

Možnosti diagnostiky heparinem indukované trombocytopenie v České republice

J. Gumulec

Ústav klinické hematologie FN Ostrava, přednosta prim. MUDr. Jaromír Gumulec

Souhrn: Heparinem indukovaná trombocytopenie je protrombotický nežádoucí účinek vzniklý aktivací destiček protilátkami proti komplexu destičkový faktor 4 a heparin. Diagnostika spočívá v klinickém hodnocení pravděpodobnosti a v laboratorním vyšetřování. V tomto přehledném článku popisují některé přístupy k hodnocení pacientů s možnou heparinem indukovanou trombocytopenií. V závěru upozorňují na některé rezervy v diagnostice tohoto potenciálně fatálního onemocnění v ČR.

Klíčová slova: heparinem indukovaná trombocytopenie – heparin – diagnostické postupy – rychlé testování – imunologické testy – funkční testy

Diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia in the Czech Republic

Summary: Heparin-induced thrombocytopenia is a prothrombotic adverse effect induced by platelet-activating antibodies against complexes of platelet factor 4 and heparin. Diagnosis rests on a clinical assesment of disease probability and laboratory testing. In this review, I describe some approaches to the evaluation of patients with suspected heparin-induced thrombocytopenia. In conclusion I draw attention to some of the reserves in the diagnostic approaches to this potentially fatal disorder in the Czech Republic.

Key words: heparin-induced thrombocytopenia – heparin – diagnostic procedure – rapid testing – immunoassay – functional tests

Úvod

Heparinem indukovaná trombocytopenie (HIT) je život ohrožující, protilátkami podmíněný nežádoucí účinek heparinu, který se obvykle objevuje 5.–14. den od zahájení jeho aplikace. Zpravidla bývá navozený protilátkami imunoglobulinové třídy G (IgG) [1,2] namířenými proti komplexu destičkového faktoru 4 (PF4) s nefrakcionovaným heparinem (UFH) nebo nízkomolekulárním heparinem (LMWH) [3]. Výsledkem je aktivace destiček vedoucí ke generaci trombinu s rizikem vzniku trombotických komplikací [1,4]. Včasná diagnóza, přerušení podávání heparinu a zahájení antikoagulace alternativním neheparinovým antitrombotikem je nezbytné pro prevenci dalších komplikací [5,6].

Diagnóza HIT má být postavena na základě hodnocení klinického obrazu a detekce HIT protilátek schopných aktivace destiček [5]. HIT se typicky projevuje poklesem počtu krevních destiček o více než 50 % a často trombózou – nejčastěji žilní (HITT) vzniklou v době

rozvíjející se nebo již existující trombocytopenie – zpravidla 5.–14. den léčby UFH nebo LMWH [6–8]. Tíže trombocytopenie koreluje s rizikem trombotických komplikací [8]. Méně častými projevy HIT jsou kožní nekrózy v místě podkožní aplikaci heparinů, anafylaktoidní reakce (horečka, svědění, tachykardie, hypertenze, dušnost, kardiopulmonální zástava) po jejich nitrožilní, bolusové aplikaci a/nebo hemoragická nekróza nadledvin [6].

V případě opakovaného podání heparinů během jediného měsíce (spadicky až tří měsíců) se může symptomatologie HIT projevit dříve – třeba již 1. den opakované aplikace heparinů [8]. Uběhne-li ale od poslední aplikace některého z heparinů delší období (zpravidla 100 dní, medián 50 dní při stanovení funkčními testy s propriálními destičkami, resp. 80 dní při použití komerčních enzyme immunoassay – EIA) HIT protilátky obvykle klesnou na nedetekovatelný titer [9]. V těchto situacích po reexpozici hepa-

rinu (UFH nebo LMWH) trvá nejméně 5 dní, než začnou B-lymfocyty generovat protilátky nové [10]. Platí tedy, že se nové HIT protilátky po opakované expozici heparinů u těchto pacientů neobjevují ani rychleji ani častěji, protože v případě HIT neexistuje typická anamnestická odpověď proti komplexu PF4/heparin [9–11].

Pravidla diagnostiky HIT

Trombocytopenie je v každodenní klinické praxi velmi častý jev a má mnoho různých příčin. Pro standardizované hodnocení pravděpodobnosti, že aktuální trombocytopenie je projevem HIT nebo HITT, lze v klinické praxi používat 4Ts skórovací systém (tab. 1). Skóre 0–3 body znamená, že pravděpodobnost positivity laboratorních testů (resp. HIT) je nízká (0–1,6 %), že další testování není nutné a že heparin může být pacientovi podáván dále [8,12]. Skóre 4–5 bodů představuje střední (8–29 %) a skóre 6–8 bodů vysokou (21–100 %) pravděpodobnost HIT a je důvodem pro další la-

Tab. 1. 4Ts skórovací systém.

4Ts	2 body	1 bod	0 bodů
trombocytopenie	pokles počtu destiček o > 50 % a/nebo nadir destiček ≥ 20	pokles destiček 30–50 % nebo nadir destiček 10–19	pokles destiček < 30 % nebo nadir destiček < 10
dobu poklesu počtu destiček	zřejmá manifestace mezi 5.–10. dnem nebo pokles destiček ≤ 1 den (při aplikaci heparinu během předchozích 30 dní) [†]	pokles počtu destiček 5.–10. den, ale ne zřejmý (např. chybí stanovení destiček); rozvoj po 10 dnech; nebo pokles ≤ 1 den (při aplikaci heparinu před 30–100 dny)	pokles počtu destiček během < 4 dní bez anamnézy předchozí aplikace heparinu
trombóza nebo jiná komplikace	nová potvrzená trombóza; kožní nekróza [‡] ; akutní systémová reakce po i.v. aplikaci bolusu nefrakcionovaného heparinu	progresivní nebo opakovaná trombóza [¶] ; nenekrozující (erytematózní) kožní léze [§] ; suspektní trombóza (neověřená) ^{**}	není
jiná příčina trombocytopenie	není přítomna	je možná ^{††}	je zřejmá ^{††}

[†]Greifswald, Německo (GW): rozvoj ve dnech 5–14 (spíše než 5–10); pokles destiček během 1. dne (při podání heparinu v posledních 100 dnech).

[‡]GW: vznik po 14 dnech.

[§]Kožní nekróza v místě aplikace heparinu.

[¶]Progrese představuje objektivně dokumentovaný nárůst velikosti trombu (obvykle prodloužení hluboké trombózy podle ultrazvuku); rekurence představuje nově vzniklý tromboembolus v původně postižené oblasti (obvykle nový defekt perfuze u pacienta s předchozí plicní embolizací).

^{**}Dle GW suspektní, neověřená trombóza není v diagnostických kritériích obsažena.

^{††}Označení existence jiné příčiny trombocytopenie jako možné nebo jisté je na rozhodnutí ošetřujícího lékaře.

laboratorní testování [13]. Kombinace klinického hodnocení pomocí 4Ts systému a laboratorního testování HIT protilátek umožňuje vůbec nejcitlivější hodnocení pravděpodobnosti, že jde skutečně o HIT [14]. Kromě toho lze používat tzv. HEP (HIT Expert Probability) skórovací systém, který pravděpodobně umožní větší shodu mezi hodnotícími lékaři a lepší korelaci s výsledky laboratorního testování než skórovací systém 4Ts [15].

Laboratorní diagnostika HIT spočívá:

1. v průkazu protilátek navázaných na komplex PF4/heparin a
2. v průkazu na heparinu závislé aktivace krevních destiček pacientovým sérem (obsahujícím HIT protilátky).

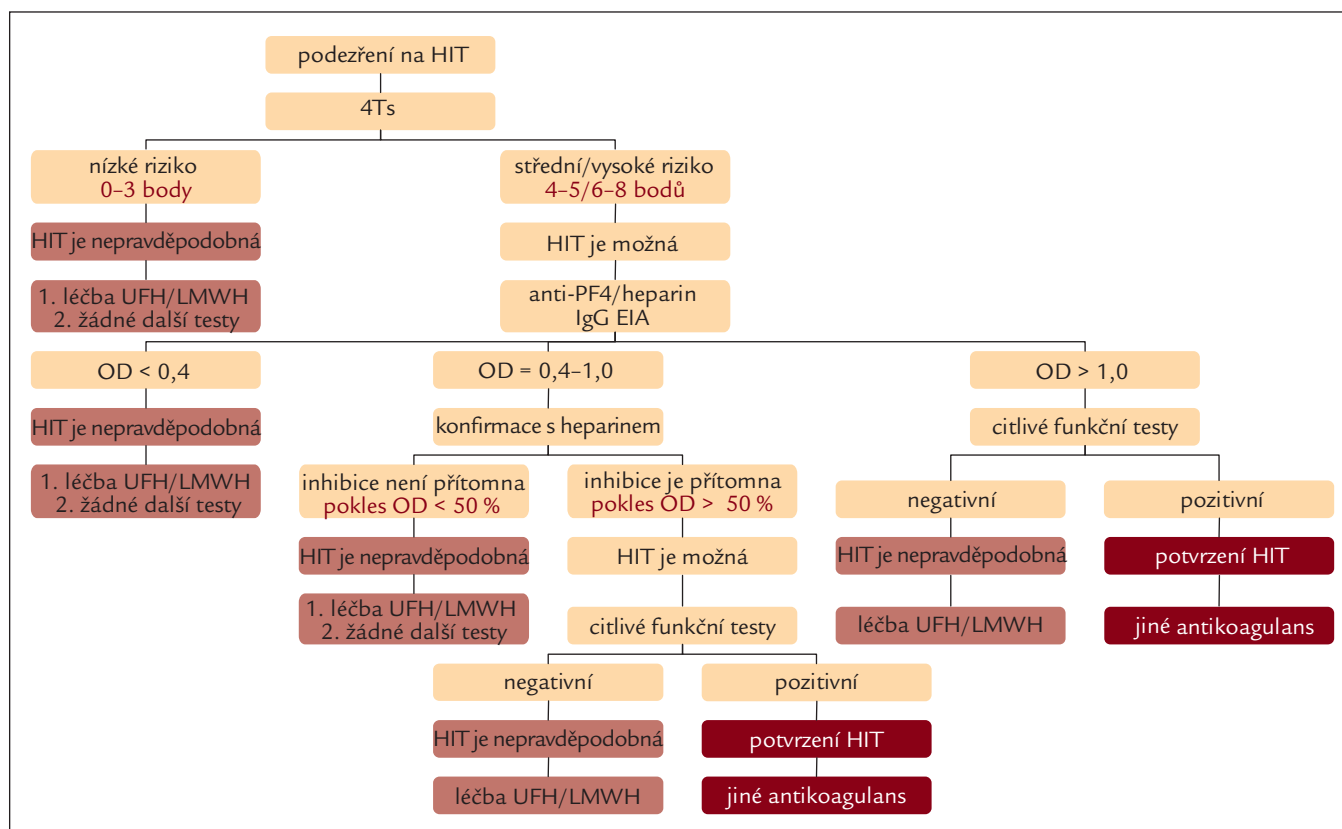
Klasické aktivační testy jsou Serotonin Release Assay (SRA) [16–19] a heparinem indukovaná aktivace destiček (HIPA) [20]. Citlivost těchto testů při zachytu klinicky významných protilátek je stejně vysoká (přibližně 99 %) jako citlivost polyspecifických IgG/A/M a IgG specifických EIA [3]. Tyto laboratorní testy proto mají vysokou negati-

vní prediktivní hodnotu a mohou být využívány k vyloučení HIT, je-li jejich výsledek spolehlivě negativní [8]. Diagnostická specifita pro HIT je nejvyšší u funkčních testů používajících propané destičky (95–99 %), u polyspecifických IgG/A/M EIA kolísá mezi asi 50 a 75 % a u IgG specifických EIA mezi asi 55 a 90 % [21]. Senzitivita rychlých gelových imunologických testů využívajících částice potažené komplexem PF4/heparin (Pa-GIA Diamed®) kolísá mezi zmiňovanými funkčními a imunologickými testy (asi 95–99 %) [14,22]. Kromě vysoké citlivosti je jejich výhodou relativně dobrá dostupnost a možnost mít výsledek během 1 hod [14]. Skutečnost, že tento test zachycuje kromě IgG – imunoglobulinová třída patognomická pro HIT [1,2] i klinicky nevýznamné IgA a IgM, snižuje jeho specifitu [21,23,24]. Konvenční test optické agregace destiček indukované heparinem podezřelým z rozvoje HIT má senzitivitu i specifitu pro detekci HIT protilátek omezenou [5,18,25].

Síla reakce EIA testů přímo koreluje s pravděpodobností HIT, takže

platí, že HIT je nejpravděpodobnější, je-li optická denzita (OD) nad 1,0 a nepravděpodobná při OD pod 0,4 [19,22,26–29]. Interpretace výsledku OD v rozmezí 0,4–1,0 je mnohem méně jasná a velmi závislá na výsledku klinického hodnocení. Výskyt falešné positivity výsledků EIA je nejvyšší při OD v tomto rozmezí a je navozena nepatognomickými IgM a IgA protilátkami (je-li pro testování použit set na polyspecifické IgG/A/M) nebo IgG protilátkami, které nejsou schopny aktivovat destičky [23]. S výhodou lze v této situaci využít konfirmační procedury u komerčně dostupných anti-PF4/heparin EIA (GTI PF4 Enhanced®) přidáním nadbytku heparinu (100 j./ml), který vede k inhibici tvorby komplexů protilátka-PF4/heparin, a tím zvyšuje specifitu testu. Výsledek EIA je považován za pozitivní, je-li OD bez nadbytku heparinu > 0,4 a inhibice heparinem je > 50 % [29,30].

V současnosti pravděpodobně nejcitlivějším a nejspecifičtějším diagnostickým postupem je algoritmus navržený Greinacherem (obr. 1) [8].



Obr. 1. Diagnostický algoritmus stanovení pravděpodobnosti HIT s využitím klinického hodnocení, IgG EIA a senzitivních funkčních testů.

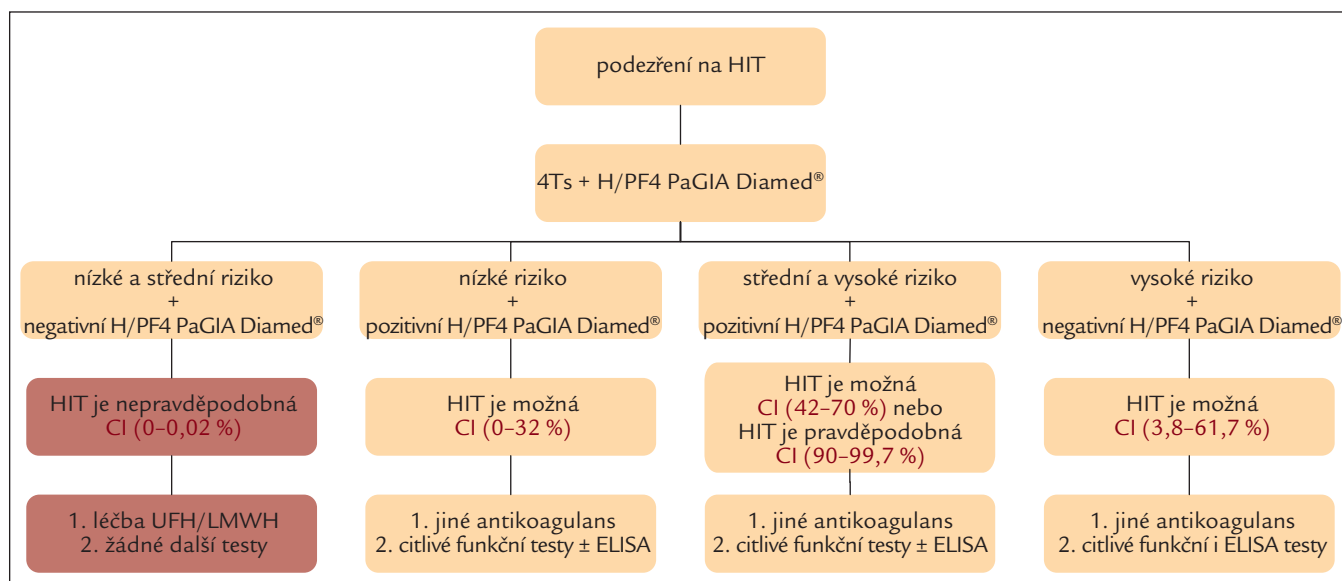
Podle tohoto algoritmu není nutné další laboratorní testy provádět u pacientů s nízkou pravděpodobností HIT (4Ts = 0–3, pravděpodobnost HIT 0–1,6 %). U pacientů se střední/vysokou pravděpodobností HIT (4Ts = 4–5/6–8) je HIT možná a je na místě doplnit senzitivní, IgG specifické EIA testy. Je-li EIA negativní (OD < 0,4), HIT je velmi nepravděpodobná a UFH/LMWH může být nadále podáván [8,19,26,27]. Je-li EIA slabě pozitivní (OD = 0,4–1,0), přítomné protilátky nejsou s nejvyšší pravděpodobností schopné aktivovat destičky. V této situaci je indikován konfirmační krok s přidáním heparinu. Není-li reaktivita protilátek přidáním heparinu inhibována (pokles iniciační hodnoty OD je < 50 %), HIT je velmi nepravděpodobná a léčba UFH nebo LMWH může probíhat dále. Je-li pokles OD ≥ 50 %, je indikováno provedení citlivých funkčních testů (SRA nebo HIPA). Je-li hodnota OD > 1,0, jde velmi pravděpodobně o protilátky schopné aktivovat destičky. To

je ale třeba potvrdit doplněním citlivých funkčních testů (SRA nebo HIPA). Pozitivní výsledek funkčních testů HIT definitivně potvrdí a v léčbě jsou indikovány alternativní antikoagulanty, je-li výsledek negativní, je možné vrátit se k terapii UFH nebo LMWH. Opakované klinické hodnocení má podpořit konečné potvrzení, nebo vyloučení diagnózy HIT. Protože EIA bývá pozitivní 5.–10. den léčby heparinem (tj. v době, kdy destičky začínají klesat) je nekonceptní automaticky opakovat testování pacientů s negativní vstupní EIA [9,11,31–33].

Diagnostický algoritmus dle Pouplarda et al má ve srovnání s uvedeným postupem výhodu lepší dostupnosti a rychlosti provedení s využitím skórovacího systému 4Ts a rychlého screeningového testování gelovou imunologickou metodou H/PF4 PaGIA Diamed® (obr. 2) [14].

Na rozdíl od předchozího přístupu je v Pouplardově algoritmu zařazeno screeningové laboratorní testování (s využitím gelového testu) i ve skupině pacientů

s nízkou pravděpodobností HIT dle 4Ts (přestože negativní prediktivní hodnota 4Ts byla u této skupiny pacientů 100 %). Podle tohoto doporučení není nutné další laboratorní testy provádět u pacientů s nízkou (4Ts = 0–3) ani střední (4Ts = 4–5) pravděpodobností HIT, pokud je výsledek H/PF4 PaGIA Diamed® negativní. Negativní prediktivní hodnota gelového testu je v obou těchto skupinách pacientů 100 %. HIT je tedy nepravděpodobná a heparin může být podáván dále. Pozitivní výsledek gelového testu ve všech třech skupinách znamená, že HIT je možná nebo pravděpodobná a definitivní potvrzení, nebo vyloučení umožní jedině citlivé funkční, event. i imunologické testy. Je-li výsledek H/PF4 PaGIA Diamed® negativní u pacientů s vysokým rizikem HIT (4Ts = 6–8), diagnóza HIT je stále pravděpodobná (asi 16 %), protože interval spolehlivosti je velmi široký – CI 95 % (3,8–61,7 %). Pro potvrzení HIT je nutné u těchto nemocných doplnit citlivější a specifitější funkční a imunologické testy [14].



Obr. 2. Diagnostický algoritmus stanovení pravděpodobnosti HIT s využitím klinického hodnocení 4Ts a rychlého laboratorního testu H/PF4 PaGIA Diamed®.

Návrh diagnostického algoritmu pro situace s omezenou dostupností specifických imunologických a/nebo funkčních testů

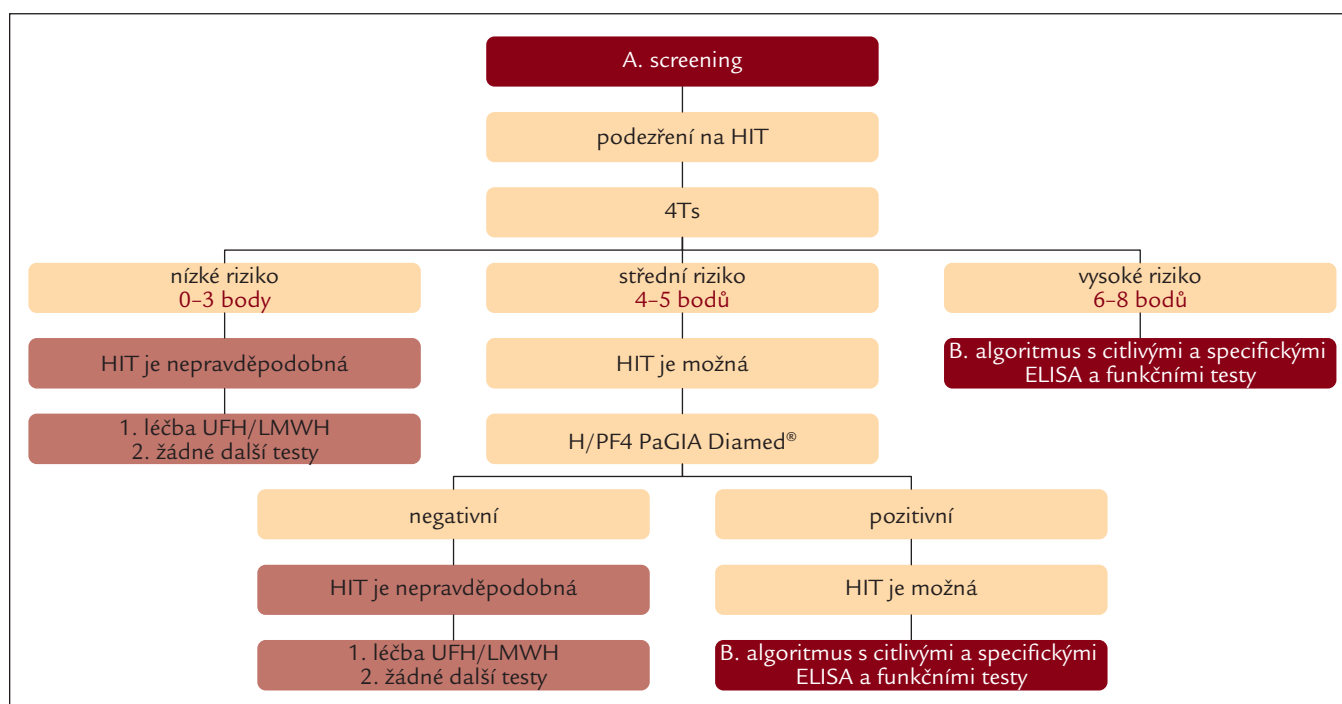
Kombinace obou přístupů může:

1. zlepšit dostupnost standardizovaného diagnostického algoritmu v každodenní klinické praxi,
2. snížit závislost na hůře dostupných specifických imunologických a funkčních testech,

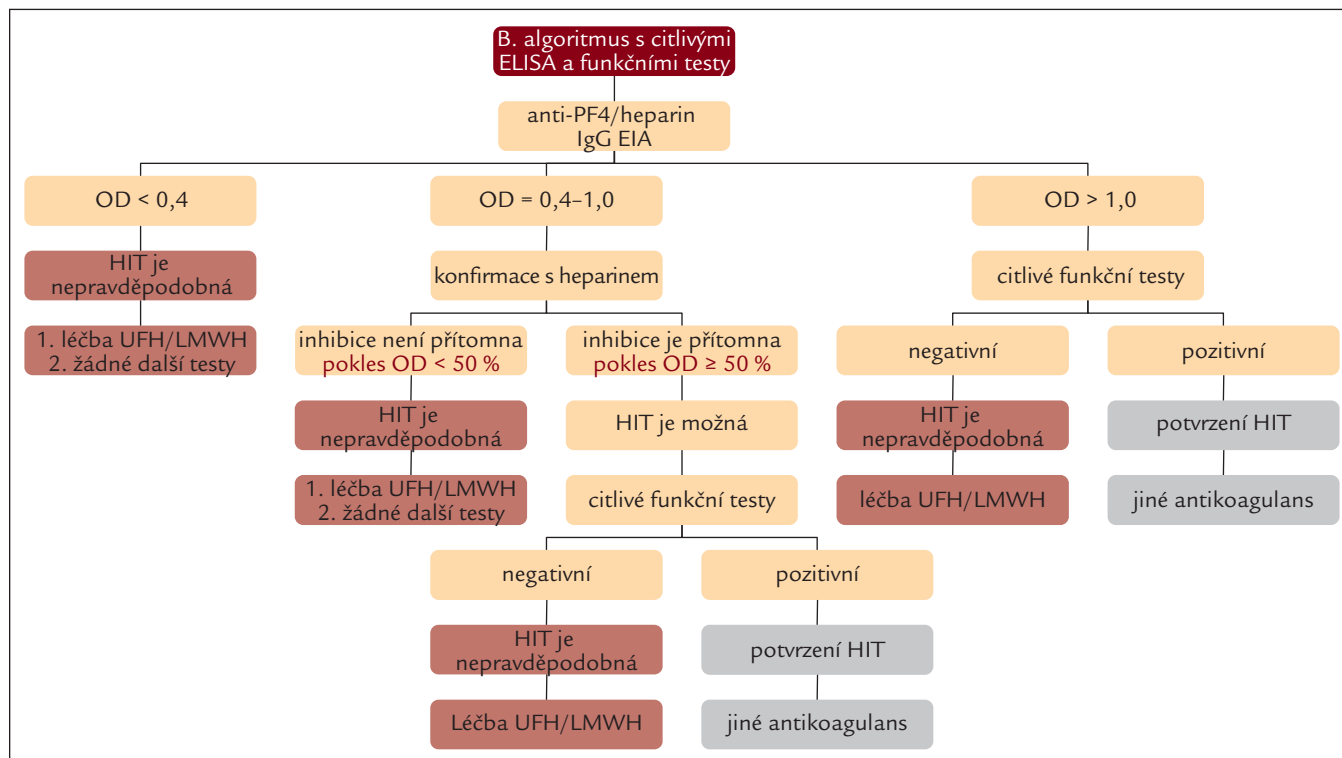
3. zkrátit dobu od vzniku podezření na HIT do doby jejího vyloučení,
4. omezit počet případů, kdy je nutno podávat alternativní antikoagulans, event. zkrátit dobu jeho přechodného podávání do doby definitivního vyloučení HIT a
5. snížit náklady (obr. 3 a 4).

Prvním krokem je klinické hodnocení dle 4Ts. Pacienti s nízkou pravděpodobností (0–3 body) HIT nemusí

být dále testováni žádným z testů, protože negativní prediktivní hodnota 4Ts je v této skupině pacientů velmi vysoká (asi 100 %) [12,14]. Podle různých zdrojů jde průměrně o 35 % pacientů s podezřením na HIT (záleží na zkušenostech s používáním skórovacího systému 4Ts, počet pacientů v této rizikové skupině kolísá mezi 23 a 64 %). Riziko HIT je v této skupině nízké (nejvýše 1,6 %), a proto je možné pokračovat v antikoagulační léčbě UFH nebo



Obr. 3. Diagnostický algoritmus kombinující oba přístupy – část A. screening.



Obr. 4. Diagnostický algoritmus kombinující oba přístupy – část B, s vysoce citlivými a specifickými imunologickými a funkčními testy.

LMWH (pro srovnání riziko krvácivých komplikací alternativní antikoagulace 10–20 %) [12,14].

U pacientů se střední pravděpodobností HIT (4–5 bodů, celkem asi 54 % pacientů s podezřením na HIT, kolísá mezi 28 a 60 %) [12,14] je HIT možná a přínosné je provedení dobře dostupného a rychlého laboratorního testování s využitím H/PF4 PaGIA Diamed® [14]. Negativní výsledek testu snižuje pravděpodobnost HIT z 10,9 na 0,6 %, HIT je tedy v případě negativního testu nepravděpodobná a v terapii UFH nebo LMWH lze pokračovat bez dalšího laboratorního testování [14]. Pozitivní výsledek gelového testu zvyšuje pravděpodobnost HIT z 1,9 na 58,2 % [14] a pro potvrzení, nebo vyloučení HIT je nutné provedení vysoce senzitivních a specifických imunologických a funkčních testů (obr. 4). Rozhodnutí o tom, lze-li po stanovení střední pravděpodobnosti HIT dle 4Ts léčbu UFH nebo LMWH pouze pozastavit nebo je nutné ji přerušit a nahradit alternativním antikoagulans, závisí:

1. na konkrétní klinické situaci,

2. na dostupnosti výsledku screeningového testu (H/PF4 PaGIA Diamed®) a
3. v případě pozitivního výsledku screeningového testu na dostupnosti výsledků specifických imunologických a funkčních testů.

U pacientů s vysokou pravděpodobností HIT dle klinického hodnocení (6–8 bodů, celkem asi 11 % pacientů s podezřením na HIT, kolísá mezi 5 a 18 %) [12,14] nepřináší provádění screeningového gelového testu žádnou výhodu, protože i při negativním výsledku je pravděpodobnost HIT významná – 16 %, CI 95 % (3,8–61,7 %) [14]. Pro vyloučení, nebo potvrzení HIT je tedy vždy nutné provést specifické imunologické a funkční testy. Vzhledem k míře rizika a omezené dostupnosti výsledků zmiňovaných imunologických a funkčních testů bude až na naprosté výjimky nutné přerušit léčbu UFH nebo LMWH a nahradit ji léčbou alternativním antikoagulans.

Část B diagnostického algoritmu kopíruje doporučení Greinachera [8] (podrobný komentář viz výše) s tím roz-

dílem, že „šetří“ indikaci hůře dostupných specifických anti-PF4/heparin EIA IgG a funkčních testů SRA nebo HIPA ve skupině pacientů ve středním riziku HIT s negativním výsledkem screeningového gelového testu (asi 81 % pacientů středního rizika) [14].

Nové testy pro diagnostiku HIT dostupné v ČR

Stic Expert® HIT (Stago) je rychlý imunologický test určený pro kvalitativní detekci protilátek třídy IgG proti komplexům PF4/polyanion v lidském séru. Ve spojení s klinickým hodnocením pravděpodobnosti pomocí 4Ts je negativní prediktivní hodnota 100 % a díky specifickému zachytu pouze IgG protilátek (bez IgA, resp. IgM) je specifita testu 93 %. Výsledek může být dostupný za méně než 12 min [34]. Ve srovnání s rychlým gelovým testem H/PF4 PaGIA Diamed® má výhodu větší specifity (zachycuje pouze IgG protilátky) a použití není limitováno na uživatele systému gelové centrifugace pro screening nepravidelných erytrocytárních protilátek. Vysoká specifita a dobrá dostupnost testu může

příspět ke snížení počtu falešně pozitivních výsledků a zbytečnému převádění pacientů z UFH/LMWH na alternativní antikoagulant [35].

Asserachrom® HPIA – IgG (Stago) je imunologický test (ELISA) detekující protilátky třídy IgG proti komplexu PF4/heparin na povrchu mikrotitračních destiček. Podle výrobce je senzitivita testu 100 %, negativní prediktivní hodnota 100 % a specifita 92,7 %. Z příbalového letáku ani z dostupné literatury není jasné, je-li u tohoto testu možný, event. v klinické studii nebo klinické praxi vyzkoušený konfirmační krok s inhibicí vazby protilátek na komplex PF4/heparin za přítomnosti nadbytku heparinu.

Zimutest HIA MonoStrip IgG (Diagnostica) je imunologický test (ELISA) určený pro stanovení heparin dependentních protilátek třídy IgG v lidské plazmě. Pokud je požadováno, mohou být pozitivní vzorky potvrzeny inhibováním vazby protilátek PF4/heparin za přítomnosti heparinu. Vazba heparin dependentních protilátek na destičku je v prostředí s nadbytkem heparinu inhibována (pokles OD ≥ 50 %) ve většině případů. Podle přímého srovnání testu s IgG anti-PF4/heparin EIA (GTI PF4 Enhanced®) je negativní prediktivní hodnota obou testů 100 %, implementace konfirmačního kroku s nadbytkem heparinu zvyšuje pozitivní prediktivní hodnotu obou testů, vede však ke snížení negativní prediktivní hodnoty testu HIA MonoStrip IgG [36]. Specifita testu je 90 % [37].

Heparinem indukovaná agregace destiček – impendanční vyšetření vzorku plné krve na přístroji Multiplate je funkční test, modifikace známého testu optické agregometrie. Z dostupné literatury vyplývá srovnatelná senzitivita a specifita se SRA [38,39], výsledky je však třeba ověřit dalšími studiemi.

Rezervy v diagnostice HIT v ČR

Podle vlastních zkušeností z pracovišť, na kterých jsem působil, vidím následující rezervy v diagnostice he-

parinem indukované trombocytopenie v ČR:

- Nejspíše kvůli stále přetrvávajícímu rezervovanému přístupu k nejrušnějším skórovacím schémátům není v klinické praxi rutinně využíván žádný standardizovaný systém klinického hodnocení (ani 4Ts, ani HEP skóre). S tím souvisí limity ve standardizaci indikace laboratorního testování.
- Z rychlých imunologických testů byl podle mých informací v klinické praxi dostupný jen H/PF4 PaGIA Dia-med®, a to jen na několika málo pracovištích využívajících systém gelové centrifugace v imunohematologii.
- Vysoce citlivé a monospecifické IgG ELISA testy byly donedávna omezeně dostupné a teprve nyní se nabídka zvětšuje. Konfirmační krok s nadbytkem heparinu neprovádí podle mých informací rutinně žádné pracoviště v ČR.
- Z funkčních testů je nejlépe dostupný test heparinem indukované agregace destiček s využitím optické agregometrie, jen na některých pracovištích jsou při diagnostice využívány citlivé destičky od vybraného dárce. Teprve nyní s rozšiřující se dostupností přístroje Multiplate se začíná používat impendanční agregometrie.
- Vysoce senzitivní funkční testy typu SRA a HIPA jsou dle mých informací v ČR velmi špatně dostupné, a proto většinou pracovišť nevyužívány.
- V ČR neexistuje doporučený postup diagnostiky (a terapie) HIT.
- V ČR neexistuje ani referenční laboratoř pro HIT ani systém externí kontroly kvality, resp. systém mezilaboratorního srovnávání.
- V ČR neexistuje registr pacientů s HIT.

Závěr

Heparinem indukovaná trombocytopenie je život ohrožující imunologický nežádoucí účinek terapie hepariny. Pro diagnostiku je třeba zhodnotit klinickou pravděpodobnost HIT, podle které lze stanovit strategii la-

boratorní diagnostiky (imunologické a funkční testy). Přestože jde o závažnou nežádoucí reakci velmi často podávaného léku, existuje v klinické praxi v ČR podle mého názoru příliš mnoho rezerv v její diagnostice. Tato skutečnost je daná řadou objektivních důvodů. Lze předpokládat, že nové a lépe dostupné diagnostické možnosti přispějí k odstranění některých z těchto limitů. S ohledem na nízký výskyt HIT však nelze očekávat významné zlepšení péče o pacienty s HIT bez vytvoření sítě kooperujících pracovišť soustředěných kolem referenčního centra. Vytvoření databáze pacientů a banky vzorků séra a/nebo plazmy by pak umožnilo další vývoj v této oblasti (systém mezilaboratorního srovnávání, testování nových diagnostických/terapeutických postupů, vědecké aktivity apod.).

Literatura

1. Kelton JG, Sheridan D, Santos A et al. Heparin-induced thrombocytopenia: laboratory studies. *Blood* 1988; 72: 925–930.
2. Lindhoff-Last E, Nakov R, Misselwitz F et al. Incidence and clinical relevance of heparin-induced antibodies in patients with deep vein thrombosis treated with unfractionated or low-molecular-weight heparin. *Br J Haematol* 2002; 118: 1137–1142.
3. Greinacher A, Juhl D, Strobel U et al. Heparin-induced thrombocytopenia: a prospective study on the incidence, platelet-activating capacity and clinical significance of antiplatelet factor 4/heparin antibodies of the IgG, IgM, and IgA classes. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 1666–1673.
4. Chong BH, Murray B, Berndt MC et al. Plasma P-selectin is increased in thrombotic consumptive platelet disorders. *Blood* 1994; 83: 1535–1541.
5. Warkentin TE, Chong BH, Greinacher A. Heparin-induced thrombocytopenia: towards consensus. *Thromb Haemost* 1998; 79: 1–7.
6. Warkentin TE, Greinacher A, Koster A et al. American College of Chest Physicians. Treatment and prevention of heparin-induced thrombocytopenia: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th ed.). *Chest* 2008; 133 (6 Suppl): 340S–380S.
7. Arepally GM, Ortel TL. Clinical practice. Heparin-induced thrombocytopenia. *N Engl J Med* 2006; 355: 809–817.
8. Greinacher A. Heparin-induced thrombocytopenia. *J Thromb Haemost* 2009; 7 (Suppl 1): 9–12.
9. Warkentin TE, Kelton JG. Temporal aspects of heparin-induced thrombocytopenia. *N Engl J Med* 2001; 344: 1286–1292.
10. Greinacher A, Kohlmann T, Strobel U et al. The temporal profile of the anti-PF4/heparin immune response. *Blood* 2009; 113: 4970–4976.

11. Lubenow N, Kempf R, Eichner A et al. Heparin-induced thrombocytopenia: temporal pattern of thrombocytopenia in relation to initial use or reexposure to heparin. *Chest* 2002; 122: 37–42.
12. Lo G K, Juhl D, Warkentin TE et al. Evaluation of pretest clinical score (4 T's) for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia in two clinical settings. *J Thromb Haemost* 2006; 4: 759–765.
13. Warkentin TE. Heparin-induced thrombocytopenia: pathogenesis and management. *Br J Haematol* 2003; 121: 535–555.
14. Pouplard C, Gueret P, Fouassier M et al. Prospective evaluation of the '4Ts' score and particle gel immunoassay specific to heparin/PF4 for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 1373–1379.
15. Cuker A, Arepally G, Crowther MA et al. The HIT Expert Probability (HEP) Score: a novel pre-test probability model for heparin-induced thrombocytopenia based on broad expert opinion. *J Thromb Haemost* 2010; 8: 2642–2650.
16. Sheridan D, Carter C, Kelton JG. A diagnostic test for heparin-induced thrombocytopenia. *Blood* 1986; 67: 27–30.
17. Pouplard C, Amiral J, Borg JY et al. Differences in specificity of heparin-dependent antibodies developed in heparin-induced thrombocytopenia and consequences on cross-reactivity with danaparoid sodium. *Br J Haematol* 1997; 99: 273–280.
18. Pouplard C, Amiral J, Borg JY et al. Decision analysis for use of platelet aggregation test, carbon 14-serotonin release assay, and heparin-platelet factor 4 enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *Am J Clin Pathol* 1999; 111: 700–706.
19. Schenk S, El-Banayosy A, Morshuis M et al. IgG classification of anti-PF4/heparin antibodies to identify patients with heparin-induced thrombocytopenia during mechanical circulatory support. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 235–241.
20. Greinacher A, Michels I, Kiefel V et al. A rapid and sensitive test for diagnosing heparin-associated thrombocytopenia. *Thromb Haemost* 1991; 66: 734–736.
21. Warkentin TE, Sheppard JA, Moore JC et al. Laboratory testing for the antibodies that cause heparin-induced thrombocytopenia: how much class do we need? *J Lab Clin Med* 2005; 146: 341–346.
22. Alberio L, Kimmerle S, Baumann A et al. Rapid determination of anti-heparin/platelet factor 4 antibody titers in the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *Am J Med* 2003; 114: 528–536.
23. Juhl D, Eichler P, Lubenow N et al. Incidence and clinical significance of anti-PF4/heparin antibodies of the IgG, IgM, and IgA class in 755 consecutive patient samples referred for diagnostic testing for heparin-induced thrombocytopenia. *Eur J Haematol* 2006; 76: 420–426.
24. Warkentin TE. New approaches to the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *Chest* 2005; 127 (2 Suppl): 35S–45S.
25. Warkentin TE. Platelet count monitoring and laboratory testing for heparin-induced thrombocytopenia. *Arch Pathol Lab Med* 2002; 126: 1415–1423.
26. Shaheed G, Malkovska V, Mendoza J et al. PF4 ENHANCED assay for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia in complex medical and surgical patients. *Crit Care Med* 2007; 35: 1691–1695.
27. Zwicker JL, Uhl L, Huang WY et al. Thrombosis and ELISA optical density values in hospitalized patients with heparin-induced thrombocytopenia. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 2133–2137.
28. Warkentin TE, Sheppard JI, Moore JC et al. Quantitative interpretation of optical density measurements using PF4-dependent enzyme-immunoassays. *J Thromb Haemost* 2008; 6: 1304–1312.
29. Whitlatch NL, Perry SL, Ortel TL. Anti-heparin/platelet factor 4 antibody optical density values and the confirmatory procedure in the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *Thromb Haemost* 2008; 100: 678–684.
30. Warkentin TE, Sheppard JI. No significant improvement in diagnostic specificity of an anti-PF4/polyanion immunoassay with use of high heparin confirmatory procedure. *J Thromb Haemost* 2006; 4: 281–282.
31. Warkentin TE, Levine MN, Hirsh J et al. Heparin-induced thrombocytopenia in patients treated with low-molecular-weight heparin or unfractionated heparin. *N Engl J Med* 1995; 332: 1330–1335.
32. Warkentin TE, Sheppard JA, Moore JC et al. Studies of the immune response in heparin-induced thrombocytopenia. *Blood* 2009; 113: 4963–4969.
33. Warkentin TE, Roberts RS, Hirsh J et al. An improved definition of immune heparin-induced thrombocytopenia in postoperative orthopedic patients. *Arch Intern Med* 2003; 163: 2518–2524.
34. Sachs UJ, von Hesberg J, Santoso S et al. Evaluation of a new nanoparticle-based lateral-flow immunoassay for the exclusion of heparin-induced thrombocytopenia (HIT). *Thromb Haemost* 2011; 106: 1197–1202.
35. Cuker A. Heparin-induced thrombocytopenia (HIT) in 2011: an epidemic of overdiagnosis. *Thromb Haemost* 2011; 106: 993–994.
36. Bakchoul T, Giptner A, Bein G et al. Performance characteristics of two commercially available IgG-specific immunoassays in the assessment of heparin-induced thrombocytopenia (HIT). *Thromb Res* 2011; 127: 345–348.
37. Pouplard C, Leroux D, Regina S et al. Effectiveness of a new immunoassay for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia and improved specificity when detecting IgG antibodies. *Thromb Haemost* 2010; 103: 145–150.
38. Morel-Kopp MC, Aboud M, Tan CW et al. Whole blood impedance aggregometry detects heparin-induced thrombocytopenia antibodies. *Thromb Res* 2010; 125: e234–e239.
39. Morel-Kopp MC, Tan CW, Brighton TA et al. ASTH Clinical Trials Group. Validation of whole blood impedance aggregometry as a new diagnostic tool for HIT: results of a large Australian study. *Thromb Haemost* 2012; 107: 575–583.

prim. MUDr. Jaromír Gumulec

www.fno.cz

e-mail: jaromir.gumulec@fno.cz

Doručeno do redakce: 21. 5. 2012