

Diagnóstico de HIT: Anticuerpos anti factor plaquetario 4-Heparina detectados por un método inmunturbidimétrico

HIT Diagnosis: Anti PF4-Heparin antibodies detection by an immoturbidimetric method

Martinuzzo ME, Barrera LH, Otao JC

Grupo Bioquímico. Laboratorio Central del Hospital Italiano de Buenos Aires

memartinuzzo@gmail.com

*Fecha de recepción: 19/11/2013
Fecha de aprobación: 27/11/2013*



LABORATORIO
EN HEMATOLOGÍA

HEMATOLOGÍA, Vol.17 N° 3: 293-295
Septiembre - Diciembre 2013

Resumen

El diagnóstico de laboratorio certero y rápido ante sospecha clínica de trombocitopenia inducida por heparina (HIT) es importante para suspender la heparina y evitar complicaciones trombóticas mórbidas en los pacientes que padecen esta reacción adversa de la droga. Además, la relevancia de la exclusión del diagnóstico de HIT está dada por las pocas drogas alternativas disponibles en nuestro país ante la necesidad de cambiar la estrategia antitrombótica en estos pacientes. El índice clínico pretest (T4 score) utiliza: nadir de plaquetas, tiempo de desarrollo de trombocitopenia, presencia de otra causa para la misma y el desarrollo y/o extensión de trombo-sis. El mismo es utilizado para definir la probabilidad clínica y por ende la necesidad de la detección de anticuerpos anti PF4-HEP (causantes de la complicación) para la exclusión de la enfermedad. Para determinar la presencia de los anti-cuerpos, los ensayos de ELISA son muy sensibles, por lo que un resultado positivo solo es considerado patogénico cuando arroja una absorbancia >1.000. Estas técnicas son trabajosas y llevan al menos 2 horas para su realización. Recientemente se han desarrollado técnicas rápidas para poder resolver la exclusión o la confirmación del diagnóstico de HIT en tiempo real. Una de ellas es la técnica inmunturbidimétrica (HIT AB) que se describirá en este artículo. La técnica de HIT AB es sencilla, rápida (el resultado se obtiene en 16 min), se realiza en un coagulómetro, y presenta una buena performance para el diagnóstico de HIT.

Palabras claves: Trombocitopenia inducida por heparina, anticuerpos anti factor plaquetario 4-Heparina

Summary

A fast and accurate laboratory diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia (HIT) in patients with clinical suspicion is important in order to discontinue heparin and prevent morbid thrombotic complications in patients suffering from this adverse drug reaction. In addition, the relevance of the exclusion of HIT diagnosis is given by the few alternative drugs available in our country to change the antithrombotic therapy in these patients. The clinical pretest T4 score include: platelet nadir, time to the development of thrombocytopenia, presence of other cause for thrombocytopenia and the development or extension of thrombosis. It is used to define the clinical probability and therefore the need for the detection of anti PF4-HEP antibodies. To investigate the presence of antibodies, ELISA tests are very sensitive, so a positive result is considered pathogenic when the absorbance is greater than 1.000. These techniques are laborious and time consuming (at least 2 hours). Recently, rapid methods have been developed to solve the exclusion or confirmation of HIT diagnosis in real time. One of them is the immunturbidimetric method (HIT AB) that will be described in this article. HIT AB method is simple (result is obtained in 16 min), fast, takes place in a coagulometer and presents a good performance for the diagnosis of HIT.

Keywords: Heparin induced thrombocytopenia, anti PF4-Heparin antibodies.

Introducción

Las heparinas son anticoagulantes muy frecuentemente utilizados en la profilaxis y tratamiento de trombosis en distintos territorios y circunstancias clínicas. La trombocitopenia inducida por heparina (HIT) es una reacción adversa de origen inmunológica de las terapias con heparina no fraccionada (UFH) o con heparinas de bajo peso molecular, en la que se producen anticuerpos contra el complejo formado entre la heparina y el factor plaquetario 4. Esta reacción adversa se transforma en un problema médico frecuente debido a la gran población de pacientes que reciben la droga. La HIT se asocia a trombocitopenia moderada en general y complicaciones trombóticas muy mórbidas con menor frecuencia. Una serie de factores tales como el tipo de heparina, tipo de cirugía, trauma, tiempo desde la primera dosis de la droga, el índice de masa corporal, la estequiometría del complejo formado, el sexo, etc, han sido postulados como responsables no solo de la inmunogenicidad sino también del desarrollo de trombocitopenia y trombosis en estos pacientes.⁽¹⁾ La HIT es considerada una entidad clinicopatológica en donde la sospecha clínica puede ser evaluada a través de un índice clínico pretest, el índice de las 4T (T4 Score) y el laboratorio es necesario para confirmar el diagnóstico⁽²⁾.

La detección de anticuerpos por métodos de ELISA es muy sensible pero poco específica para los anticuerpos patogénicos de la HIT, además de requerir al menos de 2 horas de procesamiento. Existe una tasa de seroconversión elevada en los paciente que reciben heparina pero los títulos bajos se presentan muy frecuentemente sin manifestaciones clínicas de relevancia por lo que provocan ciertas dudas diagnósticas. Es por ello que sólo los títulos altos, correspondientes a absorbancias mayores a 1.000, y preferentemente obtenidos en ensayos que detecten el isotipo IgG, son considerados patogénicos para el diagnóstico de HIT. Por otro lado, los ensayos funcionales están poco disponibles, y tienen distintas sensibilidades, aunque son más específicos⁽¹⁾. Todo esto dificulta la decisión de suspender la terapia con heparina y el reemplazo por terapéuticas anticoagulantes alternativas. En un estudio realizado en nuestro país hemos demostrado que los títulos altos de anticuerpos anti PF4-HEP medidos por un ELISA que detecta los 3 isotipos correlacionaban claramen-

te con un índice 4T de alta probabilidad (≥ 6) y eran más frecuentes en los pacientes que habían desarrollado trombosis⁽³⁾.

Una prueba inmunológica negativa obtenida en tiempo real a través de un ensayo rápido en un paciente con probabilidad baja o intermedia medida a través del índice 4T, presenta un alto valor predictivo negativo, evitando la suspensión de la heparina y el cambio de estrategia antitrombótica que muchas veces es dificultosa. La técnica inmunoturbidimétrica que describiremos parece ser una alternativa interesante⁽⁴⁾ en este sentido, y está disponible en el país a partir del año 2012.

Fundamento: Es un método inmunoturbidimétrico competitivo. Las partículas de látex están recubiertas con un anticuerpo monoclonal que está dirigido contra el complejo PF4-HEP e imitan a los anticuerpos que se encuentran en la HIT: Cuando estas partículas se ponen en contacto con una solución que contiene complejos formados por PF4 de plaquetas humanas y polovinilsulfonato (polímero de carga negativa que forma complejos macromoleculares con el PF4 de manera similar a la heparina) y la muestra del paciente se produce una reacción de aglutinación competitiva. El grado de aglutinación es inversamente proporcional a la cantidad de anticuerpos anti PF4-HEP presentes en la muestra y es determinada a través de la medida de disminución de la luz transmitida a 671 nm causada por los agregados de partículas aglutinadas. Esta determinación puede ser realizada de manera totalmente automatizada en los coagulómetros de la familia ACL TOP.

Calibración: por lote de reactivo o cuando el control de calidad lo indique. Deben procesarse controles de calidad bajo (cercano al punto de corte de la técnica) y altos que provee el fabricante como un reactivo aparte. El calibrador es provisto por el fabricante dentro del mismo envase de reactivo. El calibrador y los controles están constituidos por soluciones de un anticuerpo monoclonal anti PF4-HEP en buffer PBS conteniendo albumina bovina y estabilizantes. El calibrador tiene valores de anticuerpos entre 5 y 6 U/ml

Muestra: Plasma citratado pobre en plaquetas, obtenido por centrifugación de sangre extraída y recogida sobre citrato 3.2 %, o suero del paciente. La muestra de plasma puede ser guardada congelada

por 3 meses a -20°C y 6 meses a -60°C, mientras que es suero puede ser mantenido a -60°C por más de 24 meses sin perder actividad, según la experiencia de nuestro laboratorio.

Expresión de resultados: Unidades arbitrarias /ml, U/ml.

Valor de referencia: Niveles mayores o iguales a 1 U/ml son indicadores de la presencia de anticuerpos anti PF4-HEP.

Control de calidad

Interno: El fabricante provee un set de dos controles. Un control Bajo con niveles entre 0.7-1.2 U/mL y alto de 2.7-4U/mL.

Externo: Los surveys de coagulación extendidos (CGE) del College of American Pathologists presentan la determinación de pruebas para HIT entre los analitos que incluye.

Performance analítica

El coeficiente de variación interensayo es menor a 20% para los dos niveles de control, siendo más alto en el nivel bajo de anticuerpos.

Utilidad clínica: Este método presenta un claro valor de corte con una muy buena comparabilidad con el ELISA. Ha sido relatada un % de conegatividad mayor al 90% comparado con el método de ELISA y un grado de copositividad menor (entre 65 y 85%) siendo los resultados discordantes aquellos que presentaban valores de anticuerpos por ELISA a títulos bajos, sin significación clínica⁽³⁾. En nuestra experiencia la presencia de un resultado positivo con este ensayo se asoció estadísticamente a un resultado del ensayo de ELISA positivo moderado o alto, a un índice 4T de moderada o alta probabilidad y a la presencia de complicaciones trombóticas en los pacientes⁽⁵⁾. La gran utilidad de este método reside en la posibilidad de obtener un resultado rápido, en el mismo coagulómetro en donde se realizan los ensayos de coagulación de rutina y que evaluado en conjunto con el índice de probabilidad clínica, lleve a las decisiones terapéuticas adecuadas de suspensión de la heparina y cambio de droga antitrombótica, cuando el resultado es positivo. Más importante aún es que además permite evitar la utilización de terapias antitrombóticas alternativas, no siempre fácilmente disponibles y económicamente accesibles,

en los pacientes con sospecha clínica moderada o baja con resultados negativos, que son la mayor parte de los mismos. Si bien mide los tres isotipos (IgG, IgM e IgA) de manera conjunta y no IgG solamente como ha sido recomendado para el ELISA, tiene una buena performance como screening con alto valor predictivo negativo, ya que la presencia de resultados por ELISA positivo débil (absorbancias < 0.8), presentaron resultados negativos cuando fueron analizados por la técnica inmunturbidimétrica⁽⁵⁾.

Declaración de conflictos de intereses

La Dra. Martinuzzo ME es autora de la referencia N° 4, que representa la única experiencia argentina en el Diagnóstico de HIT.

Bibliografía

1. Greinacher A. Heparin induced thrombocytopenia. *J Thromb Haemost* 2009; 7 (Suppl. 1): 9-12.
2. Lo GK, Juhl D, Warkentin TE, Sigouin CS, Eichler P, Greinacher A. Evaluation of pretest clinical score (4T's) for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia in two clinical settings. *J Thromb Haemost* 2006; 4: 759-65.
3. Davidson S, Ortel TL, Smith LJ. Performance of a new, rapid, automated immunoassay for the detection of anti-platelet factor 4/heparin complex antibodies. *Blood Coagulation and Fibrinolysis* 2011, 22:340-344
4. Martinuzzo ME, Cerrato G, Iglesias Varela ML, Adamczuk Y, Pombo G, Forastiero R. Los niveles de anticuerpos anti factor plaquetario 4-heparina y el índice 4T para Trombocitopenia inducida por Heparina: Experiencia Argentina. *Medicina (B Aires)*. 2012; 72(1):19-22.
5. Martinuzzo ME, Barrera LH, D'Adamo MA, Otaso JC, Gimenez MI, Oyhamburu J, Forastiero RR: Detección de anticuerpos anti PF4/Heparina por técnica inmunturbidimétrica en pacientes con sospecha de trombocitopenia inducida por heparina. XXI Congreso Argentino de Hematología, Mar del Plata 2013, poster. *Hematología* 2013;