

Tópicos especiales en la enfermedad tromboembólica venosa -  
Trombocitopenia inducida por heparina y trombosis

Special issues in venous thromboembolic disease -  
Heparin-induced thrombocytopenia and thrombosis

## Actualización en el diagnóstico de HIT

Update on HIT diagnosis

Martinuzzo M

*Grupo Bioquímico, Laboratorio Central del Hospital Italiano de Buenos Aires,  
Instituto Universitario del Hospital Italiano de Buenos Aires, Universidad Favaloro*

memartinuzzo@gmail.com



III CURSO  
EDUCACIONAL  
DE LA ISTH.  
EDUCACIONAL III

HEMATOLOGÍA  
Volumen 20 • Número Extraordinario  
XII Congreso del Grupo CAHT: 258-266  
Septiembre 2016

**Palabras clave:** trombocitopenia inducida por heparina,  
anti factor plaquetario 4  
pruebas diagnósticas HIT.

**Keywords:** Heparin induced thrombocytopenia,  
anti platelet factor/heparin antibodies,  
HIT diagnostic tests.

### Introducción

La trombocitopenia inducida por heparina (HIT) conocida como tipo II es una entidad clínicamente relevante. Es considerado un estado protrombótico mediado por la activación plaquetaria, leucocitaria y endotelial producida por la interacción de anticuerpos contra el complejo macromolecular que forma el factor plaquetario 4 (PF4) y HEP<sup>(1)</sup>. En general, la trombocitopenia es leve o moderada, con cifras mayores a  $50 \times 10^9/l$ , y no se asocia a manifestaciones hemorrágicas sino, paradójicamente, a trombóticas. Entre el 20 y el 40% de los pacientes que desarrollan trombocitopenia pueden desarrollar complicaciones trombóticas<sup>(2)</sup>. Las más frecuentes son las venosas, aunque pueden ser arteriales, como la amnesia global transitoria o la isquemia en miembros inferiores. Las complicaciones trombóticas pueden ser mórbidas e incluso condicionar la amputación del miembro afectado.

Los anti PF4/HEP generan descenso del recuento plaquetario e incremento de la generación de trombina debido a su capacidad para activar plaquetas, monocitos y células endoteliales. Estos complejos inmunes pueden ser muy grandes y contener numerosas moléculas de IgG que se unen a través de los FC al receptor FC $\gamma$ II plaquetario. Por ende, el mecanismo de la trombocitopenia se explica por la activación intravascular. Estos complejos no sólo son capaces de activar las plaquetas sino también células endoteliales, monocitos y neutrófilos, profundizando el fenotipo protrombótico<sup>(3-5)</sup>.

Además del tipo de HEP (UFH o LMWH), otros factores como tipo de cirugía, trauma, tiempo desde

la primera dosis de la droga, índice de masa corporal, sexo o situaciones fisiológicas como el embarazo, serían responsables no sólo de la inmunogenicidad sino también del desarrollo de trombocitopenia y trombosis en estos pacientes.

Las plaquetas descienden entre el día 5 y 14, frecuentemente no antes del día 4, de haber comenzado la terapia con HEP profiláctica o terapéutica en la gran mayoría de los pacientes. Este período sólo puede verse acortado hasta a 1 día si el paciente recibió heparina en el mes (raramente 3 meses) previos. Es mucho menos frecuente ver reacciones del tipo anafilactoide, o lesiones en piel e incluso, recientemente, se ha cuestionado la inclusión de estas lesiones en piel dentro de las manifestaciones de HIT y se consideran reacciones de hipersensibilidad retardada. En el caso de la trombocitopenia desarrollada post *by pass* cardiopulmonar (CPB), el paciente puede salir de la cirugía trombocitopénica, recuperar la cifra plaquetaria en el post quirúrgico y descender nuevamente después del día 4, o que no recupere el recuento de plaquetas en más de 4 días<sup>(2,6-8)</sup>.

Los anti PF4/HEP reconocen epitopes sobre PF4 cuando éste forma complejos con HEP u otros polisacáridos sulfatados. Estos complejos son multimoleculares y producen un acercamiento de los tetrameros indispensables para la formación del epitopes lineares que, según su tamaño, cantidad y estabilidad son capaces de ser inmunogénicos de manera decreciente: UFH >> LMWH >>> fondaparinux<sup>(9)</sup>. El patrón inmunobiológico de los anticuerpos generados en HIT es particular: se generan altos títulos de IgG entre los días 4-10 de la exposición a HEP, éstos no persisten en el tiempo y decaen entre los 50-100 días de la recuperación del recuento plaquetario. El hecho de que los anticuerpos que se forman son IgG y no IgM, sumado a que en modelos animales se demostró que la respuesta es dependiente de linfocitos T, sugiere que el sistema inmune habría tenido contacto con epitopes de PF4/HEP previamente. La hipótesis es que complejos formando *clusters* de PF4 con moléculas cargadas negativamente, no HEP, hayan desarrollado una respuesta de linfocitos B, T dependiente. Tardíamente en la vida, la formación de nuevos complejos y *clusters* en un paciente con elevado nivel de PF4 circulante (trauma o cirugía) y con activación concomitante del sistema inflamatorio, activaría temporalmente a las células B, generando la producción de anticuerpos<sup>(10)</sup>.

### ¿A quién estudiar con pruebas de laboratorio para evaluar la presencia de HIT?

Las manifestaciones clínicas de HIT son trombocitopenia y, en algunos casos, trombosis. Éstas se presentan en el contexto de múltiples condiciones clínicas frecuentes, por lo que el diagnóstico de laboratorio es esencial para su confirmación y decisión de suspensión del tratamiento con HEP. Dado que la única prueba considerada patrón oro no puede ser practicable en todos los laboratorios en la práctica clínica diaria, y que las que detectan anticuerpos suelen ser altamente sensibles pero poco específicas, se ha desarrollado hace varios años un puntaje clínico *pretest* (4T *score*) de manera de seleccionar para estudio aquellos pacientes con mayor probabilidad clínica de HIT<sup>(11)</sup>. El T4 *score* toma en cuenta (**Tabla 1**) el recuento plaquetario mínimo que alcanza el paciente, el desarrollo de nuevas manifestaciones trombóticas o el empeoramiento de las existentes, el tiempo al que se desarrolla la trombocitopenia y la existencia de otra causa que justifique la misma. Ha sido validado y determina: riesgo alto  $\geq 6$ , intermedio 4-5, bajo  $\leq 3$ . A éste se sumó un puntaje adicional para pacientes que sufrieron *by pass* cardiopulmonar, aunque no ha sido validado prospectivamente, y más recientemente, un nuevo puntaje denominado "*HIT experts probability score*" o HEP-*score* que parece ser sensible y específico logrando mayor concordancia entre los médicos que lo utilizan<sup>(12)</sup>. Se utiliza menos debido, además, a la mayor complejidad del mismo (**Tabla 2**). Cuando el HEP-*score* presentó un valor de 2 el valor predictivo negativo fue de 100% con un valor predictivo positivo muy bajo de 24%, mientras que un valor de 5 presentó un valor predictivo negativo de 97%, con un valor predictivo positivo de 55% y con una razón de riesgo (*likelihood ratio*) de 7.25.

### Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico debe confirmarse con la demostración de la presencia de los anticuerpos anti PF4/HEP para lo cual se han desarrollado métodos funcionales e inmunológicos.

**Tabla 1.** 4T Puntaje para evaluar probabilidad de la presencia de una HIT

4Ts	2 puntos	1 punto	0 punto
Trombocitopenia	Caída >50% y nadir plaquetario > 20000/ml	Caída entre el 30-50% o nadir plaquetario entre 10-20000/ml	Caída <30% o nadir plaquetario < 10000/ml
Tiempo de disminución de Rto plaquetario	Disminución entre día 5-10, o ≤ 1 día si hubo exposición a la heparina los 30 días previos	Compatible con día 5-10 pero no claro (por ej faltan recuentos intermedios), o después del día 10, o caída ≤ 1 día si hubo exposición entre 30 y 100 días previos	Caída en < 4 días sin exposición reciente a la heparina
Trombosis u otras secuelas	Nueva trombosis confirmada, Necrosis de piel, reacción aguda sistémica post HNF endovenosa (bolo)	Progresiva o recurrente. Reacciones de piel no necrotizantes (eritematosas), trombosis sospechada no probada.	No
Otras causas de trombocitopenia	No aparente	Posible	Definitiva

Riesgo: bajo <3, intermedio 4-5, alto 6-8

**Tabla 2.** “HIT experts probability score” o HEP- score

Característica clínica	Puntaje
<b>1- Magnitud del descenso plaquetario</b> (desde el pico hasta nadir desde la exposición a heparina)	
< 30%	-1
30-50%	1
> 50 %	2
<b>2- Tiempo del descenso plaquetario</b>	
A- comienza a < 4 días de la exposición a heparina	-2
B- comienza a los 4 días de la exposición a heparina	2
C- comienza a los 5-10 días de la exposición a heparina	3
D- comienza a los 10-14 días de la exposición a heparina	2
E- comienza a > 14 días de la exposición a heparina	-1
Para aquéllos que recibieron heparina en los 100 días previos y se sospecha rápido comienzo de HIT	
A- comienza a < 48 horas de la exposición a heparina	2
B- comienza a > 48 horas de la exposición a heparina	-1
<b>3- Nadir de plaquetas</b>	
≤ 20 x 10 <sup>9</sup> /l	-2
> 20 x 10 <sup>9</sup> /l	2
<b>4-Trombosis (seleccionar solo 1 opción)</b>	
Para pacientes con presentación de HIT habitual	
A- nueva TEV o TA comienza a ≥ 4 días de la exposición a heparina	3
B- progresión de una trombosis previa durante la exposición a heparina	2

Para pacientes que recibieron heparina en los 100 días previos	
A- nueva TEV o TA después de la exposición a heparina	3
B- progresión de una trombosis previa después de la exposición a heparina	2
<b>5- Necrosis de piel</b> en el área de inyección subcutánea de heparina	-1
<b>6- Reacción sistémica aguda</b> después del bolo intravenoso de heparina	2
<b>7- Sangrado: presencia de sangrado leve o extenso, petequias</b>	-1
<b>8- Otra causa de trombocitopenia (considerar todas las que apliquen en el paciente)</b>	
A- presencia de un desorden trombocitopénico crónico	-1
B- inicio de una medicación que se conoce que produce trombocitopenia	-2
C- infección severa	-2
D- CID (definida como fibrinógeno < 100mg/dL y DD > 5mg/mL)	-2
E- utilización de dispositivos intra arteriales como: balón de contra pulsación, dispositivos de asistencia ventricular, membrana de oxigenación extracorpórea	-2
F- CPB dentro de las 96 horas previas	-1
G- ausencia de causa aparente	1

### Métodos funcionales

#### Liberación de serotonina

En esta técnica las plaquetas de donantes normales (idealmente 3) son incubadas con <sup>14</sup>C-serotonina para que la misma sea incorporada a los gránulos densos. Luego las plaquetas son lavadas y enfrentadas con el suero inactivado o el plasma del paciente en presencia de HEP 0,1 ó 100 UI/ml, con agitación. Se centrifuga la suspensión plaquetaria y se mide la radioactividad en el sobrenadante comparándose con la radioactividad de la suspensión plaquetaria sin activar. Se calcula entonces el % de liberación de serotonina. La prueba es considerada positiva cuando la liberación es > 20% con Hep 0,5 y > 20% con HEP 100 UI/ml. Es la prueba funcional más sensible<sup>(13)</sup>, motivo por el cual se ha considerado que los porcentajes de liberación > 50% son los más significativos de HIT, ya que se asocian al desarrollo de trombocitopenia y de complicaciones trombóticas. Es considerada como una prueba de referencia (patrón oro) pero su desventaja es que no es aplicable a la clínica diaria. Requiere un laboratorio de complejidad habilitado para el uso de radioisótopos, además de ser una técnica laboriosa, es necesario personal adiestrado y autorizado para el manejo de radioisótopos y tiempo de procesamiento prolongado.

#### Agregación inducida por heparina

Se basa en la capacidad que poseen los anticuerpos anti PF4/HEP de reaccionar con los respectivos complejos antigénicos cuando son formados en presencia de HEP. Al poner en contacto plaquetas normales con suero o plasma del paciente y HEP, los complejos antígeno-anticuerpo provocan activación y agregación plaquetaria<sup>(10)</sup>, que se mide por el método de Born. Requiere plaquetas de al menos 3 donantes sanos, plasma rico o plaquetas lavadas de los mismos, y plasma pobre en plaquetas de los donantes. Además, se requiere suero inactivado (a 56° C, 30 min) o plasma citratado del paciente, previa suspensión de la administración de HEP por lo menos 6 horas antes de la toma de muestra. Las plaquetas de donantes sanos en presencia de suero inactivado o plasma del paciente después del agregado de heparina no fraccionada a 0.5 UI/mL, provocan una agregación de al menos 20% en una corrida de 20 min en presencia de anticuerpos anti PF4/HEP IgG a título alto. La agregación no debe observarse cuando en lugar de 0.5 se utiliza una concentración de heparina de 100 UI/mL, dado que los complejos macromoleculares de PF4/HEP se redisuelven. De esta manera, el *criterio de positividad* es agregación plaquetaria > 20% dentro de los 20 minutos de iniciada la reacción con 0,5 UI/ml de HEP y 0% con HEP 100 UI/ml.

Esta técnica es accesible para el laboratorio de ru-

tina y presenta alta especificidad (>90%). Detecta anticuerpos dirigidos contra el complejo FP4/heparina u otros antígenos involucrados. En caso de agregación plaquetaria positiva en ausencia de heparina, puede suponerse un estado de hiperagregabilidad de las plaquetas del donante o la presencia de sustancias con capacidad agregante en el suero del paciente (como ocurre por ejemplo en el caso de la púrpura trombocitopénica trombótica, o cuando existe actividad trombínica residual en el suero). La sensibilidad de este método varía entre 30 y 80%, dependiendo de los donantes de plaquetas. Por ello, se aconseja usar 3 donantes diferentes o seleccionar donantes respondedores para poder utilizar en el momento de realizar la prueba. Estas diferencias podrían deberse al polimorfismo del receptor FcγIIa Arg 131 G/G de las plaquetas que determinaría distinta reactividad con las subclases de IgG. El método de agregación utilizando plaquetas lavadas ha demostrado tener mayor sensibilidad debido a que se eliminan las inmunoglobulinas del donante que en altas concentraciones pueden inhibir la agregación.

Existe una técnica de agregación en sangre entera (anticoagulada con hirudina en lugar de citrato) de donantes respondedores son estimulados con HEP a 0,5 o 100 USP/ml en presencia de plasma pobre o suero inactivado del paciente. La agregación es registrada en un agregómetro de impedancia y se mide el área bajo la curva (UCA), siendo el criterio de positividad una UCA > 50 U arbitrarias y la ausencia de agregación o inhibición del 80% del valor de UCA a 0,5 y 100 U/ml de HEP respectivamente. Esta técnica presentó buena sensibilidad y especificidad<sup>(14)</sup>.

El hecho de que una prueba funcional sea positiva con HEP 100UI/ml, es decir que no inhiba suficientemente la agregación observada con 0,5UI/ml, es considerado como un resultado indeterminado, pero no se considera negativo.

Existe un método de activación plaquetaria inducida por HEP que utiliza plaquetas lavadas de 4 donantes en presencia de suero inactivado del paciente y HEP 0,5 y 100 UI/ml. Se realiza en una microplaca y se monitorea la activación por observación macroscópica o por lectura de la densidad óptica (OD)<sup>(15)</sup>. Se describe como muy sensible y específica pero no ha sido reproducida por otros laboratorios.

## Técnicas inmunológicas

### Anticuerpos anti PF4/HEP (ELISA)

Los anticuerpos anti FP4/HEP se producen en > 95% de los casos de HIT y pueden también reaccionar con complejos formados por FP4 y LMWH u otros polisacáridos sulfatados. Son predominantemente inmunoglobulinas de isotipo G, pero también se las ha hallado de isotipo A o M, siendo los de isotipo IgG los clínicamente importantes. Sólo una fracción de los anticuerpos generados son capaces de activar plaquetas. Se han detectado en proporciones variables en pacientes que recibieron HEP y no desarrollaron HIT. Existen ensayos en donde el antígeno pegado en la placa está formado por un complejo PF4/HEP y otros en los que es PF4/Polivinil sulfonato (PF4/PVS) como polianión. En general se utiliza suero, pero también pueden medirse en plasma citratado. En cada corrida analítica se debe incluir plasmas de control positivo y negativo, además del plasma de referencia, ya sea como calibrador único o una curva de calibración. Debe verificarse que los plasmas de control sean efectivamente negativo y positivo, respectivamente, de lo contrario los resultados de las muestras no pueden ser evaluados. Se aconseja suspender la administración de HEP antes de tomar la muestra, pues no puede descartarse que la misma produzca disociación de los complejos y se obtengan resultados aberrantes.

Se han obtenido resultados positivos en algunos pacientes con anticuerpos antifosfolípidos (aFL) de tipo autoinmune que nunca habían recibido HEP. También se observaron en proporción variable en pacientes que, a pesar de haber recibido HEP, nunca presentaron manifestaciones clínicas de HIT<sup>(8,9)</sup>. El ensayo presenta una sensibilidad superior al 95%, pero no detecta los casos muy poco frecuentes donde los antígenos involucrados (por ej. IL 8 y NAP-2) son diferentes al complejo FP4/HEP, que sólo se detectan por ensayos funcionales.

En un ensayo de ELISA (Diagnóstica STAGO) el resultado es expresado en % de DO del material de referencia y el punto de corte lo establece el fabricante para cada lote que, en general, se encuentra entre 25-30% de OD de la referencia. Utilizando este ensayo, que detecta los 3 isotipos, se demostró que títulos moderados o fuertes > a 50% de OD de la referencia (habitualmente correspondientes a OD > 0,800) son los que asocian a T4-scores de moderada

o alta probabilidad ( $\geq 6$ ) y al desarrollo de complicaciones trombóticas<sup>(18)</sup>.

Existe en el comercio un ensayo de ELISA altamente sensible en el cual el antígeno utilizado es un complejo de PF4/PVS (polivinil sulfonato utilizado como dador de carga negativa en lugar de HEP), que detecta anticuerpos de isotipo IgG (GTI Laboratories). Con este equipo y con otros ELISAS desarrollados se demostró que el isotipo IgG y en títulos altos correspondientes a OD  $>1,000$  son los clínicamente relevantes y se asocian a anticuerpos con capacidad de activar plaquetas, siendo considerados los positivos débiles como seroconversiones de baja significación clínica<sup>(16,17)</sup>.

Se ha descrito que la inhibición de la unión de los anticuerpos en el ELISA por el agregado de HEP a 100UI/ml, mejora la especificidad del ensayo de ELISA<sup>(19)</sup>, dado que a altas concentraciones de HEP los complejos se disocian y los tetrámeros se separan del complejo por lo que no se conserva el epítipo.

#### **Técnica inmunoturbidimétrica**

La técnica se basa en la realización de un ensayo inmunoturbidimétrico (HemosIL HIT Ab) en el que partículas de látex recubiertas con un anticuerpo monoclonal de ratón anti complejo PF4-HEP es puesto en contacto con una solución de complejo PF4-PVS y la muestra del paciente para determinar la presencia de anticuerpos anti PF4-HEP. Los anticuerpos presentes en el plasma se unirán a los complejos PF4-PVS y de esa manera evitarán que los mismos aglutinen las partículas de látex recubiertas con anticuerpo monoclonal. La OD es inversamente proporcional a la concentración de anticuerpo.

Esta técnica es desarrollada para equipos específicos, coagulómetros con detección óptica que tienen la posibilidad de medir este tipo de ensayos inmunoturbidimétricos. Según lo descrito por el fabricante, el test tiene muy buena reproducibilidad y ha sido validado<sup>(20)</sup>. El kit contiene un calibrador y controles de calidad. Los resultados son expresados en unidades arbitrarias (UA)/ml y un punto de corte de 1 UA/ml, con una sensibilidad aproximadamente de 85% y una especificidad de 94% comparado con un ELISA comercial. El rango reportable directo es de 0-5,7 UA/ml, pero el instrumento tiene posibilidad de extender este rango a 16 UA/ml. Esta técnica tiene la desventaja de medir los 3 isotipos de anticuerpos juntos. No obstante, tiene la ventaja de ser

procesada en los mismos instrumentos y en muestras de plasma citratado utilizados habitualmente en el laboratorio de hemostasia y procesadas de manera individual, permitiendo liberar el resultado en el día y con un tiempo  $<20$  min en la determinación. En un estudio que realizamos comparando este método con el ELISA que detecta los tres isotipos hemos hallado una correlación de los títulos moderada ( $r$  Pearson 0.69) que aumentaba a 0.89 cuando se evaluaban sólo los pacientes con riesgo alto (4T-score  $> 5$ ). Además, sólo el 30% de los que presentaron un resultado positivo débil por ELISA daban un valor positivo en el ensayo inmunoturbidimétrico, evitando de esa manera sobre diagnóstico<sup>(21)</sup>.

#### **Método inmunológico con detección por quimioluminiscencia**

Existe un equipo que permite medir los anticuerpos a través de un método de detección por quimioluminiscencia (HemosIL AcuStar IgG HIT Ab), que ha demostrado sensibilidad y reproducibilidad adecuadas, además de detectar el isotipo patogénico (IgG) y procesar las muestras individualmente en un tiempo adecuado ( $<1$  hora)<sup>(22)</sup>. La desventaja es que se debe tener el equipo específico para poder realizarlo.

Existen además métodos cualitativos o semicuantitativos de detección rápida como son:

- Método de aglutinación de partículas de poliestireno ID-HPF4 (H/PF4-PaGIA, Dia-Med) de color rojo recubiertas con FP4/HEP que reaccionan con los anticuerpos del suero. La detección es por observación directa en la columna de gel de sephacryl. Es rápida, de buena sensibilidad y especificidad y con buena correlación con el ELISA FP4/HEP. Este ensayo proporciona un resultado semicuantitativo como la inversa de la dilución realizando diluciones seriadas de la muestra, siendo los títulos mayores a 4 los clínicamente más significativos.
- Método de inmunoensayo de flujo lateral (LFI-HIT) con tecnología de nano partículas. En este ensayo un reactivo constituido por un complejo formado por PF4 marcado con un ligando y un polianión, junto con la muestra, fluyen por capilaridad en un cartucho en el que un conjugado antiligando que está adosado a nanopartículas de oro. Si hay anticuerpos anti PF4/HEP en el suero del paciente se unen a este complejo y

son inmovilizados al pasar por la zona test en la que un antisuero específico anti IgG humana los inmoviliza generando una marca que puede ser detectada visualmente o cuantificada por un lector. Tiene además una zona de control, en la que los complejos son inmovilizados por un anticuerpo específico contra el ligando de manera que se asegura que el procedimiento del ensayo se llevó a cabo correctamente. Es un test muy rápido y sencillo que parece tener una adecuada sensibilidad y especificidad. En la actualidad, es distribuido comercialmente como STic EXPERT® HIT<sup>(23)</sup>.

**Discusión y conclusiones**

Podemos decir que los ensayos diagnósticos de HIT se dividen:

a) Inmunoensayos para detectar anticuerpos que

son muy sensibles, por ejemplo, ELISA o inmunoturbidimétrico, que detectan anticuerpos pero no distinguen aquéllos que son capaces de activar células y, por lo tanto, trombogénicos.

b) Ensayos funcionales, liberación de serotonina o HIPA, que son más específicos para los anticuerpos que provocan HIT trombogénicos, pero que son complicados de realizar, ya que se necesitan al menos tres donantes normales y no están disponibles en la mayor parte de los laboratorios.

Se ha propuesto que la detección de HIT sea lo más rápida y sensible posible para poder descartarla y evitar suspender tratamientos innecesarios.

En una revisión reciente<sup>(24)</sup>, se han listado los principales métodos rápidos para la detección de anticuerpos anti PF4/HEP (**Tabla 3**).

**Tabla 3.** Métodos rápidos para el diagnóstico de HIT

Método	Isotipo detectado	Tiempo	Sensibilidad	Especificidad
Inmunoturbidimétrico por partículas de látex	IgG, IgM, IgA	15 min	100	76
Aglutinación de partículas y filtración en gel (PAGIA)	IgG	20 min	91-94	87-95
Inmunoensayo de flujo lateral	IgG	15 min	100	93
Inmunoensayo con detección por quimioluminiscencia	IgG	38 min	96-100	85-97

**Figura 1**

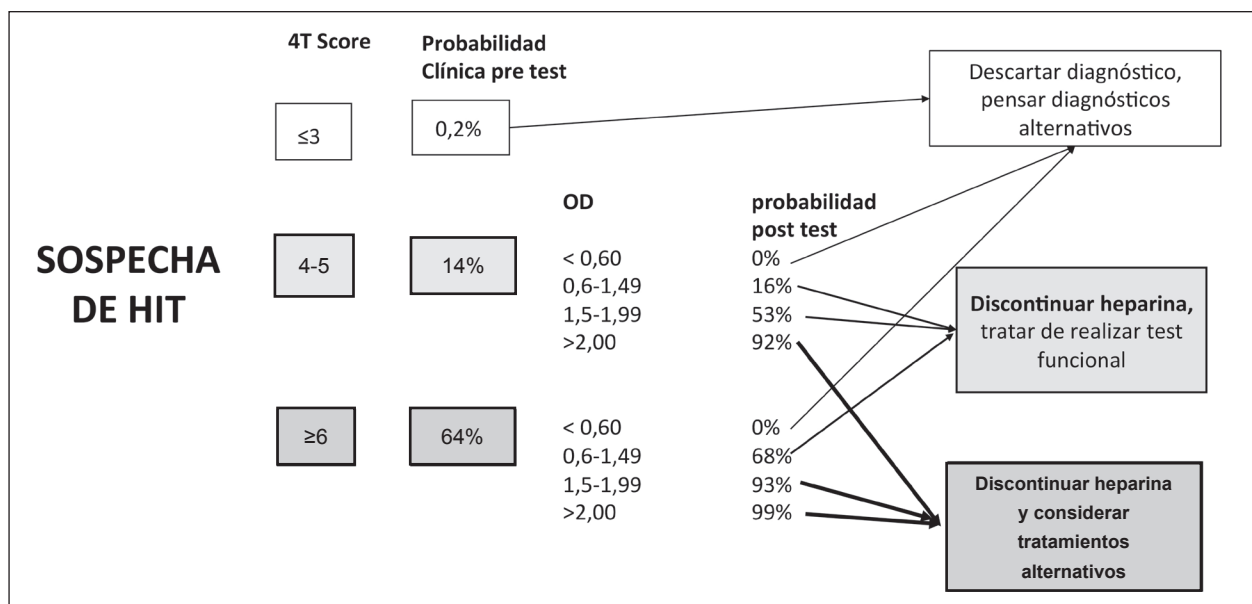
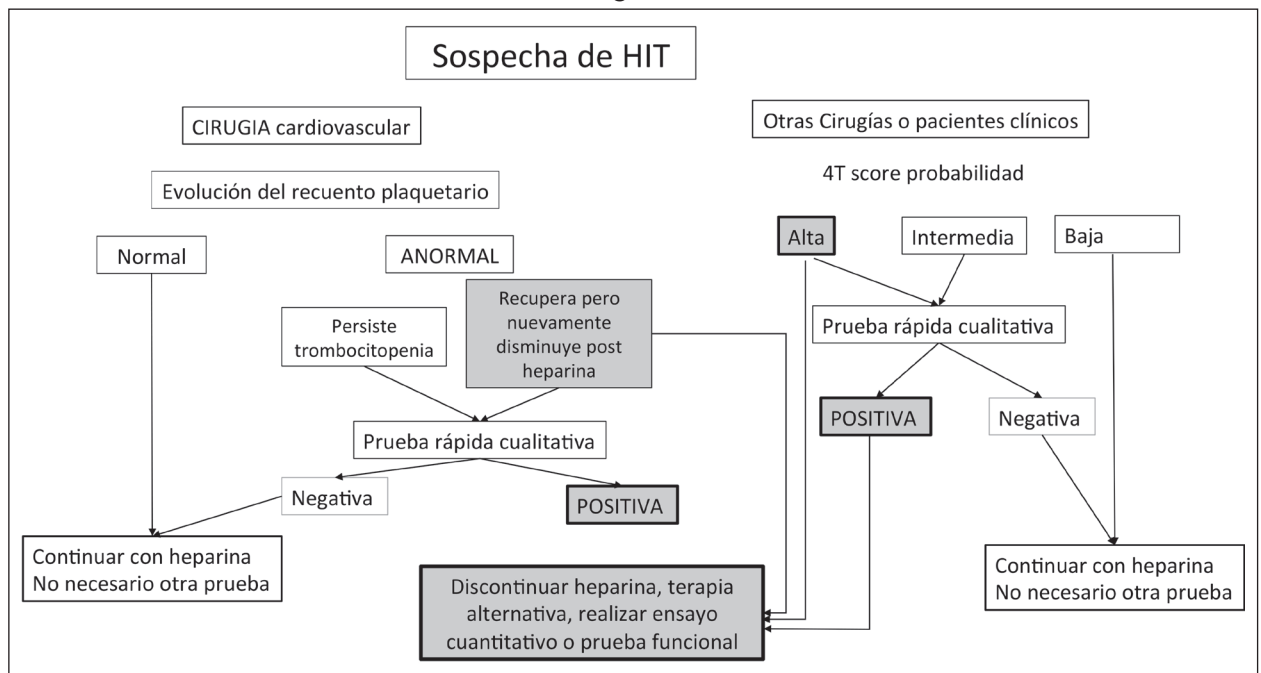


Figura 2



Si el ensayo utilizado es un ELISA cuantitativo, se ha determinado claramente la probabilidad post test de HIT de acuerdo al 4T-score y la OD del ensayo de ELISA como se puede ver en la **Figura 1** adaptada de Cucker y col<sup>(24,25)</sup>.

En la **Figura 2**, se intenta un algoritmo de abordaje del paciente con sospecha de HIT, partiendo de la base de un ensayo rápido cualitativo. Por lo que realizar una prueba inmunológica en tiempo real, si es posible cuantitativa, es muy útil, pues si el resultado es negativo en un paciente con probabilidad intermedia o alta, presenta un alto valor predictivo negativo, evitando la suspensión de la heparina y el cambio de estrategia antitrombótica que muchas veces es dificultosa.

En síntesis: El diagnóstico de laboratorio a través de una prueba inmunológica sensible en tiempo real, en pacientes previamente seleccionados de acuerdo a su probabilidad clínica de padecer HIT, es muy importante ya que evita la suspensión de la HEP y el cambio de estrategia antitrombótica, lo que es complicado en muchos casos de pacientes con inestabilidad hemodinámica.

**Declaración de conflictos de interés:**

La autora declara participación en el Strategic Advisory Committee de Instrumentation Laboratory 2016, recibiendo viáticos para la concurrencia al mismo.

**Bibliografía**

1. Amiral J, Bridley F, Dreyfus M y col. Platelet factor 4 complexed to heparin is the target for antibodies generated in heparin induced thrombocytopenia. *Thromb Haemost.* 1992; 68: 95-6.
2. Greinacher A. Heparin induced thrombocytopenia. *J Thromb Haemost.* 2009;7 (Suppl. 1):9-12.
3. Rauova L, Poncz M, McKenzie SE y col. Ultra large complexes of PF4 and heparin are central to the pathogenesis of heparin-induced thrombocytopenia. *Blood.* 2005;105:131-138.
4. Cines DB, Tomaski A, Tannenbaum S. Immune endothelial-cell injury in heparin-associated thrombocytopenia. *N Engl J Med.* 1987;316:581-589.
- 5.4 Kasthuri RS, Glover SL, Jonas W y col. PF4/heparin-antibody complex induces monocyte tissue factor expression and release of tissue factor positive microparticles by activation of FcγRI. *Blood.* 2012;119:5285-5293
6. Warkentin TE. HIT Paradigms and paradoxes. *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* 9 (Suppl. 1): 105-117.
7. Greinacher A, Farner B, Kroll H, Kohlmann T, Warkentin TE, Eichler P. Clinical features of heparin-induced thrombocytopenia including risk factors for thrombosis. A retrospective analysis of 408 patients. *Thromb Haemost.* 2005;94:132-5.



8. Cuker A. Recent advances in heparin-induced thrombocytopenia. *Curr Op Hematol*. 2011;18:315-322.
9. Suvarna S, Espinasse B, Qi R y col. Determinants in PF4/Heparin Immunogenicity. *Blood*. 2007;110:4253-60.
10. Lubenow N, Hinz P, Thomaschewski S y col. The severity of trauma determines the immune response to PF4/heparin and the frequency of heparin-induced thrombocytopenia *Blood*. 2010;115:1797-1803.
11. 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.
12. Cuker A, Arepally F, Crowther MA y col. The HIT expert probability (HEP) score: a novel pre-probability model for heparin-induced thrombocytopenia based on broad expert opinion. *J Thromb Haemost*. 2010;8:2642-50.
13. Warkentin TE, Heddle NM. Laboratory diagnosis of immune heparin-induced thrombocytopenia. *Curr Hematol. Rep* 2003;2:148-57.
14. Morel-Kopp MC; Tan CW; Brighton TA y col. Validation of whole blood impedance aggregometry as a new diagnostic tool for HIT. *Thromb Haemost*. 2012;107(3):575-83.
15. Greinacher A, Amiral J, Dummel V, Vissac A, Kiefel V, Mueller-Eckhardt C. Laboratory diagnosis of heparin-associated thrombocytopenia and comparison of platelet aggregation test, heparin-induced platelet activation test, and platelet factor 4/heparin enzyme-linked immunosorbent assay. *Transfusion*. 1994; 34: 381-5.
16. Greinacher A, Juhl D, Strobel U y col. Heparin-induced thrombocytopenia: a prospective study on incidence, platelet activating capacity and clinical significance of antiplatelet factor4/heparin antibodies of the IgG, IgM and IgA classes. *J Thromb Haemost*. 2007;5:1666-73.
17. Warkentin T. PF4-dependent immunoassays and differential detection of HIT antibodies. *J Thromb Haemost*. 2007;5:232-4.
18. Martinuzzo ME, Cerrato GS, Iglesias Varela ML, Adamczuk YP, Pombo G, Forastiero RR. Los niveles de anticuerpos anti factor plaquetario 4-heparina y índice 4T para trombocitopenia inducida por heparina. *Medicina (B Aires)*. 2012;72(1):19-22.
19. Whitlatch NL, Kong DF, Metjian AD, Arepally GM, Ortel TL. Validation of high-dose heparin confirmatory step for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *Blood*. 2010;116:1761-6.
20. 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 Coag Fibrinol*. 2011;22:340-344.
21. Martinuzzo ME, Barrera LH, D'Adamo MA, Otaso JC, Forastiero RR. Anti PF4/heparin antibodies detection by immunoturbidimetry in the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *Medicina (B Aires)*. 2014;74(6):507-8.
22. Legnani C, Cini M, Pili C, Boggian O, Frascaro M, Palareti G. Evaluation of a new automated panel of assays for the detection of anti-PF4/heparin antibodies in patients suspected of having heparin induced thrombocytopenia. *Thromb Haemost*. 2010;104:402-409.
23. Sachs UJ, von Hesberg J, Santoso S, Bein G, Bakchoul T. Evaluation of a new nanoparticle-based lateral-flow immunoassay for the exclusion of heparin-induced thrombocytopenia (HIT). *Thromb Haemost*. 2011;106:1197-1202.
24. Cucker A. Clinical and Laboratory Diagnosis of Heparin-Induced Thrombocytopenia: An Integrated Approach. *Sem Thromb Hemost*. 2014;40:106-114.
25. Cuker A, Gimotty PA, Crowther MA, Warkentin TE. Predictive value of the 4Ts scoring system for heparin-induced thrombocytopenia: a systematic review and meta-analysis. *Blood*. 2012;120(20):4160-4167.
26. Raschke RA, Curry SC, Warkentin TE, Gerkin RD. Improving clinical interpretation of the anti-platelet factor 4/heparin enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia through the use of receiver operating characteristic analysis, stratum-specific likelihood ratios, and bayes theorem. *Chest*. 2013;144(4):1269-1275.