

### **Anticuerpos anti PF4/heparina por inmunturbidimetría en el diagnóstico de trombocitopenia inducida por heparina**

Las heparinas son anticoagulantes frecuentemente utilizados en la profilaxis y tratamiento de trombosis. La trombocitopenia inducida por heparina (HIT) es una reacción adversa de origen inmunológico en las terapias con heparina no fraccionada (UFH) o de bajo peso molecular, en la que se producen anticuerpos contra el complejo formado entre la heparina y el factor plaquetario 4 (PF4). Ésta se transforma en un problema médico frecuente debido a la cantidad de pacientes que reciben la droga. La HIT se asocia a trombocitopenia, en general moderada y, con menor frecuencia, a complicaciones trombóticas muy mórbidas. Una serie de factores relacionados con las características de las heparinas y de los pacientes se postulan como responsables del desarrollo de anticuerpos anti-PF4/HEP, trombocitopenia y trombosis<sup>1</sup>. La HIT es considerada una entidad clinicopatológica en donde la sospecha clínica puede ser evaluada a través de un índice clínico, el índice de las 4T (*T4 Score*) y la confirmación diagnóstica se debe realizar a través del laboratorio<sup>2</sup>.

La detección de anticuerpos por métodos de ELISA es muy sensible pero poco específica para los anticuerpos patogénicos de la HIT, además de requerir más de 2 horas de procesamiento. Existe una tasa de seroconversión elevada, pero los títulos bajos se presentan frecuentemente sin manifestaciones clínicas, lo que provoca ciertas dudas diagnósticas. Es por ello que solo los títulos altos, correspondientes a absorbancias mayores a 1000, y preferentemente observados en ensayos que detecten el isotipo IgG, son considerados patogénicos para el diagnóstico de HIT. Por otro lado, los ensayos funcionales, que son menos sensibles pero más específicos, están poco disponibles<sup>1, 3</sup>. Todo esto dificulta la decisión de suspender la terapia con heparina y reemplazarla 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, correlacionaban claramente con un índice 4T de alta probabilidad ( $\geq 6$ ) y eran más frecuentes en los pacientes que habían desarrollado trombosis<sup>4</sup>.

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. Se ha desarrollado un ensayo inmuntur-

bidimétrico<sup>5</sup> competitivo, de rápida realización, en el que las partículas de látex están recubiertas con un anticuerpo monoclonal 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 con complejos formados por PF4 de plaquetas humanas y polivinilsulfonato (polímero de carga negativa que forma complejos macromoleculares con el PF4) 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 determinado a través de la medida de disminución de la luz transmitida a 671 nm. Nuestro objetivo fue aquí comparar la performance de este ensayo con el de ELISA en un grupo de 42 muestras pertenecientes al estudio publicado con anterioridad<sup>4</sup>. Se analizaron los niveles de anti-PF4/HEP por ELISA (*HPIA*, *Asserachrom HPIA-STAGO*) y por inmunturbidimetría (*HIT AB*, *Instrumentation Laboratory*) en un coagulómetro ACL TOP 500. Ambos detectan conjuntamente los tres isotipos de anticuerpos. Los resultados se expresaban en % de Abs para el HPIA y U/ml en HIT AB. Los puntos de corte fueron 27% ABS para HPIA y 1U/ml para HIT AB. Se observaron 31% negativos, 21.4% positivos débiles, 9.5% positivos moderados y 38.1 positivos fuertes por ELISA, y 54.8% negativos, 7.2% positivos débiles y 38% positivos fuertes por HIT AB. Los niveles de anticuerpos medidos por ambas técnicas correlacionaron de manera moderada (coeficiente de correlación de Pearson  $r = 0.69$ ,  $p < 0.001$ ) considerando el grupo total de muestras, pero la correlación fue superior cuando solo se consideraron los 19 pacientes con probabilidad alta de HIT,  $T4\ Score \geq 6$ ,  $r = 0.89$ ,  $p < 0.001$  (Fig. 1).

Solo el 30% de las muestras con HPIA positivo débil (% ABS  $\geq 27 < 50$ ), de baja significación clínica, presentaron resultado positivo por HIT AB, mientras que el 78.9% de los positivos moderados o fuertes de HPIA (% ABS  $> 50\%$ ) eran positivos por HIT AB. Los pacientes con índice 4T  $\geq 6$  presentaron mayor prevalencia de positivo fuerte de HIT AB (57.9%) que aquellos con probabilidad baja e intermedia (13.6%), OR 8.71 (1.90-39.75). La prevalencia de positivo fuerte de HIT AB fue superior en el grupo que tuvo complicaciones trombóticas ( $n = 18$ ), 55.5% vs. 19% en aquellos sin trombosis, OR 5.31 (1.27-22.25).

El grado de co-negatividad con ambas técnicas fue muy bueno, 12/13 (92.3%). En cuanto a la co-positividad, el 70% de las muestras con HPIA-ELISA positivo débil, sin significación clínica, dieron negativo por HIT AB. Nuestros resultados demuestran que la presencia de un resultado positivo con este ensayo se asoció estadísticamente a un

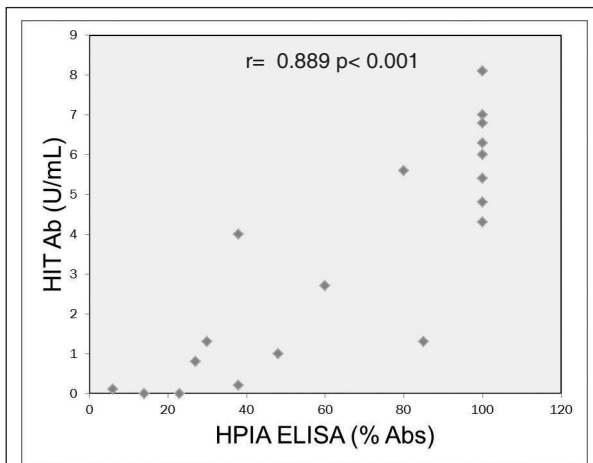


Fig.1.- Correlación de los resultados de HIT AB (ensayo inmunturbidimétrico) con los HPIA por ELISA en muestras de individuos con probabilidad clínica alta para HIT (Índice 4T  $\geq$ 6)

resultado positivo moderado o alto por ELISA, a un índice 4T de moderada o alta probabilidad y a la presencia de complicaciones trombóticas. El método inmunturbidimétrico posee una ventaja potencial de rapidez, procesado en el coagulómetro utilizado para las pruebas de coagulación. La evaluación de un resultado positivo con esta prueba junto con un índice 4T alto, sugeriría la suspensión

de la heparina y el cambio de droga antitrombótica. Pero más importante, un resultado negativo permitiría evitar la utilización de terapias antitrombóticas alternativas, no siempre disponibles y económicamente accesibles, en los pacientes con sospecha clínica moderada o baja.

Marta E. Martinuzzo<sup>1,2</sup>, Luis H. Barrera<sup>1</sup>, María A. D'Adamo<sup>1</sup>, Juan C. Otaño<sup>1</sup>, Ricardo R. Forastiero<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Grupo Bioquímico, Laboratorio Central del Hospital Italiano de Buenos Aires, <sup>2</sup>Universidad Favaloro, Buenos Aires, Argentina  
e-mail:memartinuzzo@gmail.com

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. Warkentin T. How I diagnose HIT? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2011; 2011: 143-9.
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: 19-22.
5. 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 Coagul Fibrinolysis* 2011, 22: 340-4.