrombosis and Hemostasis, 2012 ; 38: 385-389

Thromb Haemost 2013; 110: ■■■

Laboratory diagnostic outcome applying detection criteria recommended by the Scientific and Standardization Committee of the ISTH on Lupus Anticoagulant

Veena Chantarangkul[1,2]; Eugenia Biguzzi[1,2]; Daniela Asti[1,3]; Claudia Palmucci[3]; Armando Tripodi[1,4]

[1]Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia and Thrombosis Center, IRCCS Cà Granda Maggiore Hospital Foundation, and University of Milan, Milan, Italy; [2]U.O.S. Dipartimentale per la Diagnosi e la Terapia delle Coagulopatie, Milan, Italy; [3]Central Laboratory of Chemical Analysis and Microbiology, IRCCS Cà Granda Maggiore Hospital Foundation, Milan, Italy; [4]Department of Clinical Sciences and Community Health, Milan, Italy

Test Integrati

per la rilevazione del

LUPUS ANTICOAGULANT

Modalità di espressione dei risultati:

Indice % Correzione =

[(Screening ratio - Confirmation ratio)/Screening ratio] x 100

Ratio Normalizzata (NR) =

Screening Ratio/ Confirmation Ratio

Use of a New Silica Clotting Time for Diagnosing Lupus Anticoagulant in Patients Who Meet the Clinical Criteria for Antiphospholipid Syndrome

Panagiotis Grypiotis,[1]* Amelia Ruffatti,[1] Vittorio Pengo,[2] Marta Tonello,[1] Alessandra Biasiolo,[2] Daniela Zamboni,[1] Anna Cavazzana,[1] and Silvano Todesco[1]

Journal of Clinical Laboratory Analysis 20:15–18 (2006)

TABLE 1. Association between the three phospholipid-dependent clotting tests and thrombosis

	Venous thrombosis	Arterial thrombosis	Small-vessel thrombosis	Total thrombotic events
SCT	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
APTT	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
dRVVT	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
* dRVVT/SCT	$P = 0.028$	n.s.	n.s.	$P = 0.031$
dRVVT/APTT	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

n.s., no significance.

*** correla alla presenza del fenomeno trombotico in maniera nettamente più significativa di quanto non lo sia gli altri singolarmente considerati**

REFERTO

- Risultati analitici accompagnati da un commento sulla loro compatibilità con la presenza o assenza di lupus anticoagulant

LUPUS ANTICOAGULANT

Test alla Silice	**1.08**	Ratio	<1.16 Ratio Normalizzata
Test Veleno vipera Russel dil.(DRVVT)	**1.30**	ratio	<1.15 Ratio Normalizzata

é presente Lupus Anticoagulant (il risultato puo' essere influenzato da terapia anticoagulante)

Controllo di Qualità Regione Toscana
Coagulazione 2 Ciclo 2017
Lupus Anticoagulant (LAC)

Prestazione	U.M.	Risultati Quantitativo	Risultati Qualitativo	
LAC (Lupus Anticoagulante)			*	Modifica Questionario
DRVVT (Test al veleno di vip. Russel dil)				Modifica Questionario
DRVVT Screening (sec.)	sec.			Modifica Questionario
DRVVT Screening (ratio)	RATIO			Modifica Questionario
DRVVT Mixing (sec.)	sec.			Modifica Questionario
DRVVT Mixing (ratio)	ratio			Modifica Questionario
DRVVT Mixing (ICA %)	%			Modifica Questionario
DRVVT Confirm (sec.)	sec.			Modifica Questionario
DRVVT Confirm (ratio)	ratio			Modifica Questionario
DRVVT-Ratio Normal: R.Screening/R.Confirm				Modifica Questionario
Test alla Silice			*	Modifica Questionario
Test alla Silice - Screening (sec.)	sec.			Modifica Questionario
Test alla Silice - Screening (ratio)	RATIO			Modifica Questionario
Test alla Silice - Mixing (sec.)	sec.			Modifica Questionario
Test alla Silice - Mixing (ratio)	ratio			Modifica Questionario
Test alla Silice - Mixing (ICA %)	%			Modifica Questionario
Test alla Silice - Confirm(sec.)	sec.			Modifica Questionario
Test alla Silice - Confirm (ratio)	ratio			Modifica Questionario
Test Silice-Ratio Norm: R.Screening/R.Confirm				Modifica Questionario
Test al Caolino			*	Modifica Questionario
Test al Caolino - Screening (sec.)	sec.			Modifica Questionario
Test al Caolino - Screening (ratio)	ratio			Modifica Questionario
Test al Caolino - Mixing (sec.)	sec.			Modifica Questionario
Test al Caolino - Mixing (ratio)	ratio			Modifica Questionario
Test al Caolino - Mixing (ICA %)	ICA %			Modifica Questionario

*

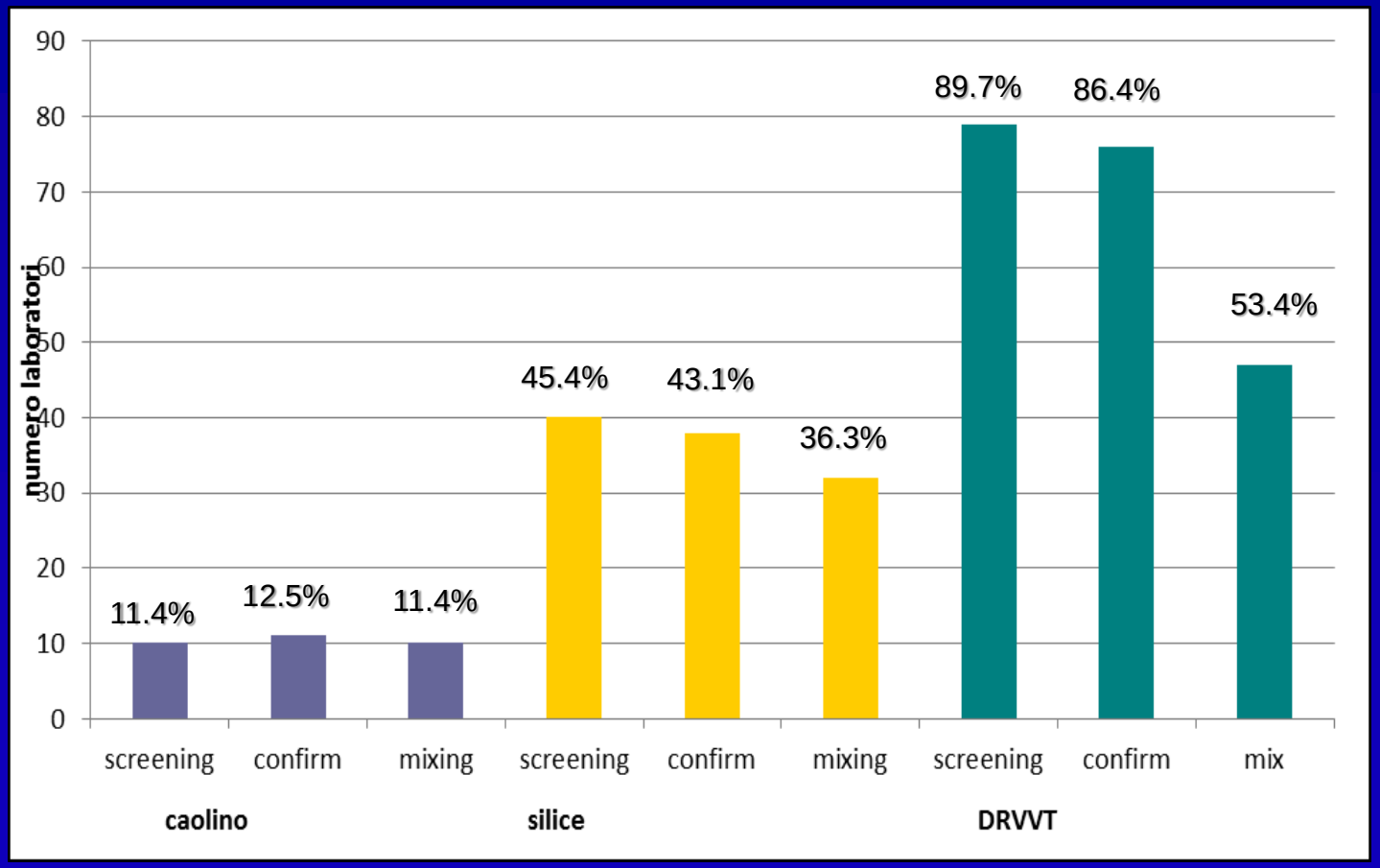
-Non di competenza

-Non eseguito

-Negativo

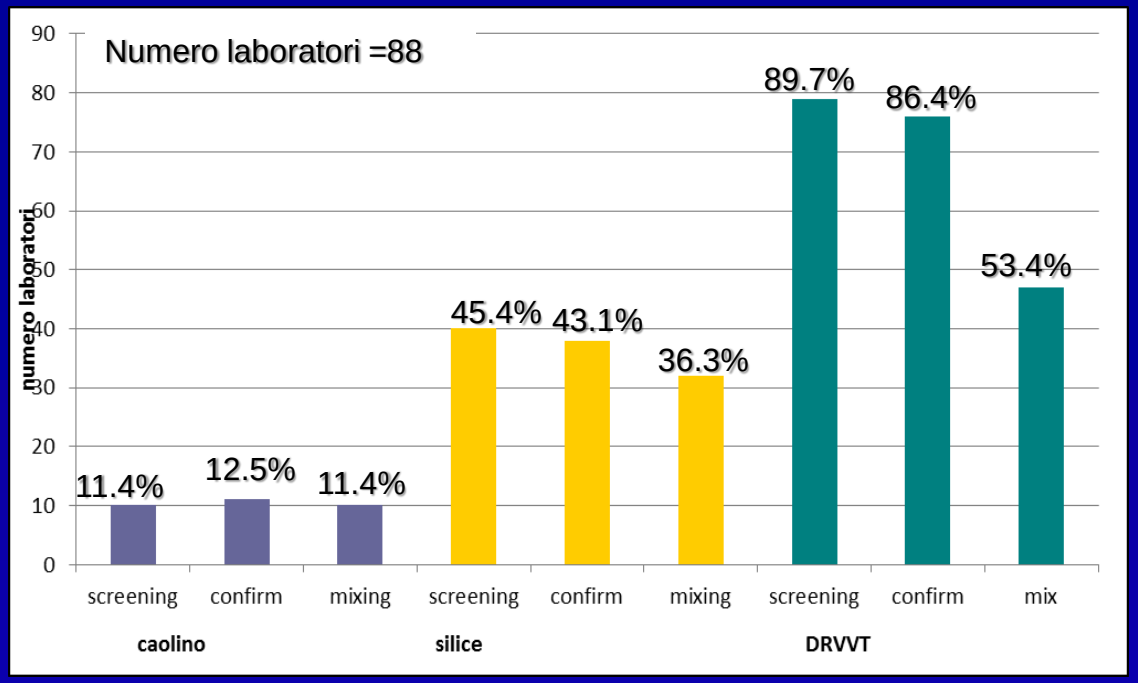
-Positivo: debole, medio, forte

VEQ Coagulazione 2 Ciclo 2017
Lupus Anticoagulant LAC
laboratori che utilizzano i test



Numero laboratori =88

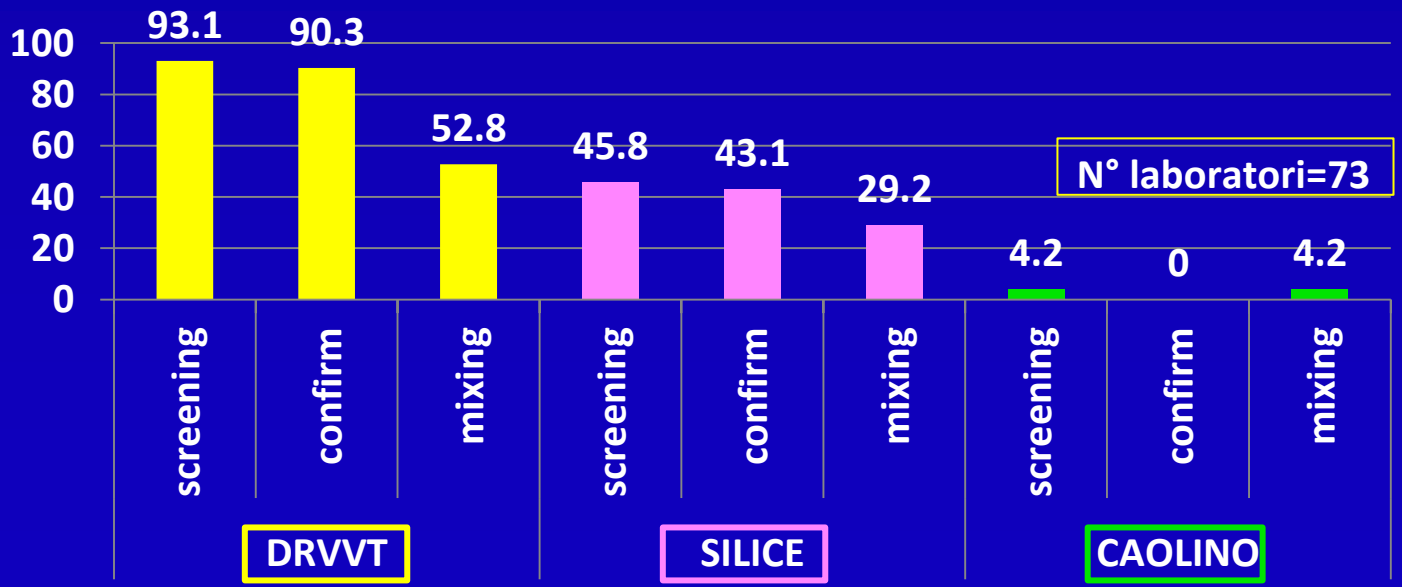
2017



VEQ Coagulazione 2 Ciclo

Lupus Anticoagulant LAC laboratori che utilizzano i test

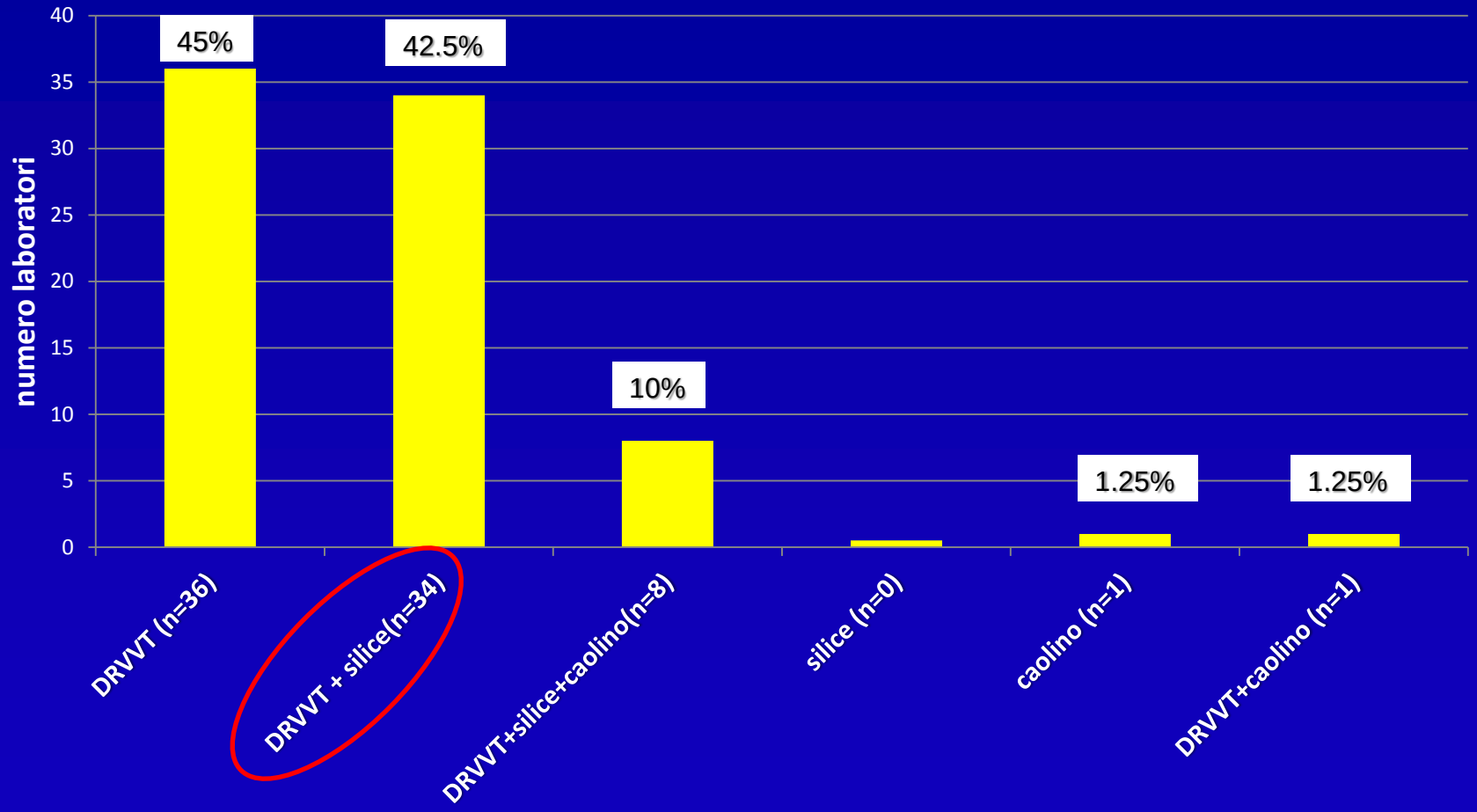
2016



VEQ Coagulazione 2 Ciclo 2017

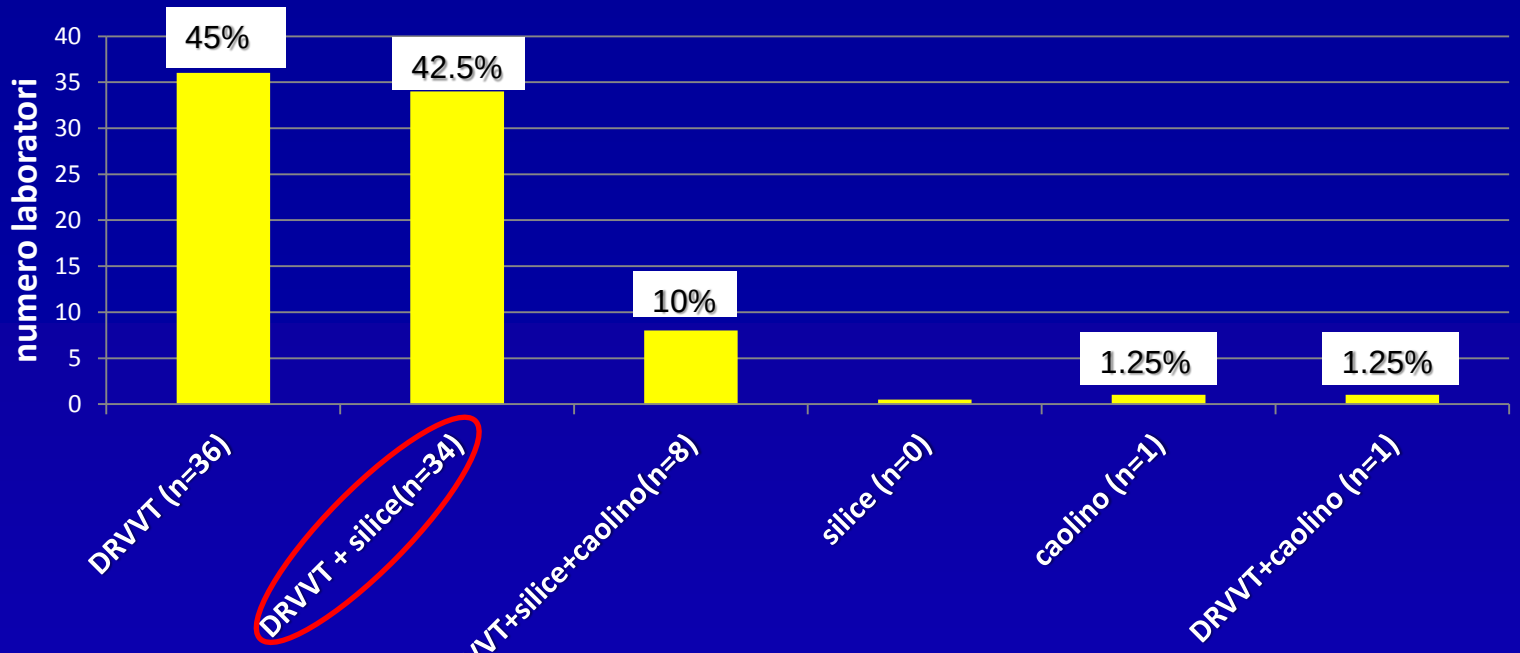
Lupus Anticoagulant LAC

come sono stati utilizzati i test per la rivelazione del LAC

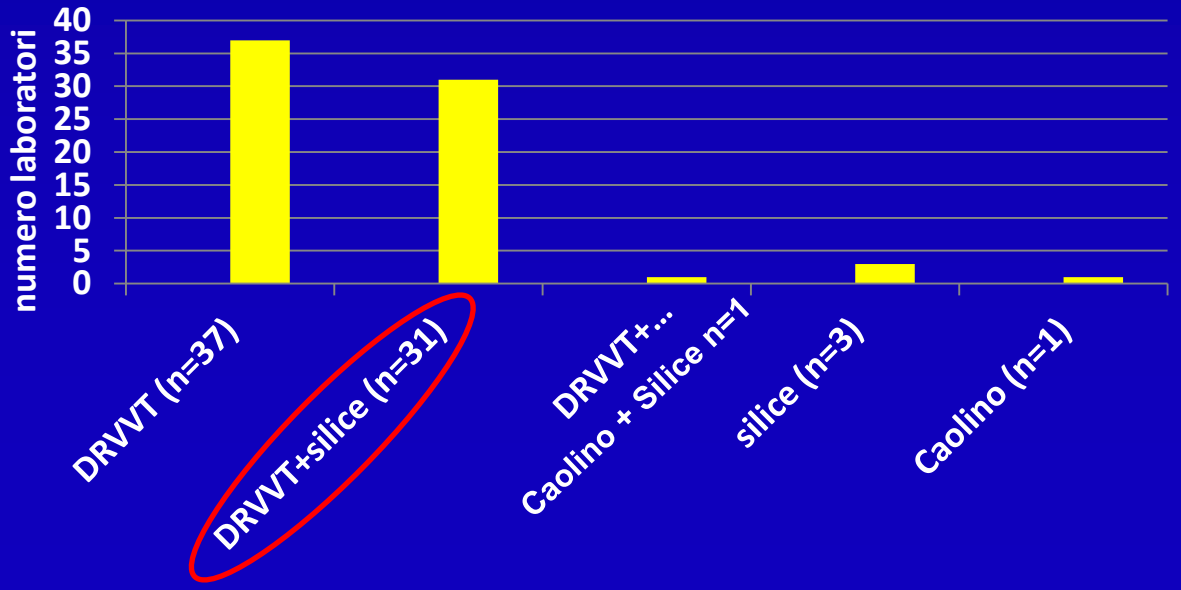


VEQ Coagulazione 2 Ciclo 2017

2017



2016



come sono stati utilizzati i test per la rilevazione del LAC

Grazie per l'attenzione