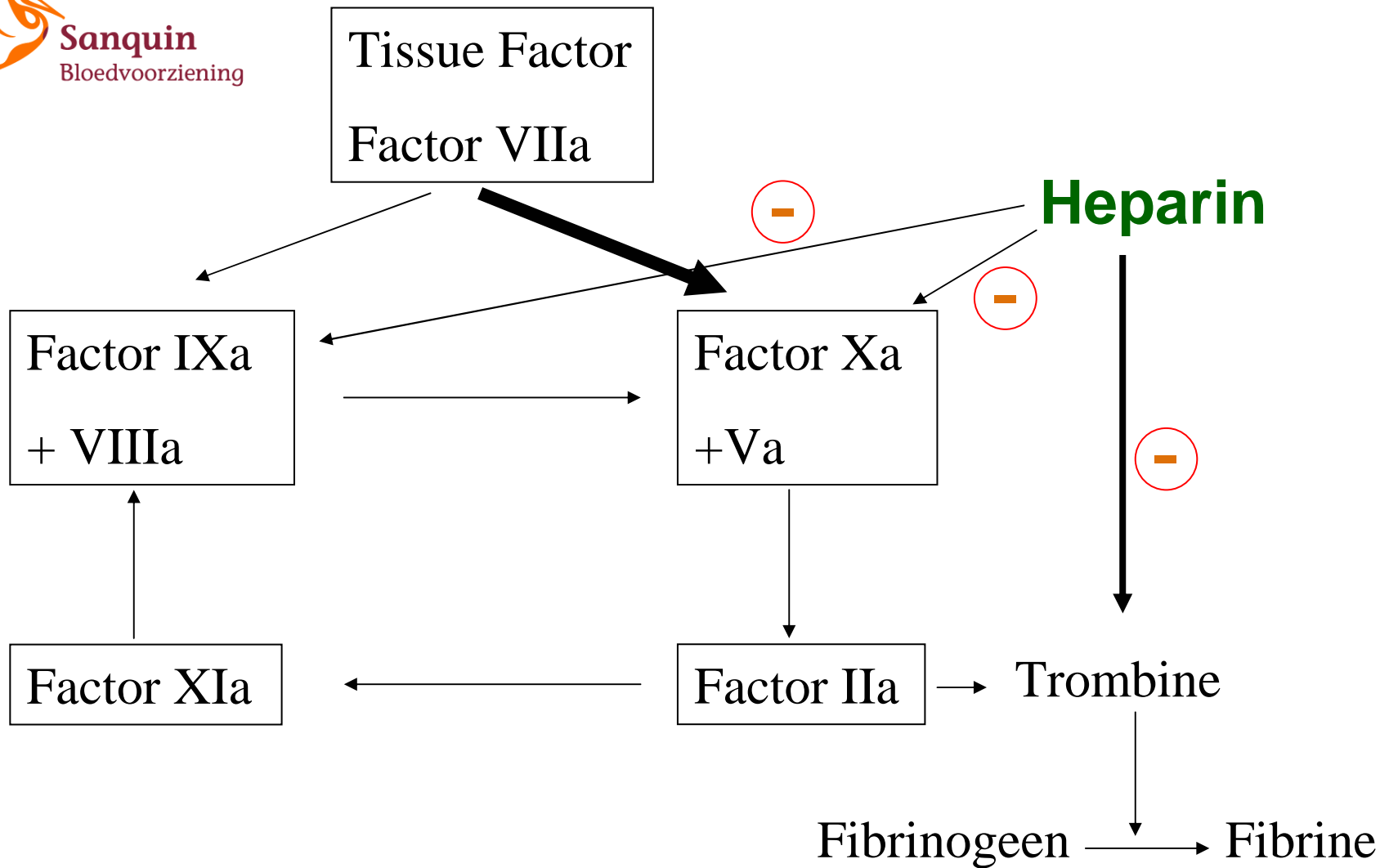


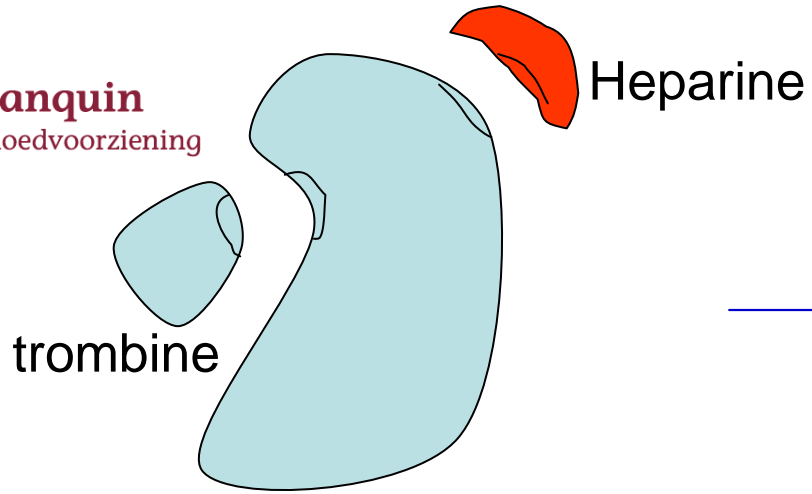
# Heparine geïnduceerde trombocytopenie

**Leendert Porcelijn**  
**Sanquin Diagnostiek**  
**Amsterdam**

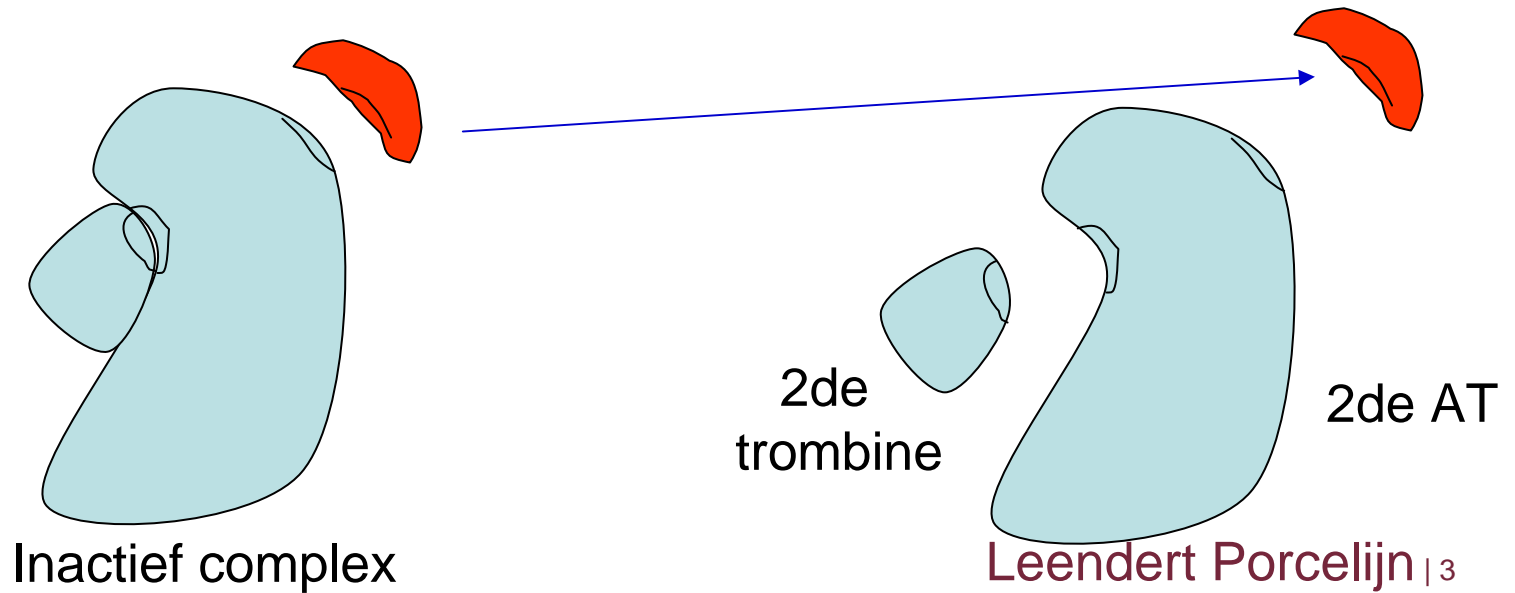




**Sanquin**  
Bloedvoorziening



Antitrombine (AT) 2000-4000 x actiever



Leendert Porcelijn | 3

## Ongefractioneerd Heparine



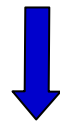
Hoge affiniteit voor AT

Lage affiniteit voor  
membraan structuren

Lage affiniteit voor AT

Hoge affiniteit voor  
membraan structuren

(b.v. PF4)



## Laag Moleculair Gewicht Heparine



# Heparine geïnduceerde Trombocytopenie

Type I

Geen antistoffen

Directe Heparin-plaatje interactie

- ▼ pro-aggregatie effect
- ▼ activerend effect

➡ Al na uren/dagen (lichte) trombocytopenie

## Type II (HITT)

Immuun gemedieerd (antistof afhankelijk)

Symptomen treden op **5-10** dagen na start heparine gebruik.  
Eerder als er reeds antistoffen zijn.

Verhoogde trombocyten afbraak waardoor **> 50% daling** van trombocyten  
aantal. (hoeft geen trombocytopenie te geven!)

**range 20-150 x 10E9/L (gemiddeld 50-80)**

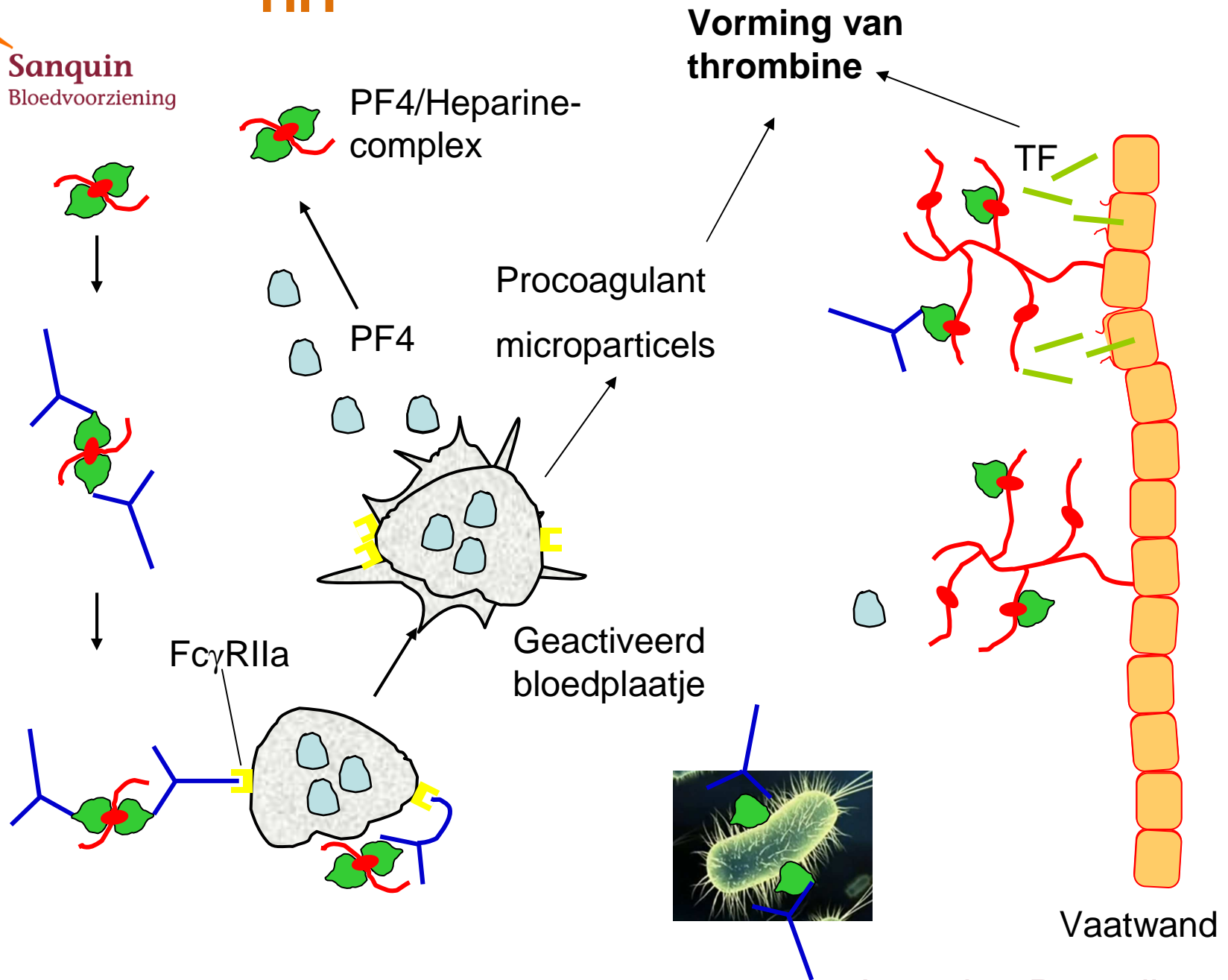
**< 20 x 10E9/L meestal geen HIT (of HIT + DIS)**

Thromboembolische complicaties (**± 50% na 30 dagen ?**)

Nieuwe thrombotische complicatie als eerste symptoom van HIT

Zeer zelden ernstige bloedingen

# HIT



## Incidentie:

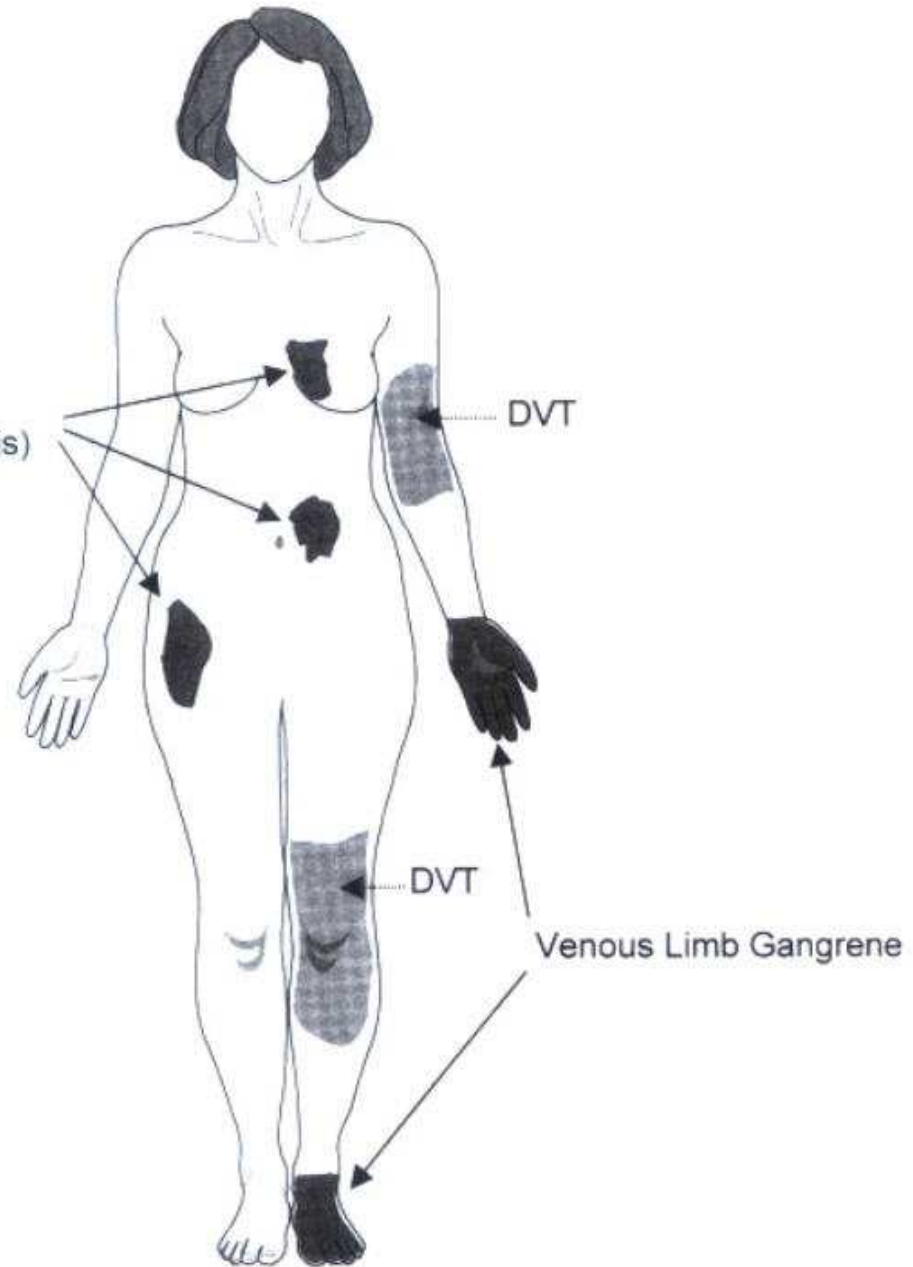
0,1-1% van met heparine behandelde patienten

Varieert afhankelijk van:

- ✓ de **soort** heparine: UFH >>> LMWH andere sulfated glycosaminoglycans
- ✓ de **klinische situatie**: major surgery > minor surgery > medical  
female > male
- ✓ de **duur** van het heparine gebruik: > 5 days >> 1-4 days



'Classic' CISN  
(Central Skin Necrosis)



25-30% trombose voor trombocytopenie:

CAVE

Heparine dosering omhoog is verkeerde actie

## Therapie/preventie trombo-embolische processen

- heparine stoppen
  - blijvende kans op trombose
- vervangen door alternatief anticoagulant
  - kostbaar
  - >> major bloedingen (kans  $\pm$  1%/dag)

-> snelle en goede HIT diagnostiek belangrijk

# 4 T's pretest probability HIT scoring

Warkentin 2003

Thrombocytopenia	> 50% fall or platelet nadir 20-100 x 10 <sup>9</sup> /L	2
	30-50% fall or platelet nadir 10-19 x 10 <sup>9</sup> /L	1
	fall <30% or platelet nadir <10 x 10 <sup>9</sup> /L	0
Timing	Clear onset between days 5 and 10 or less than 1 day (if heparin exposure within past 100 d)	2
	Consistent with immunisation but not clear (e.g. missing platelet counts) or onset after day 10	1
	Platelet count fall too early (without recent heparin exposure)	0
Thrombosis or other sequelae (e.g. skin lesions)	New thromb. Skin necr. Post hep. acute syst. reaction	2
	Progressive or recurrent thromb. Suspected thromb.	1
	None	0
Other causes	No other causes	2
	Possible other causes	1
	Definite other cause is present	0



Clinical feature	Score
<b>1. Magnitude of fall in platelet count (measured from peak platelet count to nadir platelet count since heparin exposure)</b>	
a. < 30%	-1
b. 30%–50%	1
c. > 50%	3
<b>2. Timing of fall in platelet count</b>	
<i>For patients in whom typical onset HIT is suspected</i>	
a. Fall begins < 4 days after heparin exposure	-2
b. Fall begins 4 days after heparin exposure	2
c. Fall begins 5–10 days after heparin exposure	3
d. Fall begins 11–14 days after heparin exposure	2
e. Fall begins > 14 days after heparin exposure	-1
<i>For patients with previous heparin exposure in last 100 days in whom rapid onset HIT is suspected</i>	
f. Fall begins < 48 h after heparin re-exposure	2
g. Fall begins > 48 h after heparin re-exposure	-1
<b>3. Nadir platelet count</b>	
a. $\leq 20 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$	-2
b. $> 20 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$	2
<b>4. Thrombosis (Select no more than one)</b>	
<i>For patients in whom typical onset HIT is suspected</i>	
a. New VTE or ATE $\geq 4$ days after heparin exposure	3
b. Progression of pre-existing VTE or ATE while receiving heparin	2
<i>For patients in whom rapid onset HIT is suspected</i>	
c. New VTE or ATE after heparin exposure	3
d. Progression of pre-existing VTE or ATE while receiving heparin	2
<b>5. Skin necrosis</b>	
a. Skin necrosis at subcutaneous heparin injection sites	3
<b>6. Acute systemic reaction</b>	
a. Acute systemic reaction after intravenous heparin bolus	2
<b>7. Bleeding</b>	
a. Presence of bleeding, petechiae or extensive bruising	-1
<b>8. Other causes of thrombocytopenia (Select all that apply)</b>	
a. Presence of a chronic thrombocytopenic disorder	-1
b. Newly initiated non-heparin medication known to cause thrombocytopenia	-2
c. Severe infection	-2
d. Severe DIC (defined as fibrinogen $< 100 \text{ mg dL}^{-1}$ and D-dimer $> 5.0 \mu\text{g mL}^{-1}$ )	-2
e. Indwelling intra-arterial device (e.g. IABP, VAD, ECMO)	-2
f. Cardiopulmonary bypass within previous 96 h	-1
g. No other apparent cause	3

VTE, venous thromboembolism; ATE, arterial thromboembolism; DIC, disseminated intravascular coagulation; IABP, intra-aortic balloon pump; VAD, ventricular assist device; ECMO, extracorporeal membrane oxygenation. | 12

## HIT laboratorium diagnostiek

- Immunoassays:

- hoge sensitiviteit
- differentiëren niet tussen pathogene antistoffen en klinisch irrelevante antistoffen (slechte specificiteit)
- IgG assays zijn wel specifiek dan Igtotaal assays

Maar slechts 50% van anti-PF4/heparine IgG antistoffen zijn in staat trombocyten te activeren.

- Inhibitie door hoge concentratie heparine

- verhoogd PPV (ELISA pos/kliniek neg: 34% uit te sluiten met inhibitie)
- werkt niet voor antistoffen met sterk activerende capaciteit

## Aantonen trombocyten activatie door antistoffen

- Functionele assays: **gouden standaard**
  - Heparin induced platelet activation assay (HIPAA)
  - Serotonin release assay (SRA)

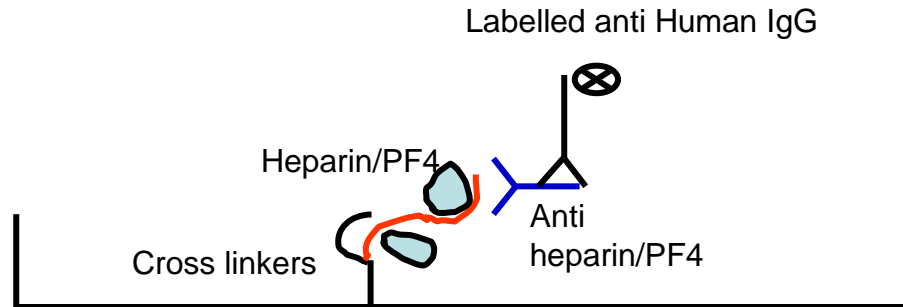
PPV verhoogd door:

inhibitie met hoge dosis heparine

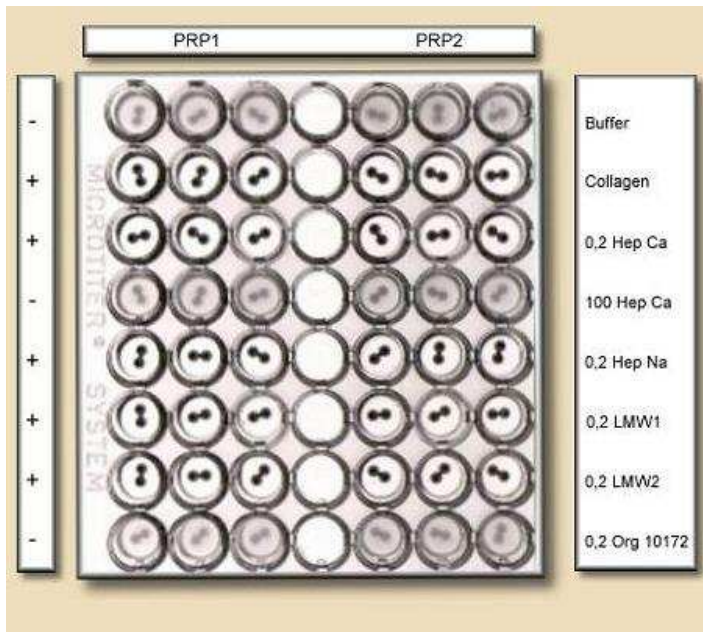
blokkering FcyRIIa met moab

Tonen ook heparine afh antistoffen tegen andere chemokines aan.

# Laboratorium technieken



Heparin/PF4 Elisa



Heparin Induced Platelet Activation Assay (HIPAA)

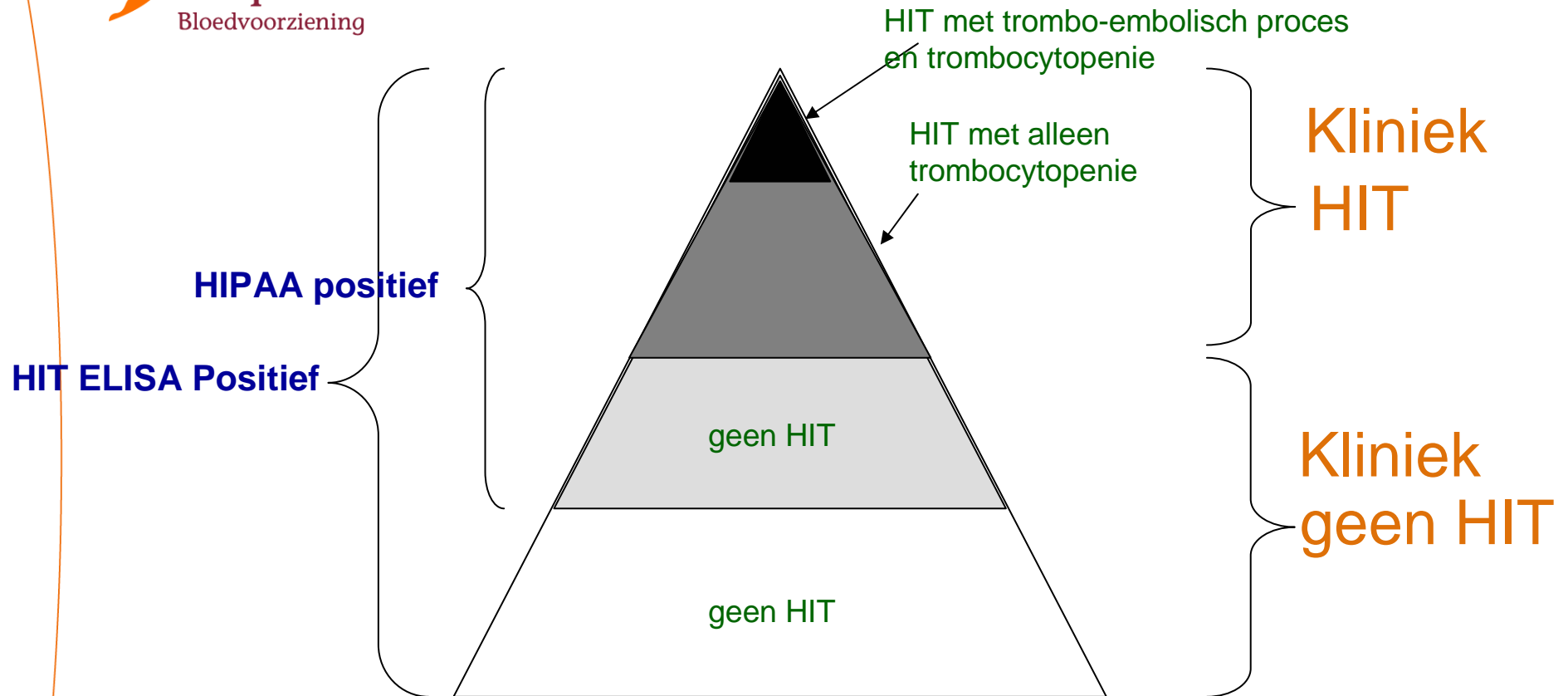
## Serotonine Release assay (SRA)

**De ELISA heeft een hoge sensitiviteit maar lage specificiteit.**

**De functionele tests (SRA en HIPAA) hebben een goede sensitiviteit en betere specificiteit.**

**Zie literatuur van Warkentin en Greinacher.**

# Piramide van patienten met antistoffen

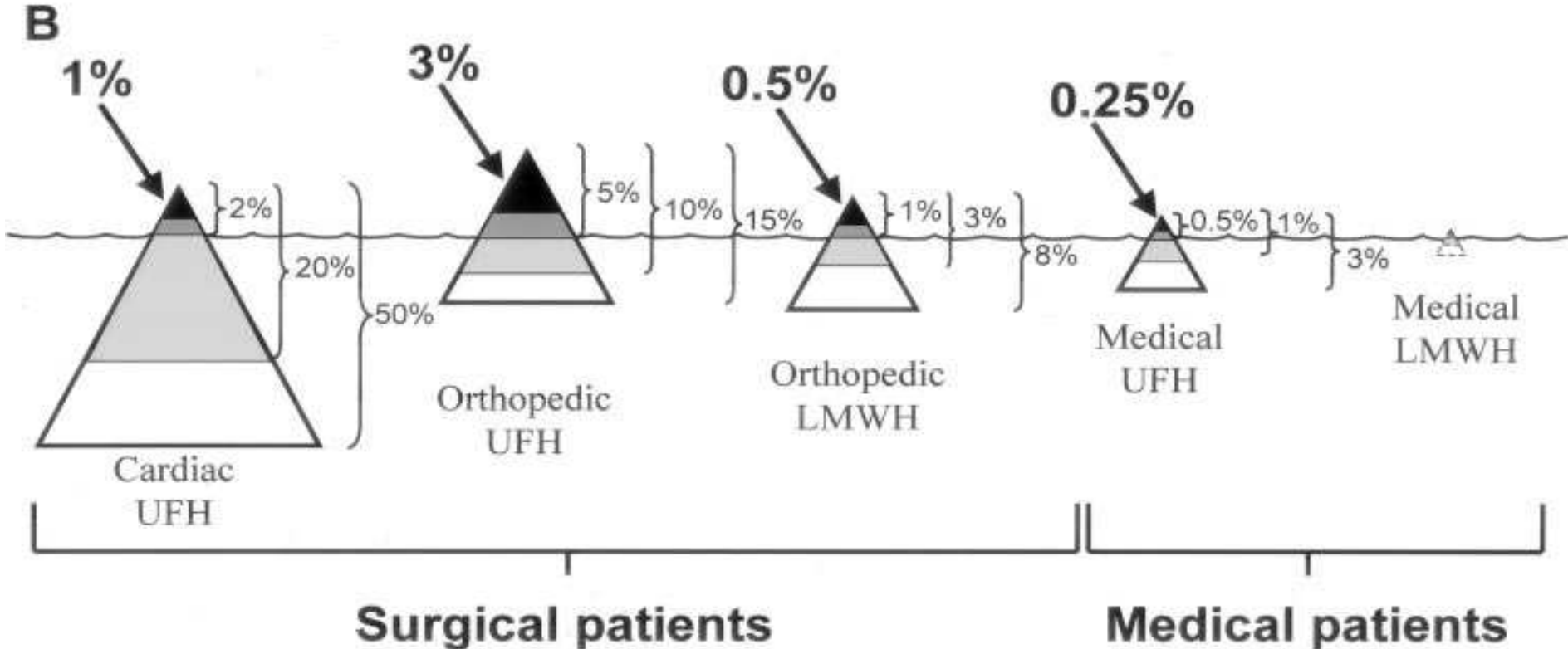
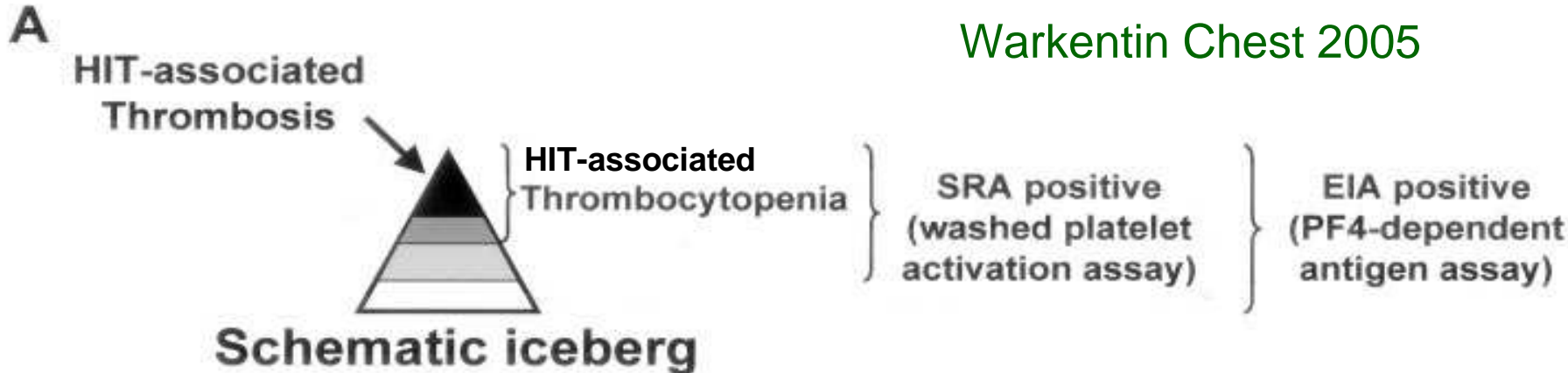


Uitleg voor volgende dia naar Warkentin et al.

In de groep van patienten met antistoffen is het noodzakelijk om ook een duidelijk klinisch HIT beeld te hebben (hoge of intermediaire 4T score).

**Wij hebben antistoffen aangetoond in 121/419 aanvragen in de ELISA en in 73/419 in de HIPAA. Kennelijk zijn er ook veel patienten met een klinische verdenking op HIT zonder antistoffen.**





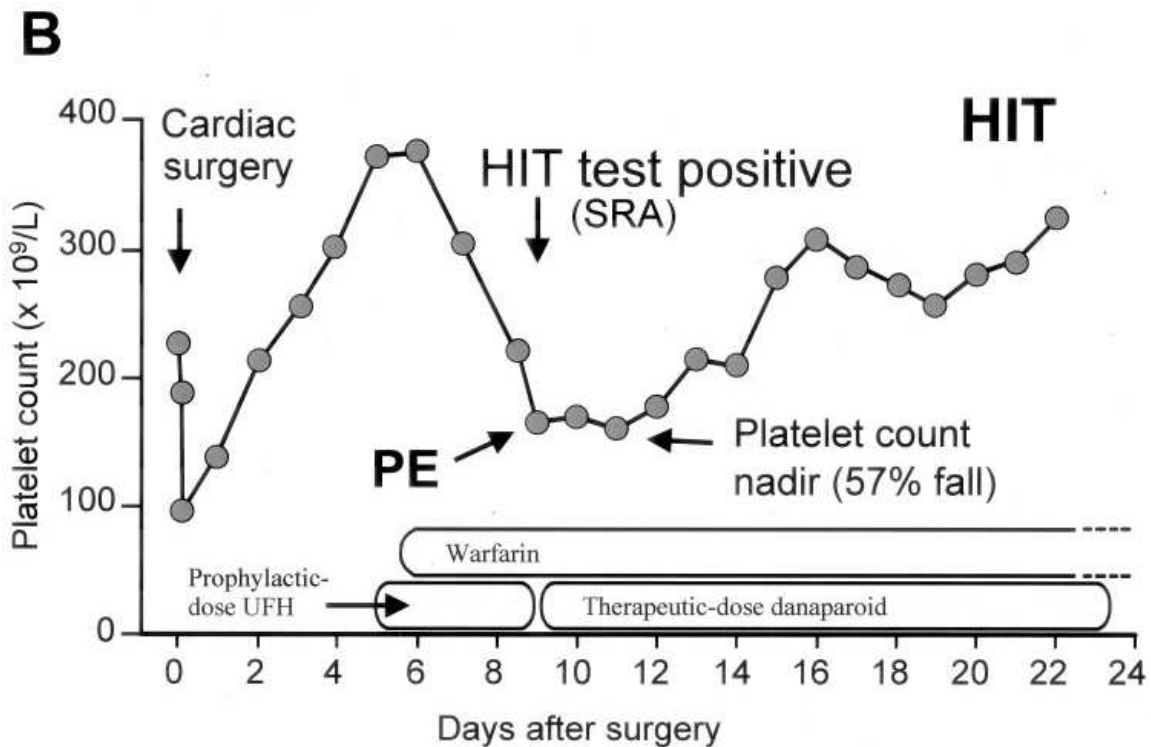
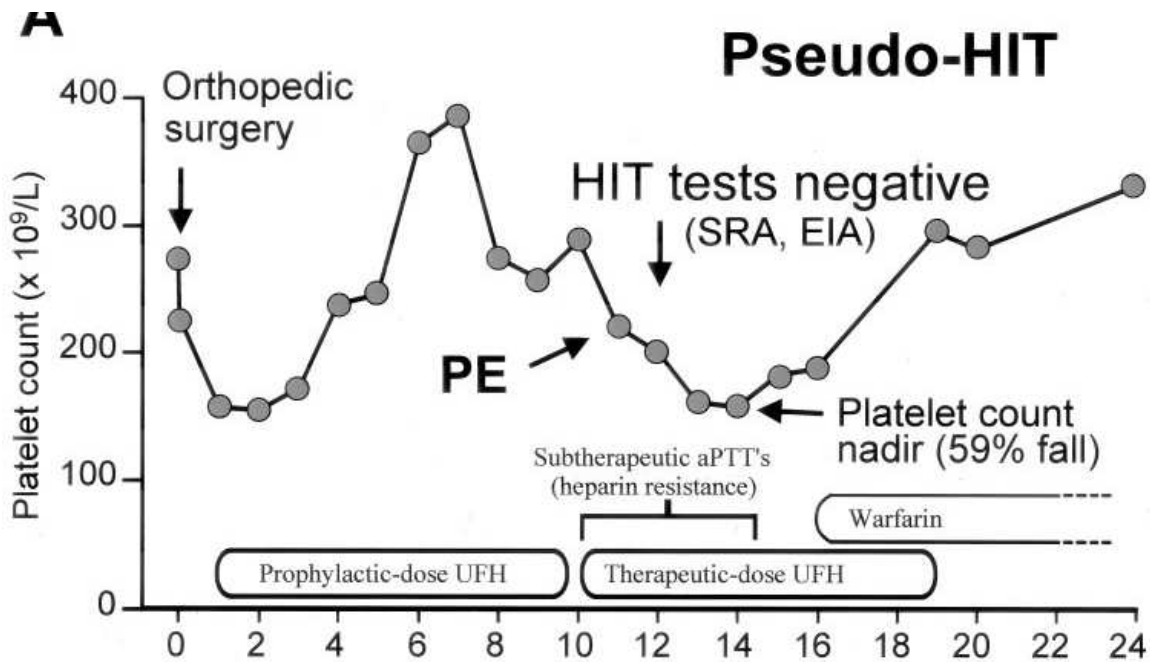
Er zijn dus patiënten die antistoffen hebben, maar waarvan de 4T score laag is. Dus geen HIT.

Er zijn ook patiënten die geen antistoffen hebben en waarvan de 4T score hoog of intermediair is.

Dus geen HIT (zie uitleg vorige dia en voorbeeld volgende dia).

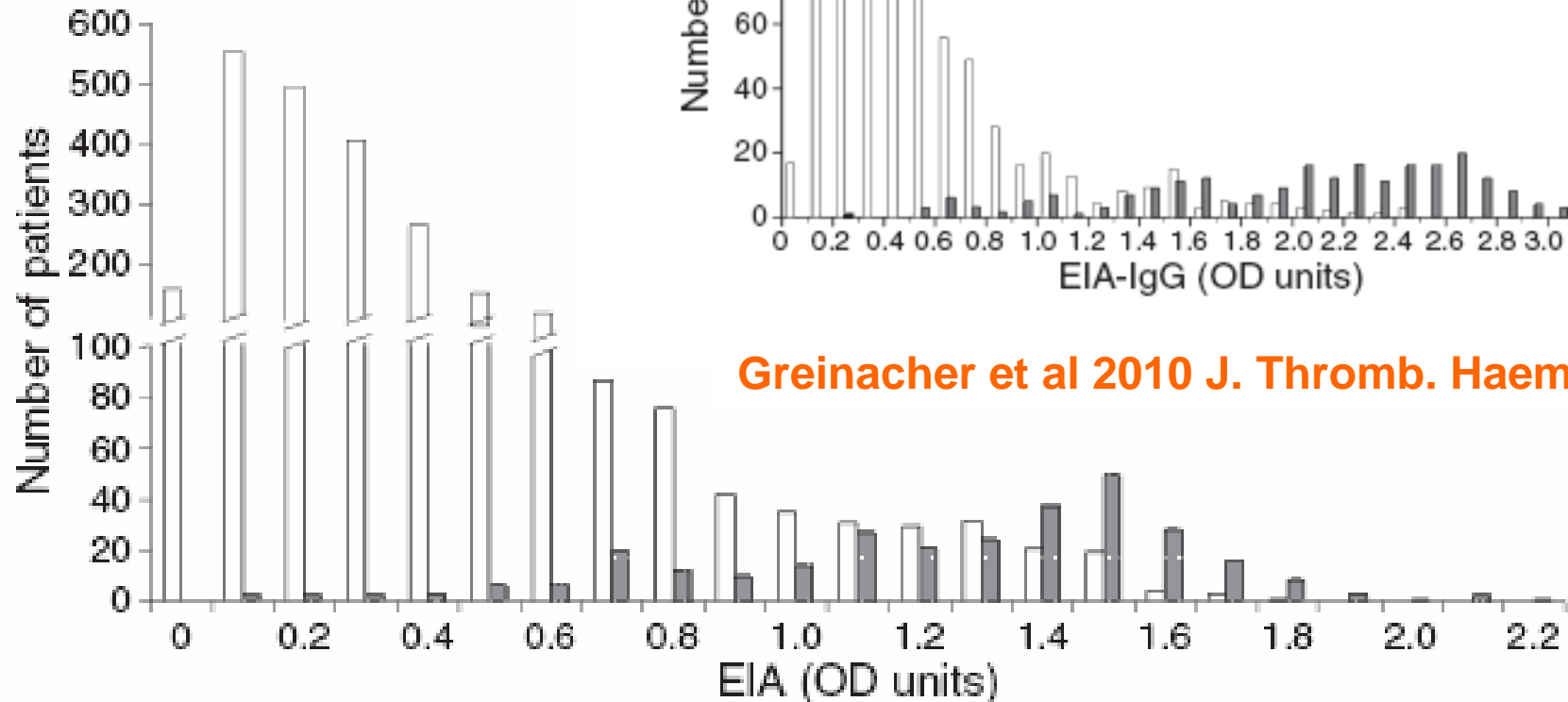
4T score hoog,  
maar HIT test  
negatief dus  
geen HIT

4T score hoog  
en HIT test  
positief, dus  
wel HIT



## HIT type II

□ HIPA negative  
▨ HIPA positive



Greinacher et al 2010 J. Thromb. Haem.

Heparin Induced Platelet Activation (HIPA) assay is veel specifieker dan PF4/Heparine ELISA. ELISA is wel sensitief. Beste om beide tests te doen.

## Wat zegt dit?

Alleen antistoffen aantonen is niet voldoende.

Dat blijkt uit de piramides van de vorige dia's

Alleen kliniek is niet voldoende.

Dat weten we uit de literatuur en dat zien wij in het laboratorium (73 van 419 HIT aanvragen vinden wij positief in de HIPAA).

Een positieve ELISA moet bevestigd worden in de SRA of de HIPAA. Daarom hebben wij de HIPAA in ons laboratorium geïntroduceerd en gevalideerd.

Wij hebben daarom onze HIPAA vergeleken met die van Greinacher in Greifswald.

	serum van patienten			
trombocyten	hep 0,2	hep 0,2	hep 100	FcRII MoAb
donor 1	10 min	10 min	neg	35
donor 2	15 min	15 min	neg	40
donor 3	10 min	10 min	neg	neg
donor 4	15 min	10 min	neg	neg

### Inzetschema HIPAA

Serum van patienten wordt met verse trombocyten suspensies van 4 verschillende donors ingezet met het serum van de patient en verschillende concentraties heparine.

Als er antistoffen in het serum van de patient aanwezig zijn, zien we aggregatie ontstaan binnen 40 minuten bij hep 0,2 concentraties (duplo kolom). De aggregatie vorming wordt geremd bij toevoegen van een overmaat aan heparine en bij toevoegen van een moab tegen FcRII op de trombocyten.

Er moet altijd getest worden met 4 verschillende donors omdat bekend is dat sommige donors minder goed aggregeren. De test is positief als minstens 3 van de 4 donors aggregeren binnen 40 minuten en de aggregatie wordt geremd met overmaat heparine.

## **Diagnostiek voor Heparine geïnduceerde trombocytopenie**

De diagnose Heparine geïnduceerde trombocytopenie (HIT) type II (antistof gemedieerd, hieronder HIT genoemd) wordt voornamelijk gesteld door interpretatie van de klinische gegevens. Hiervoor is het 4 T's model volgens Warkentin een goede richtlijn.

Door ons wordt zowel de heparine/PF4 ELISA als de Heparin Induced Platelet Activation Assay (HIPAA) verricht. Wij verrichten daarbij ook een antistofreactie inhibitie proef door het toevoegen van een overmaat aan heparine.

### **Interpretatie van de uitslagen:**

#### **ELISA negatief:**

Het is zeer onwaarschijnlijk dat er antistoffen tegen het heparine/PF4 complex aanwezig zijn. De klinische diagnose HIT wordt door deze uitslag niet ondersteund.

#### **ELISA positief (cut-off waarde $< E < 1,5$ ) en HIPAA negatief**

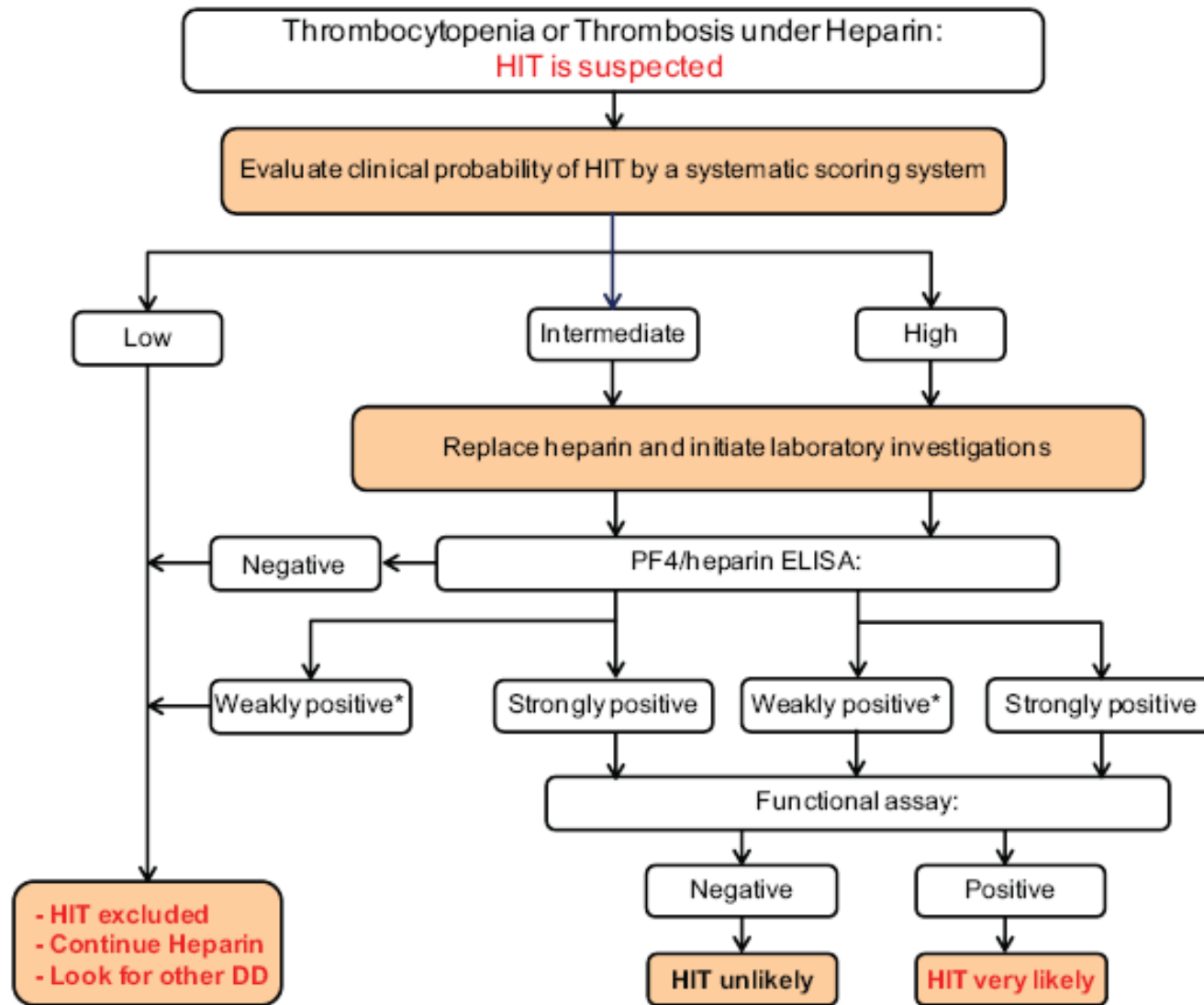
Een klinische diagnose HIT wordt door deze uitslag niet ondersteund. Het is bekend dat een ELISA Extinctie in deze range nogal eens fout positief is.

#### **ELISA sterk positief ( $E > 1,5$ ) en HIPAA negatief**

Ondanks de negatieve HIPAA uitslag, achten wij HIT niet uitgesloten en adviseren wij u bij blijvende verdenking op HIT de aanvraag te herhalen.

#### **ELISA positief en HIPAA positief**

De klinische diagnose HIT wordt door deze uitslag bevestigd.



**Figure 1.** A suggested approach to diagnosis and initial management of patients with suspected HIT. This approach to the diagnosis and initial management of patients with suspected HIT is based on clinical assessment supported by complementary laboratory investigations. Results of Immunoassays can be divided into negative, weakly positive (OD < 1.0) and strong positive (OD > 1.0). The decision whether weakly positive results need to be further verified using functional assays or not depends on the clinical probability. As indeterminate results may be occasionally obtained using laboratory tests, re-evaluating the clinical probability of HIT in an individual patient may be helpful to overcome some diagnostic uncertainty.