

# **Laboratorio e trombofilia**

**Cristina Legnani**

**Laboratorio Specialistico di Coagulazione  
UO Angiologia e Malattie della Coagulazione  
Policlinico S. Orsola – Malpighi, Bologna**

**Cremona, 10 Marzo 2017**

**Quali alterazioni trombofiliche  
ricercare**

# Quali alterazioni trombofiliche ricercare

- Difetto di Antitrombina
- Difetto di Proteina C
- Difetto di Proteina S
- Mutazione Fattore V Leiden
- Mutazione G20210A della protrombina
- Lupus Anticoagulant e aumento anticorpi anticardiolipina/anti  $\beta$ 2 Glicoproteina I
- Disfibrinogenemia
- Aumento Fattore VIII
- Iperomocisteinemia

# Test da non eseguire

- Polimorfismi della MTHFR
- PAI-1 (dosaggio e polimorfismi)
- Fattore XIII (dosaggio e polimorfismi)
- Plasminogeno e t-PA
- TAFI
- TFPI
- Cofattore eparinico II
- Fattore VII, IX, XI, XII e altri
- Polimorfismi della Trombomodulina
- Aplotipo HR2

# Uncertain thrombophilia markers

Massimo Franchini<sup>1</sup>; Ida Martinelli<sup>2</sup>; Pier Mannuccio Mannucci<sup>3</sup>

Consolidated evidence	Weak evidence	Lack of evidence
Loss-of-function mechanisms <ul style="list-style-type: none"> <li>● Antithrombin deficiency</li> <li>● Protein S deficiency</li> <li>● Protein C deficiency</li> </ul> Gain-of-function mechanisms <ul style="list-style-type: none"> <li>● Factor V Leiden</li> <li>● Prothrombin G20210A</li> <li>● Non-O blood group</li> <li>● High levels of FVIII</li> <li>● Dysfibrinogenaemia</li> <li>● Hyperhomocysteinaemia</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● High TAFI plasma levels</li> <li>● High coagulation factor levels (fibrinogen, FIX, FXI)</li> <li>● EPCR polymorphisms</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Plasminogen deficiency</li> <li>● High PAI-1 levels</li> <li>● FXIII leu34val</li> <li>● Lp(a)</li> <li>● MTHFR C677T and A1298C polymorphisms</li> <li>● Low TFPI levels</li> <li>● High coagulation factor levels (FV, FVII, FX)</li> <li>● Thrombomodulin polymorphisms</li> <li>● ACE polymorphisms</li> <li>● PZ/ZPI polymorphisms</li> <li>● ADAMTS13 polymorphisms</li> </ul>

Abbreviations: MTHFR, methylenetetrahydrofolate reductase; PAI-1, plasminogen activator inhibitor-1; TAFI, thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor; TFPI, tissue factor pathway inhibitor; Lp(a), lipoprotein a; EPCR, endothelial protein C receptor; ACE, angiotensin-converting enzyme; ADAMTS, A Disintegrin And Metalloprotease with ThromboSpondin-1-like domains; PZ, protein Z; ZPI, protein Z-dependent protease inhibitor.



## Linee Guida SIPMeL per la ricerca dei Polimorfismi nella Diagnostica di Screening della Trombofilia

A cura del Gruppo di Studio di Coagulazione SIPMeL

Michele Bertini (1), Pierfrancesco Agostini (2), Francesco Bondanini (3),  
Maria Matilde Ciriello (4), Maria Rita Cozzi (5), Marta Sofia Angela Demicheli (4),  
Cristina Legnani (6), Giuliana Martini (7), Cristina Novembrino (8),  
Oriana Paoletti (9), Simona Pedrini (10), Lucia Ruocco (11),  
Agostino Steffan (5), Lucia Terzuoli (12), Sophie Testa (9).

## Raccomandato l'uso di un profilo

- Comprende TUTTI i test per l'identificazione delle alterazioni trombofiliche accertate
  - migliore valutazione del rischio
  - migliore interpretazione dei risultati di lab
- Può essere aggiornato in base ai dati della letteratura
- Evita la richiesta di test non appropriati o test non necessari

# Thrombophilia testing patterns amongst patients with acute venous thromboembolism☆

Melissa R. Meyer <sup>a</sup>, Daniel M. Witt <sup>a,b</sup>, Thomas Delate <sup>a,c</sup>, Samuel G. Johnson <sup>a,c</sup>, Margaret Fang <sup>d</sup>, Alan Go <sup>e,f</sup>, Nathan P. Clark <sup>a,c,\*</sup>

Thrombosis Research 136 (2015) 1160–1164

## Test type

Test	Tested <sup>a</sup>
Factor V Leiden	260 (82.5%)
Prothrombin G20210A	280 (88.9%)
Beta2-glycoprotein I IgG	101 (32.1%)
Antithrombin deficiency	154 (48.9%)
Protein S deficiency	151 (47.9%)
Lupus anticoagulant	255 (81.0%)
Protein C deficiency	150 (47.6%)
Anticardiolipin Ab IgG	299 (94.9%)

# Richiesta test non appropriati/non necessari

Dosaggi funzionali Antitrombina e Proteina C, Proteina S libera



Dosaggi immunologici Antitrombina e Proteina C, Proteina S totale

Ricerca mutazione Fattore V Leiden e G20210A Protrombina



Dosaggi coagulativi Fattore V e II

Ricerca LAC ma non degli anticorpi ACA e anti  $\beta$ 2 GPI (o viceversa)

Dosaggio omocisteina



Ricerca mutazione C677T della MTHFR

**Quando eseguire i test**

# Condizioni che possono determinare false positività

- Evento acuto                      Riduzione AT, PC, PS, Aumento FVIII
- Terapia eparinica                Riduzione AT, Positività test LAC
- Anticoagulanti orali  
  (anti vitamina K)                Riduzione PC e PS, Negatività test APCR in portatori FV Leiden
- Anticoagulanti orali  
  diretti (DOACs)                Positività test LAC
- Gravidanza                        Riduzione PS, Aumento FVIII
- Estroprogestinici                Riduzione PS, Aumento FVIII

# Condizioni che possono determinare false negatività

- Anticoagulanti orali diretti (DOACs)      Normalizzazione AT, PC, PS, Negatività test APCR in portatori FV Leiden  
(in relazione al tipo di farmaco e tipo metodo)
- Gravidanza      Normalizzazione PC

# Proteina C e gravidanza

- Donna di 36 anni esaminata alla 25° settimana di gravidanza
- Il padre in trattamento anticoagulante per 2 pregressi episodi di TEV (1 TVP prossimale a 30 anni dopo gesso e recidiva idiopatica di TVP a 62 anni)
- Livello della Proteina C durante la gravidanza = 66% (n.v. > 68%)
- 2 anni dopo il parto:  
Proteina C attività = 47%  
Proteina C antigene = 51%
- Conferma del difetto di Proteina C nello zio paterno

## Quando NON eseguire i test

- Trombosi acuta (eseguire la diagnostica per la HIT, se presente sospetto)
- Durante le terapie anticoagulanti
- Gravidanza o terapia ormonale
- In tutte le condizioni associate ad aumento delle proteine della fase acuta (post-chirurgia, mal. infiammatorie)

Se indispensabile, test genetici sempre eseguibili, ma in genere non sono consigliabili screening parziali

## Quando eseguire i test

- Dopo 3 mesi dall'evento trombotico venoso/arterioso
- Dopo almeno 48 ore dalla sospensione di eparina e derivati
- Dopo 5-7 giorni dalla sospensione dei DOACs
- Dopo 30 giorni dalla sospensione della terapia anticoagulante con anti vit. K
- Dopo almeno 2 mesi dal parto
- Dopo almeno 1 mese dalla sospensione della terapia ormonale

# Conferma di una alterazione

- Ripetere dosaggio AT, PC e PS in caso di valori alterati su un campione indipendente
- Ripetere i test per LAC, ACA e anti  $\beta 2$  GPI, Fattore VIII dopo almeno 12 settimane
- Riconfermare la positività per la mutazione su un secondo campione (senza ripetizione del prelievo)

# Test genetici

	Errore diagnostico
Mutazione R506Q Fattore V Leiden	3-6%
Mutazione G20210A della Protrombina	(15-17% per omozigosi)

Preston et al, 1999; Tripodi et al , 2002

Table 1. Factor V Leiden analysis.

Sample Code	Correct Interpretation	Your Interpretation	Overall Interpretation (n)		
			Absent	Heterozygous	Homozygous
FV15:07	Absent	Absent	140	1	0
FV15:08	Heterozygous	Heterozygous	1	139	1
FV15:09	Homozygous	Homozygous	1	2	138

**0.7%**

**1.4%**

**2.1%**

Table 2. Prothrombin 20210A mutation analysis.

Sample Code	Correct Interpretation	Your Interpretation	Overall Interpretation (n)		
			Absent	Heterozygous	Homozygous
FV15:07	Absent	Absent	138	1	0
FV15:08	Heterozygous	Heterozygous	2	136	0
FV15:09	Absent	Absent	138	1	0

**0.7%**

**1.4%**

**0.7%**



# Role of thrombophilia testing: con

Scott M. Stevens

ICS International Consensus Statement  
 FCG French Consensus Guideline  
 BCSH British Committee for Standards in Hematology  
 EGAPP Evaluation of Genomic Applications in Practice and Prevention Working Group  
 NICE National Institute for Health and Clinical Excellence  
 ACCP American College of Chest Physicians

Selected Guideline Statements on Thrombophilia Screening					
	FVL	PGM	Antithrombin, Protein C, Protein S deficiencies	Antiphospholipid Syndrome	Notes
Screening Following Provoked VTE	ICS 2013	ICS 2013	ICS 2013	ICS 2013	ICS: No screening if single provoked event and age > 50. ACCP: Screening not addressed in guidance statements, but text indicates lack of use in clinical decision-making. ACCP: Screening not addressed in guidance statements, but text indicates lack of use in clinical decision-making.
	FCG 2009	FCG 2009	FCG 2009	FCG 2009	
	BCSH 2010	BCSH 2010	BCSH 2010	BCSH 2010	
	EGAPP 2011	EGAPP 2011	EGAPP 2011	EGAPP 2011	
	NICE 2012	NICE 2012	NICE 2012	NICE 2012	
Screening Following Unprovoked VTE	ACCP 2012	ACCP 2012	ACCP 2012	ACCP 2012	
	ICS 2013	ICS 2013	ICS 2013	ICS 2013	
	FCG 2009	FCG 2009	FCG 2009	FCG 2009	
	BCSH 2010	BCSH 2010	BCSH 2010	BCSH 2010	
	EGAPP 2011	EGAPP 2011	EGAPP 2011	EGAPP 2011	
Screening Asymptomatic First Degree Relatives (General Primary Prevention)	NICE 2012	NICE 2012	NICE 2012	NICE 2012	
	ACCP 2012	ACCP 2012	ACCP 2012	ACCP 2012	
	ICS 2013	ICS 2013	ICS 2013	ICS 2013	
	FCG 2009	FCG 2009	FCG 2009	FCG 2009	
	BCSH 2010	BCSH 2010	BCSH 2010	BCSH 2010	
Screening Asymptomatic First Degree Females considering OCP or HRT Use	EGAPP 2011	EGAPP 2011	EGAPP 2011	EGAPP 2011	N/A
	NICE 2012	NICE 2012	NICE 2012	NICE 2012	
	ACCP 2012	ACCP 2012	ACCP 2012	ACCP 2012	
	ICS 2013	ICS 2013	ICS 2013	ICS 2013	
	FCG 2009	FCG 2009	FCG 2009	FCG 2009	
Screening Asymptomatic First Degree Females pregnant or considering pregnancy	BCSH 2010	BCSH 2010	BCSH 2010	BCSH 2010	N/A
	EGAPP 2011	EGAPP 2011	EGAPP 2011	EGAPP 2011	
	NICE 2012	NICE 2012	NICE 2012	NICE 2012	
	ACCP 2012	ACCP 2012	ACCP 2012	ACCP 2012	
	ICS 2013	ICS 2013	ICS 2013	ICS 2013	
Screening Asymptomatic First Degree Males	FCG 2009	FCG 2009	FCG 2009	FCG 2009	N/A
	BCSH 2010	BCSH 2010	BCSH 2010	BCSH 2010	
	EGAPP 2011	EGAPP 2011	EGAPP 2011	EGAPP 2011	
	NICE 2012	NICE 2012	NICE 2012	NICE 2012	
	ACCP 2012	ACCP 2012	ACCP 2012	ACCP 2012	

Colors: Screen none or highly selected few | Screen selected patients | Screen all or most