



Raccomandazioni dell'Associazione Tecnico Scientifica – S.I.T.La.B.

N. 10/24

EMOFILIA ACQUISITA POST-PARTUM: IL RUOLO DEL LABORATORIO NELLA GESTIONE INTEGRATA DELLA PAZIENTE CON AUTOANTICORPI ANTI-FVIII

Di Padova Emily (ASL Lanciano Vasto Chieti), Di Donato Tiziano (AUSL Pescara), Esposito Elena (A.O.R.N. Caserta), Mariniello Alessia (AUSL Modena), Massarelli Fabrizio (A.O. San Camillo Forlanini-Roma).

Rev. 1.0

SITLaB news

Publicato: 13 Dicembre 2024

Copyright: © SITLaB

Abstract

Introduzione. L'emofilia acquisita è una malattia su base autoimmune nella quale si assiste alla produzione di anticorpi diretti contro i Fattori VIII/IX della coagulazione causandone un deficit con conseguente compromissione del fisiologico processo emostatico. La forma più frequente di emofilia acquisita colpisce il Fattore VIII (emofilia acquisita di tipo A). Sebbene nella metà circa dei casi sia idiopatica, tra le cause predisponenti nelle giovani donne figura la gravidanza.

Scopo del lavoro. Il presente lavoro chiarisce i percorsi diagnostico-terapeutici ottimali da seguire nelle pazienti con emofilia acquisita post-partum per ridurre al minimo la mortalità o grave morbosità materna.

Materiali e metodi. Entro pochi mesi dal parto, sintomi come ecchimosi estese, ematomi, episodi di sanguinamento improvviso che avvengono in assenza di traumi nonché emorragie post traumatiche, possono indirizzare il clinico verso il sospetto di un inibitore acquisito del FVIII. Il laboratorio di Ematologia assume un ruolo chiave nella diagnostica attraverso l'esecuzione di specifiche indagini di coagulazione per la ricerca e la titolazione dell'inibitore.

Discussioni e conclusioni. Pur essendo una sindrome rara, a causa della gravità del quadro clinico che ne scaturisce, il rapido riconoscimento dei casi sospetti è fondamentale al fine di affrontare l'emofilia acquisita post-partum in modo appropriato. Le pazienti vanno indirizzate in centri specialistici dove oggi sono disponibili efficaci strategie per il controllo delle emorragie e l'eradicazione dell'inibitore.

Parole chiave: Emofilia acquisita, coagulazione, fattore VIII/IX, gravidanza, percorsi diagnostico-terapeutici, Laboratorio Ematologia.

Introduzione

Patogenesi ed incidenza dell'emofilia acquisita.

L'emofilia acquisita è una sindrome emorragica causata da un deficit non preesistente a carico del Fattore VIII/IX della cascata coagulativa; si caratterizza per un esordio improvviso e differisce dall'emofilia congenita, su base ereditaria, in cui le proteine della coagulazione risultano deficitarie fin dalla nascita. L'emofilia acquisita rientra tra i disordini autoimmuni: il sistema immunitario del paziente non riconosce più il Fattore VIII/IX endogeno e innesca la produzione di autoanticorpi diretti contro più epitopi funzionali di tali proteine. Vengono perlopiù immesse in circolo immunoglobuline policlonali di tipo IgG, non fissanti il complemento, che interferiscono sulla normale emostasi del sangue. Autoanticorpi inibitori del Fattore VIII configurano un quadro di emofilia acquisita di tipo A, mentre autoanticorpi inibitori del Fattore IX configurano un quadro di emofilia acquisita di tipo B, molto meno frequente.

Secondo i dati riportati in letteratura, l'emofilia acquisita di tipo A (EAA) è una condizione rara con un'incidenza annua stimata nella popolazione mondiale di circa 1,5 casi per milione. In Italia si verificano mediamente ogni anno 94-100 casi. Probabilmente si tratta di cifre ancora sottostimate: l'invecchiamento della popolazione globale e il raggiungimento di una maggiore consapevolezza diagnostica potrebbero ribaltare la casistica. Il paziente sviluppa autoanticorpi neutralizzanti il Fattore VIII della cascata coagulativa, conosciuto anche come Fattore Antiemofilico. Si tratta di una glicoproteina plasmatica termolabile di grosse dimensioni, il cui peso molecolare è di circa 265 kDa. Strutturalmente si compone di due subunità legate mediante legami non covalenti: la subunità a basso peso molecolare è sintetizzata a livello epatico, è formata dai domini A1, A2 e B e possiede attività procoagulante; la subunità ad alto peso molecolare è sintetizzata a livello del sistema reticolo-endoteliale, è formata dai domini A3, C1 e C2 e possiede funzione antigenica e di trasporto. I domini A2 ed A3 espongono i siti di legame per il Fattore IXa, il dominio C2 espone i siti di legame per il Fattore di Von Willebrand. Il Fattore VIII circola nel sangue in forma inattiva, associato in un complesso con il Fattore di Von Willebrand. Una lesione a carico dei vasi sanguigni determina l'attivazione del Fattore VIII, il quale si dissocia prontamente dal complesso con il Fattore di Von Willebrand per interagire, nelle vesti di "cofattore", con il Fattore IXa. Da questo passaggio scaturisce l'attivazione a cascata del Fattore X e della trombina.

Gli autoanticorpi inibitori responsabili dell'emofilia acquisita sono rivolti contro i domini A2, A3 e C2 del Fattore VIII. Agiscono neutralizzando l'attività procoagulante del Fattore VIII o accelerando il catabolismo e l'eliminazione dello stesso. Presentano una cinetica di attivazione di II ordine, non lineare: ciò indica che la fase di inattivazione fattoriale iniziale avviene molto rapidamente ma l'efficacia inattivante tende a calare col tempo. Di solito tali anticorpi non sono capaci di neutralizzare completamente il Fattore VIII, anche alla massima concentrazione di plasma inibitore. C'è una scarsa correlazione, quindi, tra i livelli di Fattore VIII circolanti e l'entità del sanguinamento. Gli alloanticorpi inibitori responsabili dell'emofilia congenita sono invece rivolti contro più siti bersaglio e presentano una cinetica di attivazione di I ordine: inattivano il Fattore VIII in proporzione lineare rispetto alla loro concentrazione. Pertanto il Fattore VIII è completamente neutralizzato se l'inibitore è presente in eccesso.

L'EAA è un disordine estremamente infrequente nei bambini, presenta un primo picco nelle donne comprese tra i 20 e i 40 anni, per le forme associate alla gravidanza, e diventa significativamente più frequente in età avanzata, con una media di insorgenza intorno ai 75 anni. Colpisce indistintamente i due sessi a differenza della forma congenita che interessa quasi esclusivamente il sesso maschile. La ragione di questa predisposizione risiede nel fatto che il messaggio genetico relativo alla produzione del Fattore VIII endogeno è associato al cromosoma X di cui gli uomini hanno a disposizione solo una copia; le donne possiedono due cromosomi X e sono portatrici sane del difetto genetico che viene spesso compensato dalla copia corretta del messaggio genetico presente sull'altro cromosoma X.

Le poche donne affette da emofilia congenita sono infatti frutto di un padre emofilico e una madre portatrice. Nella metà circa dei casi l'EAA è idiopatica, ma può essere associata a neoplasie (6.4%–18.4%), malattie autoimmuni (9.4%–17.0%), processi flogistici cronici, malattie dermatologiche e terapie farmacologiche, oltre che alla gravidanza. Nella Tabella 1 sono illustrate in dettaglio le preminenti condizioni cliniche associate allo sviluppo di autoanticorpi anti-Fattore VIII.

Tabella 1. Condizioni cliniche associate ad emofilia acquisita.
• Gravidanza
• Malattie autoimmuni (artrite reumatoide, lupus eritematoso sistemico, miastenia gravis, sclerosi multipla, patologie autoimmuni tiroidee)
• Neoplasie solide (polmone, prostata, pancreas, colon, stomaco, testa-collo)
• Neoplasie ematologiche (leucemia linfatica cronica, mieloma multiplo, linfoma non-Hodgkin, mielodisplasie)
• Malattie dermatologiche (pemfigo, psoriasi, dermatite esfoliativa)
• Malattie infiammatorie croniche dell'intestino (rettocolite ulcerosa)
• Farmaci (interferone, penicillina, sulfamidici, clopidogrel, fenitoina)

L'EAA si caratterizza per un quadro emorragico spontaneo o indotto da chirurgia, traumi e altre procedure invasive in pazienti senza precedenti familiari o storia personale di malattia emorragica nota. Le emorragie più comuni da riscontrare sono quelle sottocutanee, anche notevolmente estese (80%), seguite dalle emorragie gastrointestinali (>20%), dagli ematomi muscolari (>40%), e con minore frequenza dalle emorragie genitourinarie, retroperitoneali, ed anche intracraniche, che benché rare sono gravemente invalidanti e potenzialmente fatali. Il sanguinamento è grave nel 70% dei casi, intendendo per grave un'emorragia che comporta anemizzazione del paziente con un valore di emoglobina (Hb) <8 g/dl o una perdita acuta di emoglobina (Hb) >2 g/dl. La gravità delle emorragie, unitamente ai ritardi diagnostici, all'età avanzata dei pazienti, alle patologie associate e ad approcci terapeutici inadeguati, rende conto dell'elevato tasso di mortalità (fino al 41%) associato a questa malattia.

Un caso particolare di emofilia acquisita: l'emofilia post-partum.

L'emofilia post-partum è una forma sporadica di emofilia acquisita che insorge perlopiù nelle primipare entro 1-4 mesi dal parto. Si stima che possa verificarsi in circa 1 caso su 350.000-500.000 gravidanze. L'eziopatogenesi non è chiara: la consueta comparsa di autoanticorpi inibitori del Fattore VIII nel periodo post-partum suggerisce la possibilità di una risposta immunitaria da parte della madre ad una esposizione al Fattore VIII del bambino durante il parto.

Può comportare rischi significativi alla madre a causa della natura potenzialmente grave dei sanguinamenti: l'emorragia post-partum è la forma più comune di emorragia ostetrica nonché una delle principali cause di mortalità e morbosità materna nel mondo. La diagnosi è in genere ritardata, richiede un tempo mediano dal parto di 89 giorni ed un confronto multidisciplinare tra Ostetricia, Ematologia e Medicina Trasfusionale. Con un trattamento adeguato, molte donne possono raggiungere la remissione completa. Tuttavia è essenziale il monitoraggio a lungo termine della condizione così da prevenire e gestire il rischio di recidive nelle successive gravidanze.

Scopo del lavoro

L'EAA si manifesta inattesa ed in contesti clinico-assistenziali molto eterogenei. Questo comporta spesso ritardi nella formulazione della diagnosi e nell'impostazione della terapia, andando a gravare sulla prognosi finale. Il presente lavoro illustra il corretto iter diagnostico-terapeutico da seguire in caso di sospetta emofilia acquisita post-partum e definisce un modello ottimale di gestione integrata della paziente allo scopo di ridurre al minimo il rischio di morte e grave morbosità materna.

Materiali e metodi

La diagnostica clinica e di laboratorio

Il riscontro di estese ecchimosi o ematomi all'esame fisico, episodi di sanguinamento spontaneo ad esordio improvviso in assenza di trauma, copiose manifestazioni emorragiche post-traumatiche sono tutte condizioni che possono suggerire lo sviluppo in circolo di un inibitore del Fattore VIII in madri a pochi mesi dal parto che mancano di una pregressa storia personale e familiare per malattia emorragica. Un'accurata anamnesi della paziente permette di chiarire i segni e i sintomi caratterizzanti, ma da sola non fa diagnosi: determinante è il ruolo del Laboratorio di Ematologia. (Fig.1).

I test di laboratorio includono:

- rilevazione del tempo di tromboplastina parziale attivata (aPTT) allungato;
- misurazione del tempo di trombina (TT) per escludere una contaminazione da anticoagulante;
- esecuzione del test di miscela (o mixing test) per distinguere tra una carenza fattoriale e la presenza di inibitori;
- misurazione del tempo di veleno di vipera Russell diluito (dRVVT) per escludere il Lupus Anticoagulante (LAC);
- esecuzione del test di Bethesda-Nijmegen per la misurazione del FVIII e la quantificazione degli inibitori anti-FVIII.

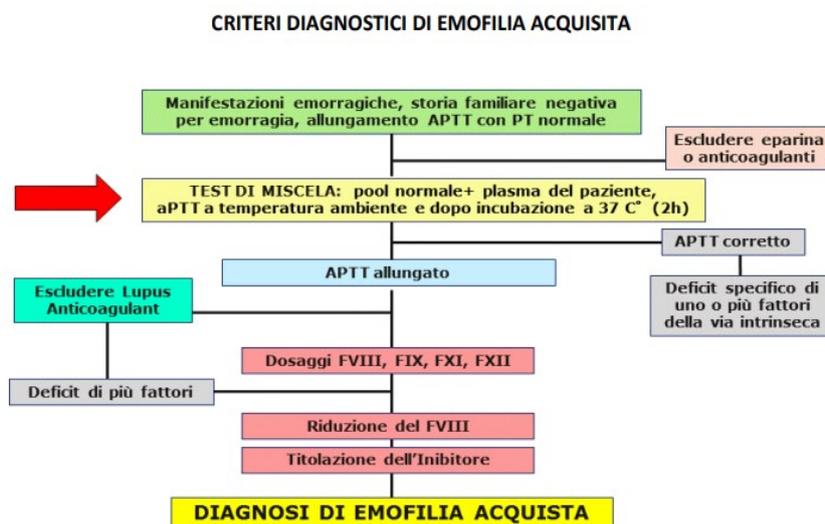


Figura 1

A fronte di un sospetto clinico, le pazienti con emofilia acquisita post-partum mostrano un allungamento 1,5 volte maggiore dei tempi di tromboplastina parziale attivata (aPTT) con tempo di protrombina (PT) e conta piastrinica nei range di normalità. È fondamentale in questa fase confermare l'allungamento dell'aPTT su un campione fresco di plasma citratato e successivamente valutare l'integrità del campione escludendo eventuali interferenze da additivi o farmaci anticoagulanti. Ciò avviene attraverso l'aggiunta di trombina al plasma della paziente: un allungamento del tempo di trombina (TT) suggerisce anomalie nel processo di conversione del fibrinogeno in fibrina pressoché riconducibili alla presenza di CID, eparina o inibitori diretti della trombina. È spesso di grande utilità anche il test del TT5 per la misurazione della risposta del plasma della paziente alla coagulazione dopo un'incubazione di 5 minuti. Il confronto tra il TT immediato e il TT5 consente di identificare la persistenza dell'effetto anticoagulante attribuibile all'eparina: se il tempo di coagulazione rimane prolungato dopo 5 minuti di incubazione, è più probabile una contaminazione eparinica del campione; se invece il tempo di coagulazione si riduce, è più probabile che vi siano altre cause, come la presenza di inibitori specifici della cascata coagulativa.

Esclusa la presenza di interferenti, deve essere prontamente eseguito il test di miscela: un tempo di tromboplastina parziale attivato allungato (>38 secondi) che non si corregge con la miscela con un pool di plasma normale rappresenta il cardine diagnostico di laboratorio per emofilia acquisita. Il test di miscela ha lo scopo di discriminare se l'allungamento dei tempi di coagulazione osservato nel plasma in esame è dovuto alla carenza di uno o più fattori fra quelli indagati o alla presenza di un inibitore circolante. Consiste nel ripetere il test dell'aPTT su un campione costituito per il 50% dal plasma della paziente e per il 50% da un pool di plasma normale di controllo (PPN). Si possono utilizzare pool di plasma normale liofilizzati e disponibili in commercio oppure dei pool di plasma normale "homemade". Si allestisce dunque una miscela di plasmi provenienti da almeno 20 soggetti adulti sani (preferibilmente in egual rapporto maschi/femmine), con storia personale e familiare negativa per malattie emorragiche o trombotiche. Su ciascun plasma dovrebbe esserci un basso numero residuo di piastrine e dovrebbe essere documentata l'assenza di anticoagulante lupico: ciò assicura un livello ottimale di attività per ogni fattore della coagulazione. Nello specifico, il pool si ottiene mescolando pari volumi di plasmi normali all'interno di un recipiente e suddividendo il tutto in piccole aliquote raccolte in provette di plastica con tappo. Le aliquote vanno congelate rapidamente e conservate a -70°C , temperatura alla quale è garantita la stabilità dei singoli fattori della coagulazione per almeno un anno. Poco prima dell'uso, le aliquote vanno scongelate in bagno termostato a 37°C per max 2-3 minuti, omogeneizzati per inversione delle provette e usate entro 2 ore. Per l'esecuzione del test di miscela si preleva un campione di sangue citratato della paziente e lo si separa in plasma mediante centrifugazione a 1500 giri per 15 minuti. Il campione deve essere conservato a temperatura ambiente e processato nell'arco di 4 ore; altrimenti è buona prassi procedere col congelamento del plasma a -20°C per due settimane o a -70°C per periodi più lunghi. Si miscelano pari volumi di plasma della paziente con PPN (di controllo) e si procede con la misurazione dell'aPTT al tempo zero e dopo incubazione a 37°C per 1-2 ore in bagno termostato. L'incubazione dovrebbe consentire la manifestazione della propria attività da parte di eventuali anticorpi lenti, cioè tempo e/o temperatura dipendenti. Se dopo il test di miscela il rapporto risulta normalizzato, è evidente che la paziente presenta un deficit di un fattore della via intrinseca "corretto" dall'attività dei fattori del PPN. Questo è perché il plasma normale fornisce i fattori mancanti nel plasma della paziente necessari per la correzione dei valori di aPTT. Se al contrario il rapporto risulta ancora anormale (assenza di correzione), la paziente presenta con ogni probabilità inibitori patologici della coagulazione in circolo che non permettono la correzione del test. Nel caso particolare dell'emofilia acquisita post-partum si tratta di anticorpi anti-FVIII.

In seguito al riscontro di un aPTT allungato (>38 sec) è opportuno escludere nella paziente la presenza del Lupus Anticoagulante (LAC), un autoanticorpo prodotto dal sistema immunitario e diretto contro i fosfolipidi della membrana cellulare. Il meccanismo con il quale questi anticorpi interferiscono con i processi coagulativi non è ancora chiaro: la presenza di LAC può causare una riduzione apparente del FVIII, FIX, FXI e FXII esponendo le pazienti al rischio di sviluppare episodi trombotici; i coaguli

di nuova formazione possono determinare l'interruzione del flusso sanguigno in qualsiasi parte dell'organismo e quindi portare a ictus, arresto cardiaco, trombosi venosa profonda o embolia polmonare. La presenza di LAC si associa spesso ad aborti spontanei ricorrenti: questi potrebbero essere dovuti al blocco dei vasi che irrorano la placenta a seguito della formazione dei coaguli o all'attacco dei tessuti placentari da parte degli autoanticorpi. Nelle pazienti con eventi clinici che suggeriscono una sindrome da anticorpi anti-fosfolipidi (APS) si avviano le indagini di laboratorio per confermare o escludere la diagnosi. Le linee guida raccomandano di utilizzare in prima battuta test di screening a bassa concentrazione di fosfolipidi: i più utilizzati sono il test del veleno di vipera Russell diluito (dRVVT), più robusto e specifico nel rilevare il fenomeno LAC nelle pazienti ad alto rischio tromboembolico, e il test dell'aPTT contenente silice come attivatore, ritenuto molto sensibile al LAC. In caso di positività al test di screening si procede con il test di miscela: si ripete il test di screening scelto utilizzando come campione una miscela 1:1 tra plasma della paziente e pool di plasma normale. Se il test non si negativizza, si può presupporre la presenza in circolo di un inibitore fosfolipide dipendente o no. È necessario quindi eseguire i test di conferma utilizzando i medesimi reagenti dei test di screening, salvo che per l'aggiunta di un eccesso di fosfolipidi. Se le alte concentrazioni di fosfolipidi normalizzano i test, si può porre diagnosi di LAC; se, al contrario, alte concentrazioni di fosfolipidi non normalizzano i test, allora si è in presenza di un inibitore non fosfolipide dipendente, esempio un inibitore specifico di un fattore coagulativo (nel caso specifico dell'emofilia acquisita post-partum un inibitore acquisito anti-FVIII).

La presenza di un inibitore acquisito anti-fattore è confermata dal dosaggio specifico del fattore che risulterà scarso o assente e dalla titolazione dell'inibitore mediante il metodo Bethesda-Nijmegen. Il primo tentativo di ricerca e quantificazione degli inibitori è datato 1975 ed è stato messo a punto nel corso di un meeting a Bethesda, città che ha dato il nome al test; la modifica del test di Bethesda, secondo Nijmegen, è stata introdotta successivamente con l'obiettivo di ridurre l'incidenza dei falsi positivi ed incrementare la standardizzazione del metodo. Sia il metodo Bethesda che quello Nijmegen forniscono la misurazione del FVIII residuo a seguito di un'incubazione prefissata con una fonte di FVIII ad attività nota: viene dapprima realizzata una miscela test composta da eguali volumi di plasma della paziente e pool di plasma normale come fonte di FVIII. La paziente viene sottoposta ad un prelievo di sangue venoso in provetta contenente sodio citrato 0,109 M in rapporto 9:1. Il campione viene poi incubato in bagno termostato a 56°C per almeno 30 minuti, al fine di eliminare completamente il FVIII che potrebbe ancora residuare. Il pretrattamento al calore del campione è un passaggio fondamentale perché assicura che il FVIII che si va a determinare nella miscela sia esclusivamente quello proveniente dal pool di plasma normale. Si procede con una centrifugazione del campione a 3000 giri per 15 minuti per allontanare i detriti ed ottenere il plasma da esaminare. Dal momento che il FVIII è termolabile, è possibile che all'interno della miscela test si verifichi una perdita dell'attività dello stesso nel corso della successiva incubazione: le alte temperature inducono un incremento del pH all'interno che esita in una possibile sovrastima del livello di inibitore. Le modifiche apportate nel metodo Nijmegen prevedono l'uso di un pool di plasma normale tamponato con imidazolo in grado di minimizzare l'inattivazione aspecifica del FVIII. A questo punto si allestisce una miscela di controllo così costituita: pool di plasma normale in rapporto 1:1 con una soluzione tampone a pH 7.4 nel metodo Bethesda e pool di plasma normale tamponato in rapporto 1:1 con plasma carente di FVIII nel metodo Nijmegen. Non appena pronte, entrambe le miscele (miscela test, miscela di controllo) vengono singolarmente incubate nelle medesime condizioni, cioè 2 ore in bagno termostato a 37°C. Alla fine dell'incubazione vengono trasferite in ghiaccio per bloccare la reazione di inibizione fino all'esecuzione del test; viene quindi eseguita la misura del FVIII residuo nella miscela test e nella miscela controllo sfruttando il metodo coagulativo oppure il metodo cromogenico. Nel caso in cui si utilizzi il metodo coagulante si deve tener presente che questo metodo è soggetto ad alcune interferenze, quali la presenza di eparina non frazionata, anticoagulante lupico ed eventuali inibitori aspecifici; il metodo cromogenico è preferibile poiché risolve il problema delle suddette interferenze ed è l'unico utilizzabile per gli emofilici A in profilassi. L'attività residua del FVIII presente nella miscela di controllo, che non contiene inibitore, è previsto si mantenga su un livello vicino al 50%; per le miscele test, in cui può essere presente l'inibitore, l'attività residua del

FVIII si calcola dal rapporto tra la misura del FVIII della miscela paziente e la misura del FVIII della miscela di controllo, moltiplicando il risultato per 100. Per il calcolo del titolo di inibitore si fa riferimento ad un modello cinetico teorico che prevede una correlazione lineare tra il logaritmo dell'attività residua del FVIII e la concentrazione dell'inibitore anti-FVIII: secondo questo modello ogni valore di attività residua misurata può essere direttamente convertito in un valore di titolo di inibitore, espresso in unità Bethesda (UB). Per definizione 1 UB di inibitore è la quantità di inibitore contenuto in 1 ml di plasma in grado di inattivare il 50% del FVIII presente nella miscela test dopo incubazione a 37°C per 2 ore (ovvero in grado di determinare una attività residua del 50%). Sulla scorta della correlazione lineare tra attività residua e titolo dell'inibitore è possibile rappresentare queste due grandezze su un grafico semilogaritmico che ha sull'asse orizzontale le Unità Bethesda dell'inibitore e sull'asse verticale l'attività residua del fattore. È così possibile estrapolare il titolo dell'inibitore partendo dall'attività residua della miscela del plasma paziente. In Fig.2 e Fig.3 sono schematizzate rispettivamente le procedure del test di Bethesda e del test di Nijmegen.

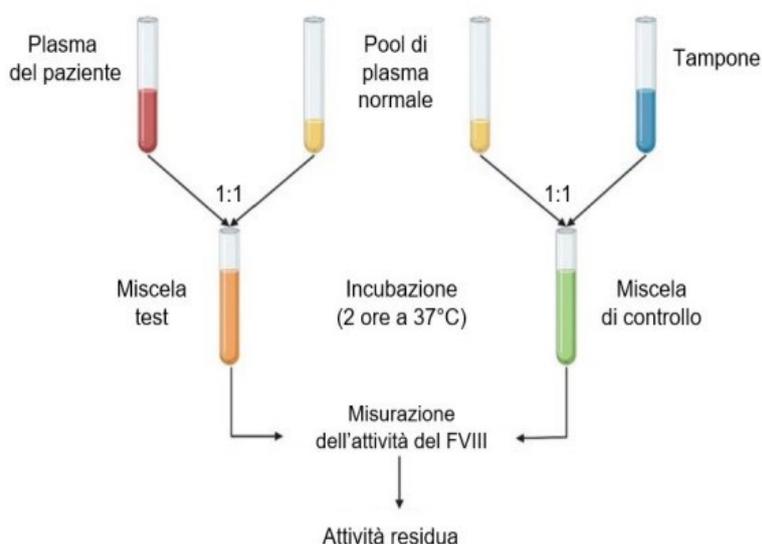


Figura 2

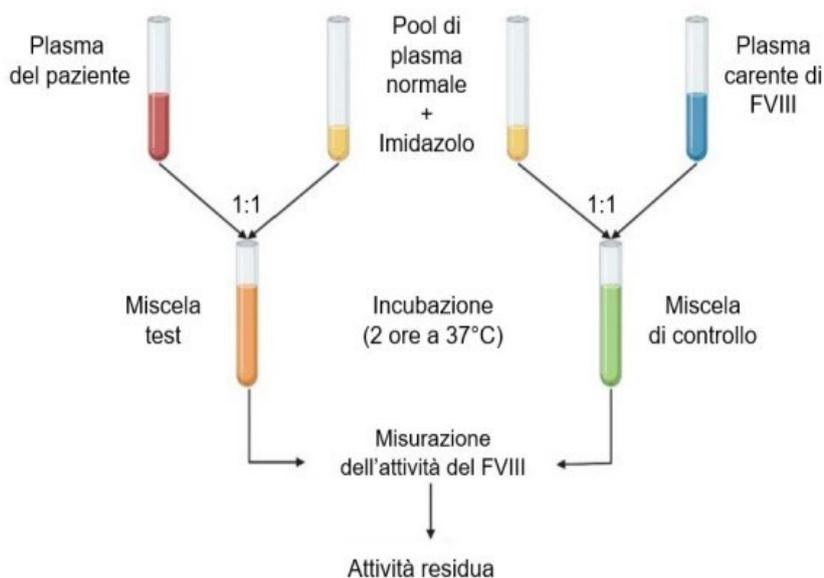


Figura 3

Le raccomandazioni dell'ISTH e del CLSI nella diagnosi di APS.

Nel complesso iter diagnostico dell'emofilia acquisita post-partum, abbiamo osservato come il Tecnico Sanitario di Laboratorio Biomedico ad un certo punto si confronta con la ricerca dell'eventuale autoanticorpo diretto contro i fosfolipidi della membrana cellulare. Una scarsa standardizzazione dei test diagnostici per il LAC ha portato nel tempo ad un'ampia variabilità interlaboratorio dei risultati e ad un'aumentata probabilità di errori diagnostici in termini di falsi positivi e falsi negativi. A tal proposito, nel 2009 il sottocomitato per la standardizzazione dei metodi dell'International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH) ha pubblicato un aggiornamento delle linee guida preesistenti. Nel 2014 il Clinical & Laboratory Standard Institute (CLSI) ha promosso nuove linee guida per certi versi contrastanti con quelle dell'ISTH. La procedura diagnostica illustrata nel dettaglio in questo lavoro segue le linee guida raccomandate dall'ISTH. Tuttavia, nella Tabella 2 si vogliono illustrare schematicamente le similitudini e le differenze tra le due metodiche.

Tabella 2.	ISTH	CLSI
Preparazione del campione	<ul style="list-style-type: none"> • Prelievo in anticoagulante trisodio citrato (0.109 M) in rapporto 9:1 • Doppia centrifugazione per abbassare il numero residuo di piastrine nel campione 	<ul style="list-style-type: none"> • Prelievo in anticoagulante trisodio citrato (0.109 M) in rapporto 9:1 • Doppia centrifugazione per abbassare il numero residuo di piastrine nel campione
Timing del prelievo	<ul style="list-style-type: none"> • Prima dell'inizio di una terapia anticoagulante (AVK, eparina non frazionata, anti-coagulanti orali diretti) • In pazienti in terapia anti-coagulante attendere 2 settimane dalla sospensione della terapia o verificare quando l'INR risulta <1,5 • Per valori di INR compresi tra 1,5 e 3,0 eseguire i test su plasma diluito 1:1 PPN 	<ul style="list-style-type: none"> • Su una miscela di plasma del paziente diluita 1:1 con pool di plasma normale (PPN) è possibile eseguire i test anche qualora il valore di INR risulti > 3,0
Scelta dei test diagnostici	<ul style="list-style-type: none"> • dRVVT specifico per rilevare il fenomeno nei pazienti ad alto rischio trombotico • aPTT sfruttando reagenti a bassa concentrazione di fosfolipidi e contenenti silice come attivatore per aumentare la sensibilità 	<ul style="list-style-type: none"> • dRVVT specifico per rilevare il fenomeno nei pazienti ad alto rischio trombotico • aPTT sfruttando reagenti a bassa concentrazione di fosfolipidi e non necessariamente contenenti silice come attivatore • non esclude la possibilità di utilizzare altre metodiche
Ordine dei test diagnostici	<ul style="list-style-type: none"> • test di screening • test di miscela • test di conferma 	<ul style="list-style-type: none"> • test di screening • test di conferma • test di miscela utile solo nei casi in cui si osservi un allungamento del test di screening senza una correzione corrispondente del test di conferma e in assenza di altre alterazioni

		coagulative. Questo perché il test di miscela può diluire l'effetto in vitro della presenza di anticorpi anti-fosfolipidi clinicamente significativi
Espressione dei risultati	<ul style="list-style-type: none"> • I risultati devono essere espressi come ratio tra il tempo di coagulazione del plasma e quello del PPN • Per il test di miscela può essere utilizzato un indice di correzione (ICA) così calcolato: ICA = [(tempo di coagulazione della miscela – tempo di coagulazione del test di screening del PPN) / tempo di coagulazione del test di screening del plasma del paziente] x 100 • Per il test di conferma può essere utilizzata una ratio normalizzata screening/conferma 	<ul style="list-style-type: none"> • I risultati devono essere espressi come ratio tra il tempo di coagulazione del plasma e il valore medio dell'intervallo di riferimento appositamente determinato. Questo perché potrebbero verificarsi falsi positivi o falsi negativi se il tempo di coagulazione del PPN cade agli estremi dell'intervallo di riferimento • Per il test di conferma può essere utilizzata una ratio normalizzata screening/conferma
Interpretazione dei risultati	<ul style="list-style-type: none"> • Il valore di cut-off corrisponde al 99° percentile della distribuzione dei risultati o alla media ± 3DS se la distribuzione dei valori è gaussiana 	<ul style="list-style-type: none"> • Il valore di cut-off corrisponde al 97,5° percentile della distribuzione dei risultati o alla media ± 2DS se la distribuzione dei valori è gaussiana
Refertazione dei risultati	<ul style="list-style-type: none"> • Il referto deve riportare risultati quantitativi accompagnati da un commento interpretativo che indichi se tali risultati sono compatibili con la presenza/assenza del fenomeno LAC 	<ul style="list-style-type: none"> • Il referto deve riportare risultati quantitativi accompagnati da un commento interpretativo che indichi se tali risultati sono compatibili con la presenza/assenza del fenomeno LAC

Trattamento dell'emofilia acquisita post-partum.

La strategia terapeutica d'elezione nelle pazienti con emofilia acquisita post-partum prevede un duplice intervento: controllare il sanguinamento ed eliminare dal circolo gli anticorpi inibitori. Occorre pertanto valutare la sede e l'entità del sanguinamento e il titolo degli anticorpi inibitori. In presenza di episodi emorragici non particolarmente gravi o inibitori a basso titolo è possibile superare l'interferenza dell'inibitore incrementando i livelli di Fattore VIII endogeno mediante la desmopressina (DDAVP) o dosi elevate di concentrati di Fattore VIII esogeno (rHFVIII). In presenza di emorragie gravi o inibitori ad alto titolo, è necessario ricorrere all'impiego di agenti bypassanti: il concentrato di complesso protrombinico attivato (aPCC) fino al dosaggio massimo di 200 unità/kg nelle 24 ore o il Fattore VII ricombinante attivato (rFVIIa) alla dose iniziale di 90 µg/kg, ripetibile ogni 2-3 ore. Entrambi sono farmaci capaci di attivare tempestivamente la formazione del coagulo e per tale motivo

il loro uso può essere complicato da un rischio trombotico. In alternativa possono essere adoperati farmaci antifibrinolitici come l'acido tranexamico. Talvolta può ritenersi necessario un supporto ematologico: le trasfusioni di plasma non sono utili nell'emofilia acquisita, ma possono essere utili le trasfusioni di globuli rossi se l'emorragia causa grave anemia. La cura definitiva dell'emofilia acquisita si ottiene mediante eradicazione degli autoanticorpi inibitori: ciò è possibile con la terapia immunosoppressiva che si avvale di farmaci in grado di abolire la risposta del sistema immunitario contro il Fattore VIII. L'eradicazione dell'inibitore si può ottenere in circa il 75% delle pazienti sottoposte a terapia immunosoppressiva. Il regime di prima linea prevede l'uso di steroidi da soli (prednisone 1-2 mg/kg die per 4-6 settimane) o in associazione a ciclofosfamide (1-2 mg/kg die per un massimo di 6 settimane). L'associazione sembra offrire vantaggi in termini di remissione dell'inibitore, ma non rispetto alla mortalità totale, probabilmente a causa di un maggior numero di complicanze infettive. Perciò viene raccomandata cautela nell'uso della ciclofosfamide, cercando di personalizzare dose e durata del trattamento per ridurre gli effetti collaterali.

Tabella 3. Emofilia acquisita: raccomandazioni terapeutiche.	
Trattamento delle emorragie	
• Agenti bypassanti	In pazienti con emorragie gravi e inibitore ad alto titolo
• rFVIIa	90µg/kg ogni 2-4 ore fino al raggiungimento dell'emostasi
• aPCC	50-100 IU/kg ogni 8-12 ore (dose massima: 200 IU/kg/die)
• DDAVP; pd/rHFVIII	In pazienti con emorragie non gravi e inibitore a basso titolo
• pFVIII	Non disponibile in commercio; in fase di studio una forma ricombinante
• Immunoassorbimento	In caso di emorragie potenzialmente fatali o con inibitore a titolo molto elevato
Eradicazione dell'inibitore	
1) Prednisone	1-2 mg/kg/die per 4-6 settimane da solo o in associazione a ciclofosfamide
2) Ciclofosfamide	2 mg/kg/die per un massimo di 6 settimane
3) HDIVIG	0.4 g/kg/die per 5 giorni o 1 g/kg/die per 2 giorni (seconda linea)
4) Ciclosporina	200-300 mg/die (seconda linea)
5) Rituximab	375 mg/m ² settimana per 4 settimane (seconda linea)
6) Immunotolleranza	In associazione a vari regimi immunosoppressivi

d

Discussione e conclusioni

La gravidanza rappresenta un evento precipitante che può portare alla formazione di autoanticorpi inibitori del Fattore VIII in giovani madri: fino al 20% dei casi di emofilia acquisita di tipo A nelle donne risulta associata alla gravidanza. L'emofilia acquisita post-partum rappresenta una significativa sfida clinica a causa della gravità del quadro emorragico e della complessità del trattamento. Tempestività e adeguatezza diagnostico-terapeutica sono cruciali al fine di ridurre i danni secondari e le morti evitabili. L'emofilia acquisita post-partum è un'emergenza emorragica che richiede una gestione integrata della paziente: data la rarità e l'imprevedibilità della malattia, è importante avere conoscenze cliniche aggiornate e accesso alle linee guida per riconoscere prontamente la malattia ed individuare un approccio terapeutico personalizzato nel più breve tempo possibile per migliorare gli outcome e la qualità della vita delle pazienti.

I pazienti con deficit di un qualsiasi fattore coinvolto nel processo emostatico dovrebbero essere seguiti presso appositi centri per la cura dell'emofilia e delle malattie emorragiche. Ciò è raccomandato dalla World Federation of Hemophilia, da numerosi esperti e da Linee Guida nazionali e internazionali. In Italia, la gestione dei pazienti con inibitore acquisito è in larga parte affidata ai Centri Emofilia (52 centri più o meno uniformemente distribuiti su tutto il territorio nazionale), la cui attività è coordinata dall'Associazione Italiana Centri Emofilia (AICE).

Compiti del TSLB:

- allertare il medico che ha in carico la paziente del sospetto di emofilia acquisita e chiedere riscontro delle manifestazioni cliniche;
- eseguire il test di miscela a tutte le pazienti con aPTT allungato (>38 sec) che non sono state sottoposte a terapia eparinica o anticoagulante;
- escludere la presenza di LAC se l'aPTT risulta essere ancora allungato dopo test di miscela;
- procedere con dosaggio del FVIII ed eventuale titolazione dell'inibitore.

Compiti del Medico che ha in carico la paziente:

- al riscontro di aPTT allungato (>38 sec), escludere la contaminazione eparinica e richiedere approfondimento diagnostico con esecuzione del test di miscela al Laboratorio;
- raccogliere l'anamnesi personale e la documentazione sanitaria della paziente;
- rilevare i segni clinici emorragici: nel caso in cui la paziente sia in condizioni gravi è raccomandato un primo approccio per stabilizzare la paziente;
- richiedere la consulenza dell'esperto in Emostasi, se non presente all'interno dell'ospedale contattare il centro di riferimento per una valutazione diagnostica ed eventuale ricovero e trattamento della paziente;
- qualora vi fossero indicazioni terapeutiche non realizzabili presso il presidio ospedaliero e la paziente fosse stabile e trasportabile, organizzare il trasferimento, trasmettendo la richiesta con il quadro clinico, allegando immagini diagnostiche, consulenze specialistiche e referti;
- scegliere caso per caso la terapia farmacologica.

Bibliografia

1. Emofilia A acquisita: rara tra le malattie rare.
Paola Perrotta. Maggio 2017
2. Emofilia acquisita: caratteristiche diagnostico-terapeutiche.
Massimo Franchini. Gennaio 2011
3. Il Laboratorio di Emostasi nella gestione del paziente con emofilia.
AICE, Associazione Italiana Centri Emofilia, Luglio 2021
4. Percorso diagnostico-terapeutico emofilia acquisita da applicare nella regione Campania.
Matteo Di Minno, Ernesto Cimino, Filomena Capasso, Alessandro Di Minno, Paolo Conca, Antonella Tufano, Giuseppe Castaldo.
5. Emofilia acquisita post-partum: l'importanza di una diagnosi precoce.
Mariachiara Gagliardi, Luigi Capone, Gaetanina De Stefano, Mariarosa Cianciulli, Antonio Ciampa. Maggio 2023
6. Acquired Hemophilia A: a rare, acquired coagulopathy in the postpartum setting.
Austin Oberlin, Nicole M. Krenitsky, Christy Gandhi, Imo Joseph Akpan, Andrew Eisenberger, Ruth Landau, Ladin Yurteri-Kalan, Lisa Nathan, Jean-Ju Sheen, Anita LaSala, Mary D'Alton. Novembre 2023
7. Procedure per il Laboratorio di Emostasi: test di miscela e misura del Fattore VIII e IX.
AICE, Associazione Italiana Centri Emofilia, Agosto 2022
8. Ricerca e titolazione degli inibitori anti-FVIII e FIX
AICE, Associazione Italiana Centri Emofilia, Luglio 2024
9. La ricerca del lupus anticoagulant: raccomandazioni del gruppo di studio sulla coagulazione di SIPMeL.
Cristina Legnani, Giuliana Martini, Michele Bertini, Pierfrancesco Agostini, Francesco Bondanini, Maria Rita Cozzi, Marta Sofia Angela Demicheli, Giovina Di Felice, Cristina Novembrino, Oriana Paoletti, Simona Pedrini, Lucia Ruocco, Agostino Steffan, Lucia Terzuoli, Sophie Testa. Aprile 2018
10. Acquired Haemophilia A: a review of what we know.
Maria Eva Mingot-Castellano, Francisco Javier Rodriguez-Martorell, Ramiro José Nuñez-Vázquez, Pascual Marco. Novembre 2022