



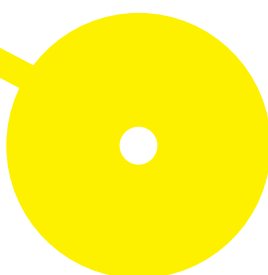
MESTRADO

ANÁLISES CLÍNICAS E SAÚDE PÚBLICA – IMUNOHEMOTERAPIA E TRANSPLANTAÇÃO

Avaliação do score clínico 4Ts no diagnóstico da trombocitopenia induzida por heparina

Joana Barbosa Ferreira de Lemos Baldaque

11/2023





**ESCOLA
SUPERIOR
DE SAÚDE**

Avaliação do Score Clínico 4Ts no diagnóstico da trombocitopenia induzida pela heparina.

Autor

Joana Barbosa Ferreira de Lemos Baldaque

Orientadores

Professor Doutor Jorge Manuel Condeço Ribeiro, Instituto Português do Sangue, Centro de
Investigação em Saúde e Ambiente (CISA), ESS|PPorto

Professor Coordenador Especialista Maria Manuela Amorim de Silva e Sousa, Centro de
Investigação em Saúde e Ambiente (CISA), ESS|PPorto

Dra. Inês Isabel Dias Simões Machado CHUSJ

Dissertação apresentada para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Análises Clínicas e Saúde Pública, Ramo Imunohemoterapia e Transplantação pela Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto

*"The only limit to our realization of tomorrow
will be our doubts of today."*

Franklin D. Roosevelt

Agradecimentos

À Dra. Manuela Amorim e ao Dr. Jorge Condeço, pela sua orientação, disponibilidade e partilha de conhecimentos.

À Dra. Luciana Ricca Gonçalves, pela disponibilidade e partilha de conhecimentos.

À Dra. Inês Machado, pelo apoio desde o início do estudo e colaboração no tratamento dos resultados obtidos.

À Dra. Rita Queirós, pela recolha de dados clínicos e cálculo do score 4Ts.

À Dina e à Teresa, por me ajudarem com o pré-projecto.

Um obrigado às minhas companheiras de mestrado Helena Maria e Cláudia pelo apoio ao longo de dois anos e pelas palavras de incentivo.

Aos colegas do laboratório de hemóstase Graça, Inês, Vítor, Aldina, Filipa e Fátima.

Aos colegas do laboratório de imunohematologia Branca, Teresa, João, Isabel, Alice e Mariana pela amizade, incentivo e apoio que me deram.

Ao meu marido Alberto e filho Alberto, meu porto de abrigo, obrigada pela compreensão, incentivo e apoio incondicional em todos os momentos.

A todos os que de algum modo contribuíram para a realização deste estudo.

Muito Obrigado.

Resumo

O score 4Ts é o sistema de pontuação clínica mais utilizado e estudado para avaliar a probabilidade pré teste da Trombocitopenia Induzida pela Heparina (TIH). A TIH é uma reação adversa à administração da heparina, devido à ativação das plaquetas pelo imunocomplexo fator plaquetário 4 (PF4)/ Heparina, que se caracteriza por uma queda significativa na contagem plaquetária. Como pode ter um desfecho clínico incerto, por estar associada a uma morbidade e mortalidade significativas, é necessário um diagnóstico rápido e preciso.

O objetivo deste estudo foi o de avaliar a validade preditiva do Score 4Ts Warkentin num grupo de doentes com suspeita de TIH.

Realizou-se para isso um estudo analítico e transversal, desenvolvido num hospital do grande Porto. Foram incluídos no estudo todos os registos dos doentes internos (Centro Hospitalar Universitário São João) e externos enviados de outras instituições para o CHUSJ com pedido de análise anti-PF4 entre janeiro de 2017 e dezembro de 2021 nesta instituição.

Aos 290 episódios clínicos do estudo foi efetuado um imunoensaio rápido (STic[®] Expert HIT) como teste de rastreio para a TIH e na presença de um resultado positivo, foi realizado um teste confirmatório ELISA (Asserachrom[®] HPIA – IgG). O score 4Ts foi efetuado para todos os episódios que tinham dados clínicos e laboratoriais que permitiram o seu cálculo.

A TIH foi diagnosticada em 18 episódios e o desempenho diagnóstico do score 4Ts foi avaliado, isolado e em combinação com os testes imunoensaio STic[®] Expert HIT e ELISA (Asserachrom[®]HPIA-IgG). Neste estudo avaliamos a validade preditiva do score 4Ts no diagnóstico da TIH e obtivemos uma sensibilidade de 68,75%, uma especificidade de 95,44%, um valor preditivo positivo de 50,00% e um valor preditivo negativo de 97,87%.

Os resultados sugerem que o score 4Ts é uma ferramenta útil na exclusão de doentes com baixo risco de TIH devido ao seu elevado valor preditivo negativo. Recomendamos por isso a sua implementação numa primeira abordagem de suspeita de TIH, para orientação clínica e decisão de efetuar, ou não o pedido de análise do teste imunoensaio anti PF4/H.

Palavras-chave: Heparina, Trombocitopenia, Fator plaquetário 4, ELISA

Abstract

The 4Ts score is the most widely used and studied clinical scoring system to assess the pre-test probability of heparin-induced thrombocytopenia (HIT). HIT is an adverse reaction to heparin administration, caused by the activation of platelets by the immune complex platelet factor 4 (PF4)/heparin. It is characterized by a significant decrease in platelet count. Due to its potential for an uncertain clinical outcome and its association with significant morbidity and mortality, a prompt and accurate diagnosis is essential.

The aim of this study was to evaluate the predictive validity of the 4Ts score according to Warkentin in a group of patients suspected of having HIT. An analytical and cross-sectional study was conducted at a tertiary hospital in the greater Porto area. The study included all records of inpatients (from Centro Hospitalar Universitário São João) and outpatients (from other institutions) to CHUSJ who underwent anti-PF4 antibody analysis between January 2017 and December 2021.

For the 290 clinical episodes in the study, a rapid immunoassay (STic® Expert HIT) was performed as a screening test for HIT. In the presence of a positive result, a confirmatory ELISA test (Asserachrom® HPIA - IgG) was carried out. The 4Ts score was calculated for all episodes that had clinical and laboratory data available for its calculation.

HIT was diagnosed in 18 episodes, and the diagnostic performance of the 4Ts score was evaluated, both independently and in combination with the immunoassay tests STic® Expert HIT and ELISA (Asserachrom® HPIA-IgG).

In this study, we assessed the predictive validity of the 4Ts score in diagnosing HIT and obtained a sensitivity of 68.75%, specificity of 95.44%, positive predictive value of 50.00%, and negative predictive value of 97.87%.

The results suggest that the 4Ts score is a useful tool in ruling out patients with a low risk of HIT due to its high negative predictive value. Therefore, we recommend its implementation as an initial approach in suspected cases of HIT to guide clinical decisions and determine whether to request anti-PF4 antibody immunoassay testing.

Keywords: Heparin, Thrombocytopenia, Platelet Factor 4, ELISA

Índice

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Plaquetas: definição, estrutura e função	3
1.2. Heparina e suas propriedades anticoagulantes	5
1.3. Trombocitopenia induzida por heparina	8
1.4. Classificação Trombocitopenia Induzida por Heparina	9
1.4.1. Trombocitopenia Induzida por heparina – Tipo I	9
1.4.2. Trombocitopenia induzida por heparina – Tipo II	9
1.5. Resposta imune da TIH Tipo II	12
1.6. Características clínicas e diagnóstico da TIH Tipo II	14
1.7. O Score Clínico 4Ts – Warkentin	15
1.8. Algoritmo de diagnóstico e gestão inicial de doentes com suspeita de TIH	16
1.9. Diagnóstico Laboratorial TIH Tipo II	17
1.9.1. Teste imunológico de fluxo lateral (STic® Expert HIT, Stago)	19
1.9.2. ELISA específico para PF4-H (Asserachrom® HPIA-IgG)	20
1.10. Tratamento da TIH Tipo II	21
2. OBJECTIVO	21
3. MÉTODOS	22
3.1. População e amostra	22
3.1.1. Critérios de inclusão	22
3.1.2. Variáveis	23
3.2. Tratamento dos dados	24
4. RESULTADOS	25
5. DISCUSSÃO	30
6. CONCLUSÃO	33
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
ANEXOS	40

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Fatores que influenciam a frequência de TIH.....	11
Tabela 2 – Principais diferenças entre TIH Tipo I E Tipo II.....	12
Tabela 3 – Probabilidade pré teste de TIH – Score Clínico 4Ts.....	15
Tabela 4 – Testes imunoensaio utilizados para anticorpos PF4/H.....	19
Tabela 5 – Avaliação da probabilidade pré teste de TIH de acordo com o Score 4Ts.....	26
Tabela 6 – Validade Preditiva do Score 4Ts.....	29
Tabela 7 – Prevalência, Sensibilidade, Especificidade, VPN e VPP do Score 4Ts.....	30

Lista de Figuras

Figura 1 – Ligação da IgG ao imunocomplexo PF4/Heparina (7).....	2
Figura 2 – Plaquetas em repouso e ativadas– fotografia eletrónica (19).....	4
Figura 3 – Gráfico da distribuição do tamanho da HBPM e HNF (27).....	6
Figura 4 – Inativação dos fatores da coagulação pela heparina (28).....	7
Figura 5 – Mecanismo fisiopatológico da TIH (46).....	13
Figura 6 – Modelo iceberg para a TIH (PF4– Fator plaquetário4) (44).....	14
Figura 7 – Algoritmo da TIH no CHUSJoão.....	17
Figura 8 – Ilustração esquemática do imunoensaio de fluxo lateral para a deteção de anticorpos TIH (55).....	19
Figura 9 – Imunoensaio ELISA PF4/Heparina (58).....	20

Lista de Gráficos

Gráfico 1 – Distribuição das idades dos doentes em anos	25
Gráfico 2 – Distribuição do sexo dos doentes.....	25
Gráfico 3 – Terapêutica com Heparina.....	25
Gráfico 4 – Internamento clínico dos episódios	26
Gráfico 5 –Resultado dos testes STic®Expert HIT e ELISA (Asserachrom® HPIA-IgG) de acordo com o Score 4Ts	27
Gráfico 6 – Distribuição das idades dos doentes com TIH em anos.....	28
Gráfico 7 – Distribuição do sexo dos doentes com TIH.....	28
Gráfico 8 – Terapêutica dos doentes com TIH	28
Gráfico 9 – Internamento dos doentes com TIH.....	28
Gráfico 10 – Contagem de plaquetas inicial e após heparina nos doentes com TIH.....	29
Gráfico 11 – Intervalo de tempo e o aparecimento de TIH.....	29

Lista de Siglas

4 T's – Sistema de pontuação Warkentin

AC – Anticorpo

Anti PF4/H – Anticorpo anti fator plaquetário/heparina

AT – Antitrombina

CEC – Circulação extracorpórea

CHUSJ – Centro Hospitalar Universitário São João

CT – Cirurgia torácica

ECMO – *Extra Corporeal Membrane Oxygenation*

ELISA – *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*

Gp – Glicoproteína

HBPM – Heparina Baixo Peso Molecular

HNF – Heparina Não Fracionada

IV – Intravenosa

PF4 – Fator Plaquetário 4

TEP – Tromboembolismo Pulmonar

TEV – Tromboembolismo Venoso

TIH – Trombocitopenia Induzida Heparina

UCI – Unidade Cuidados Intensivos

VPN – Valor Preditivo Negativo

VPP – Valor Preditivo Positivo

FVW – Fator Von Willebrand

1. INTRODUÇÃO

A Trombocitopenia Induzida pela Heparina Tipo II (TIH) é uma complicação imunomediada que pode ocorrer nos doentes medicados com heparina. Está associada a uma queda na contagem das plaquetas e a eventos trombóticos paradoxais. É causada por anticorpos que se ligam a complexos de fator plaquetário 4 (PF4) e heparina, que podem ativar plaquetas e monócitos e provocar trombose. Como pode ter um desfecho clínico incerto, por estar associada a uma morbidade e mortalidade significativa, é necessário um diagnóstico rápido e preciso (1,2).

O PF4 é uma proteína com carga positiva sintetizada pelos megacariócitos e armazenada nos grânulos alfa das plaquetas, libertada em grandes quantidades nos locais de ativação plaquetária. Normalmente, o plasma contém apenas vestígios de PF4, mas a sua concentração pode ser aumentada 15 a 30 vezes quando as plaquetas são ativadas (3,4). A heparina liga-se ao PF4 e forma um complexo muito imunogénico, que pode levar à formação de anticorpos heparina-dependentes nos indivíduos suscetíveis. A TIH é mediada por anticorpos IgG (raramente IgA ou IgM), que reconhecem neoepítomos dos complexos PF4/Heparina formados. Acredita-se que a IgG seja o único anticorpo patogénico, porque o receptor Fc da superfície plaquetária só reconhece a IgG (5).

Como os tetrâmeros PF4 têm carga positiva, juntos repelem-se. Assim, a ligação da heparina com carga negativa neutraliza a carga do PF4, o que permite aos tetrâmeros do PF4 aproximarem-se um do outro, sendo este um requisito fundamental para a formação dos imunocomplexos PF4/Heparina (6). Na Figura 1 podemos observar a imagem do imunocomplexo PF4/Heparina que ocorre na TIH, e verificar a ligação do anticorpo IgG dependente da heparina ao fator plaquetário 4 e à heparina (7)

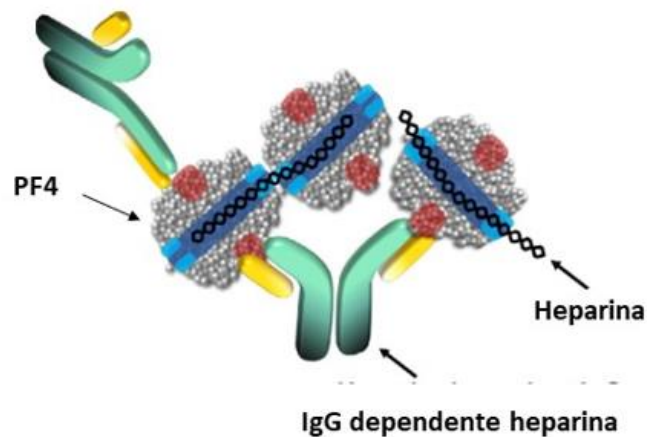


Figura 1 - Ligação da IgG ao imunocomplexo PF4/Heparina (7)

A heparina é um medicamento amplamente utilizado como tromboprofilaxia ou terapêutica em diversas situações clínicas, incluindo cirurgia cardiovascular e procedimentos invasivos, síndromes coronárias agudas, tromboembolismo venoso, fibrilação atrial, doença oclusiva periférica, diálise e durante circulação extracorpórea (8). A heparina, apesar de ser um medicamento centenário, é ainda excepcionalmente relevante pela sua ação antitrombótica. A heparina não fracionada (HNF) e a heparina de baixo peso molecular (HBPM) continuam a ser muito utilizadas, quer em doentes internados, quer em doentes de ambulatório (9).

A TIH ocorre em 0,5% a 1% dos doentes expostos à HNF, e tem uma incidência bastante menor (cerca de 0,1% a 0,5%) em doentes que receberam HBPM (1). O uso prolongado da HNF na prática clínica coloca os doentes em risco de desenvolver trombocitopenia, mas ao contrário de outras patologias que causam um decréscimo plaquetário, na TIH a baixa contagem de plaquetas não aumenta o risco de hemorragia, mas funciona como um marcador do risco trombótico (10).

O diagnóstico de TIH necessita, para além de um quadro clínico compatível, da evidência laboratorial dos anticorpos anti PF4/Heparina, o que demonstra o papel fundamental do laboratório no diagnóstico definitivo desta entidade clínica (11).

1.1. Plaquetas: definição, estrutura e função

As plaquetas são pequenas células sanguíneas discóides e anucleadas, com um diâmetro em média de $2,5 \mu\text{m}$ (existe contudo uma subpopulação de células maiores com cerca de $4,5 \mu\text{m}$). As plaquetas são produzidas na medula óssea a partir de grandes células precursoras chamadas megacariócitos. Durante a sua maturação, os megacariócitos sofrem uma série de mudanças estruturais e formam longos prolongamentos citoplasmáticos, que se fragmentam em pequenas células libertadas na corrente sanguínea – as plaquetas. Essas células não têm núcleo pelo fato de serem pequenos fragmentos que se separam do megacariócito. Cada megacariócito maduro produz entre 1000 a 3000 plaquetas (12).

A produção das plaquetas pela medula óssea é controlada pela trombopoietina, uma hormona produzida pelo fígado e pelos rins, que promove o crescimento e desenvolvimento dos megacariócitos. Das plaquetas presentes no organismo humano, encontram-se na circulação sanguínea cerca de 70% do total por um período de tempo reduzido – uma média de 7 a 10 dias – e as restantes 30% encontram-se no baço (13). A contagem normal de plaquetas no sangue periférico de um indivíduo saudável é de $150 - 400 \times 10^9/\text{L}$ (14).

Em relação à sua estrutura, as plaquetas são constituídas por uma membrana externa ou glicocálice, onde se encontram as glicoproteínas Gp Ib/V/IX e Gp IIb/IIIa, responsáveis pela adesão ao local da lesão; um citoesqueleto que mantém a estrutura discoide das plaquetas em estado de repouso e permite que se tornem esféricas e emitam pseudópodes durante a sua activação, e um sistema canicular aberto, que não é mais do que uma série de invaginações da membrana, importantes para a mudança de forma e que permite a libertação para o exterior dos componentes contidos nos granulos plaquetários alfa, densos e lisossomas (15,16).

As plaquetas desempenham vários papéis na biologia vascular e são mais conhecidas como mediadoras primárias da hemostase e trombose. Em circunstâncias normais, as plaquetas não aderem às paredes dos vasos sanguíneos, pois o endotélio normal atua como uma superfície antitrombótica. No entanto, após lesão do endotélio, as plaquetas são os primeiros elementos a intervirem na sua reparação, ativando para isso uma série de mecanismos que se denomina de hemostase primária (17,18).

Durante a fase de ativação, as plaquetas mudam a sua forma discóide na corrente sanguínea para a forma esférica compacta com longas extensões de pseudópodes, facilitando assim a adesão ao local da lesão vascular, como observado na Figura 2 (19). Por meio desse mecanismo, as plaquetas ativadas são capazes de aumentar a sua área de superfície em quatro vezes ou mais em comparação com as plaquetas em repouso (20).

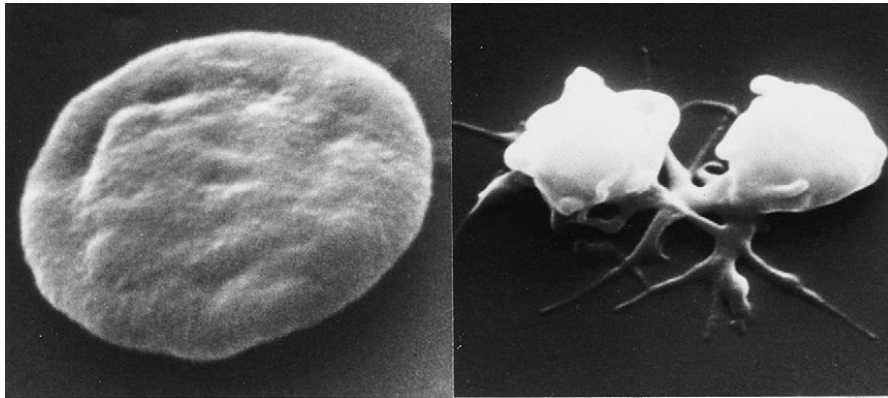


Figura 2 - Plaquetas em repouso e ativadas- fotografia eletrónica (19)

A exposição do sangue a componentes subendoteliais no local da lesão vascular faz com que as plaquetas adiram ao local da lesão e que os recetores de GpIb das plaquetas se liguem ao fator de Von Willebrand (FVW), exposto dentro da matriz subendotelial. Quando isto ocorre, as plaquetas tornam-se ativas e libertam o conteúdo dos grânulos citoplasmáticos, levando assim à ativação de outras plaquetas e à modificação da sua forma. Existe ainda uma interação com as plaquetas inactivas em circulação, recrutando-as para o local da lesão para que ocorra uma maior agregação plaquetária, formando-se assim uma superfície pró coagulante (18,21). Em simultâneo, ocorre a activação da cascata da coagulação, onde o fibrinogénio proteína solúvel do plasma é convertido pela acção da trombina num polímero insolúvel – a fibrina. Após as plaquetas terem formado o tampão plaquetário primário para reter a hemorragia, o coágulo é consolidado pela formação de uma rede de fibrina, organizada em torno dos agregados plaquetários, transformando-o num tampão firme e estável (12,21)

1.2. Heparina e suas propriedades anticoagulantes

A heparina não fracionada (HNF) foi o primeiro fármaco anticoagulante a ser descoberto. Em 1916 um estudante de medicina da Universidade John Hopkins – Jay McLean – estudava as presumíveis propriedades pró-trombóticas de extratos de fígado e coração de cães e verificou que este composto, mais tarde denominado de heparina, afinal possuía propriedades anticoagulantes. A origem do nome desse composto foi baseada na palavra grega “Hepar”, cujo significado é fígado, pelo fato de ter sido aí encontrada durante a investigação (22,23).

A HNF é um dos fármacos mais utilizados no mundo, mas o seu uso em rotina como anticoagulante clínico foi iniciado apenas no início dos anos setenta do século passado pelo cirurgião vascular Vijay Kakkar, que demonstrou que a sua administração sistemática aos doentes após intervenções cirúrgicas prevenia o tromboembolismo venoso e a mortalidade por embolia pulmonar. Desde então, a administração de heparina salvou milhares de vidas, evitando coágulos sanguíneos fatais (24).

O interesse mundial na pesquisa antitrombótica e a evolução das técnicas bioquímicas permitiram grandes avanços no desenvolvimento dos anticoagulantes. Diferentes grupos de pesquisa na Europa e nos EUA começaram a trabalhar no desenvolvimento de uma subclasse da heparina com origem na HNF, denominada HBPM. Essa heparina é obtida através da despolimerização química ou enzimática da HNF e tem um peso molecular de cerca de um terço do tamanho original. A HBPM é um análogo de cadeia mais curta e é utilizada atualmente como uma estratégia trombo profilática eficaz (25).

A HNF é um medicamento heterogéneo que consiste em longas cadeias de polissacarídeos, enquanto a HBPM é formada por cadeias mais curtas. A ação farmacodinâmica da heparina varia com o comprimento da cadeia já que quanto maior ela for, mais rápida é a sua excreção. Por outro lado, quanto mais curta a cadeia da heparina e mais baixo o seu peso molecular, menor a afinidade pelas proteínas plasmáticas, células endoteliais e macrófagos, o que farmacologicamente aumenta a sua biodisponibilidade (26). Na Figura 3 podemos observar o gráfico da distribuição de tamanho para a heparina de baixo peso molecular (HBPM) versus heparina não fracionada

(HNF). As heparinas HBPM e HNF representam populações heterogêneas com distribuição de peso molecular de 1000 a 10000 Daltons e 3000 a 30000 Daltons, respectivamente (27).

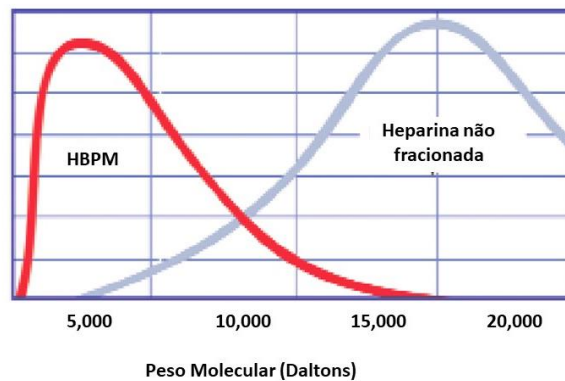


Figura 3 – Gráfico da distribuição do tamanho da HBPM e HNF (27)

A ação anticoagulante da heparina resulta da sua capacidade de ligação e ativação da antitrombina, um cofator da heparina, em vez de se ligar diretamente aos fatores de coagulação. A ligação à antitrombina leva a uma alteração conformacional que aumenta a sua afinidade pela trombina (Fator IIa) e em menor grau, pelo fator X ativado (Fator Xa), formando um complexo que é rapidamente degradado pela circulação.

A HNF acelera o modo de ação da antitrombina em aproximadamente 1000 vezes, fazendo com que seja considerado um fármaco anticoagulante altamente eficiente. Na Figura 4 podemos observar o esquema da inativação dos fatores de coagulação pela HNF e pela HBPM (28,29).

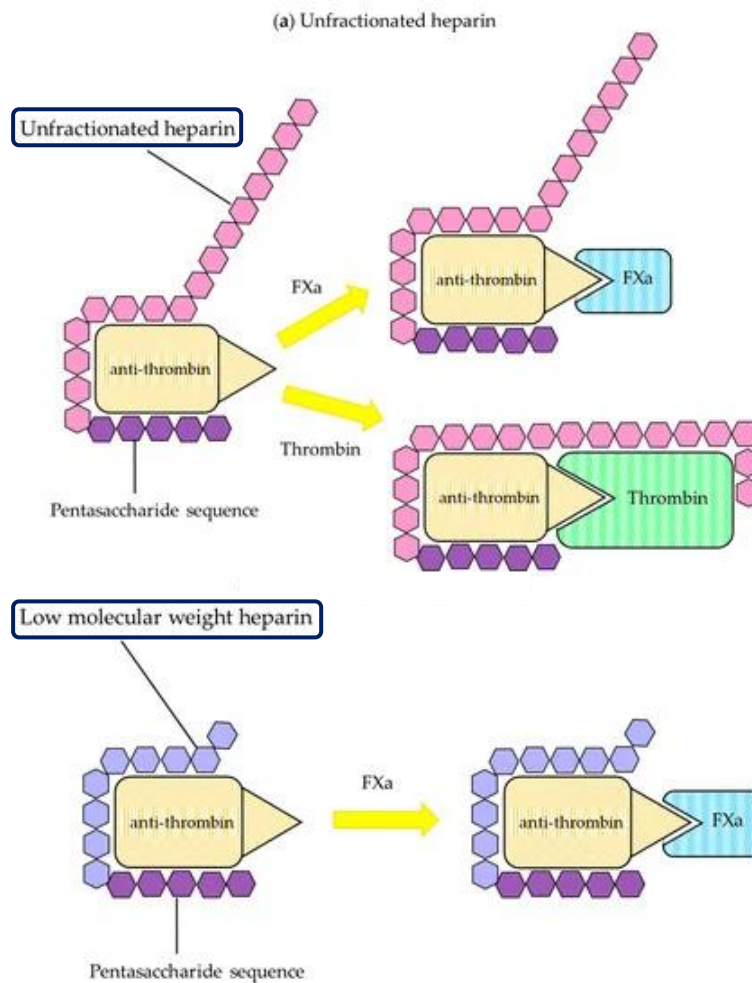


Figura 4 -Inativação dos fatores da coagulação pela heparina (28)

O principal mecanismo de ação é semelhante tanto para a HNF como para a HBPM, mas esta dispõe de propriedades farmacodinâmicas mais favoráveis nomeadamente um perfil de efeitos colaterais mais seguro e uma semivida mais longa, o que permite obter uma resposta anticoagulante mais previsível (30).

A HNF e a HBPM são indicadas para o tratamento e profilaxia de tromboembolismo venoso (TEV), uma doença fatal que inclui a trombose venosa profunda e a embolia pulmonar. Devido ao seu comportamento farmacocinético a HBPM pode ser administrada numa dose fixa em função do peso corporal, sem a necessidade de controlo laboratorial. O facto de não ser necessária a monitorização e de ter um risco muito reduzido de reações adversas, faz com que a HBPM tenha um efeito terapêutico mais efetivo e esperado do que a HNF (31).

Embora nenhuma quantidade de heparina seja irrelevante para causar a formação de anticorpos, o risco de os desenvolver é maior em doentes expostos a doses mais elevadas de heparina e com duração de terapia mais prolongada. Além disso, as mulheres e os idosos parecem ter um risco também aumentado. O mesmo se verifica em doentes sujeitos a cirurgia cardiorácica e ortopédica e isso pode ser explicado pelo aumento da ativação plaquetária e da atividade do PF4 devido ao trauma tecidual e inflamação a que estão sujeitos (32).

1.3. Trombocitopenia induzida por heparina

A trombocitopenia é um achado clínico comum definido como uma contagem de plaquetas inferior a $150 \times 10^9/L$, embora muitos autores considerem que um valor de cutoff de $100 \times 10^9/L$ é mais apropriado para identificar trombocitopenia clinicamente significativa.

Os principais mecanismos fisiopatológicos da trombocitopenia incluem a diminuição da produção de plaquetas pela medula óssea, o aumento da destruição plaquetária, o aumento do sequestro esplênico, podendo também existir uma causa dilucional no caso de transfusão maciça dos eritrócitos. É necessária a investigação clínica detalhada do doente: idade, contagem de plaquetas basal, condições médicas e cirúrgicas, história familiar, incluindo qualquer hemorragia ou manifestação trombótica, o uso de medicamentos e o resultado de qualquer exame laboratorial pertinente (33).

Em relação à sua etiologia a trombocitopenia pode ser agrupada em:

- I. Trombocitopenia imune primária (PTI);
- II. Trombocitopenia imune induzida por drogas (TIH);
- III. Trombocitopenia não imune induzida por drogas;
- IV. Infecções Viricas HIV, hepatite C, vírus Ebstein-Barr, Parvovírus;
- V. Hiperesplenismo devido a doença hepática crónica;
- VI. Distúrbios autoimunes (lúpus eritematoso sistémico, artrite reumatoide);
- VII. Gravidez síndrome HELLP (hemólise, enzimas hepáticas elevadas, baixa contagem de plaquetas) (34,35).

1.4. Classificação Trombocitopenia Induzida por Heparina

1.4.1. Trombocitopenia Induzida por heparina – Tipo I

É a forma menos severa e a mais frequente. Trata-se de uma reação não mediada pelo sistema imunológico, que ocorre em aproximadamente 20 a 25% dos doentes tratados com heparina. É caracterizada por uma trombocitopenia leve, assintomática e transitória. Raramente a contagem de plaquetas atinge valores inferiores a $100 \times 10^9/L$ (36).

O mecanismo da TIH tipo I resulta do efeito direto da heparina na ativação e agregação plaquetária, o que leva a um aumento do sequestro de plaquetas pelo baço e consequente trombocitopenia. A heparina com elevada carga negativa liga-se diretamente à plaqueta, que tem carga positiva, resultando em agregação plaquetária. Este mecanismo não é mediado por anticorpos, pelo que estamos perante uma trombocitopenia não imune induzida por heparina (14,19). Não há necessidade de tratamento para TIH tipo I. A contagem plaquetária geralmente normaliza espontaneamente em cinco dias, mesmo com a continuidade do uso de heparina (37).

1.4.2. Trombocitopenia induzida por heparina – Tipo II

A TIH Tipo II é uma reação imune mediada por anticorpos. A sua incidência é rara, e ocorre em cerca de 2-5 % dos doentes que receberam heparina, incluindo aqueles com baixas doses do fármaco, ou nos doentes que receberam heparina apenas para manter permeável a via de cateteres venosos centrais. Clinicamente, as principais consequências da TIH são: a trombocitopenia e a trombose. Nesta patologia a diminuição na contagem de plaquetas é mais acentuada, com valores entre 30 e $80 \times 10^9/L$ e raramente, abaixo de $20 \times 10^9/L$. O nadir médio das plaquetas é de aproximadamente $60 \times 10^9/L$ e a trombocitopenia está presente em 85–90% de doentes com TIH (37).

Existem três padrões de início do TIH: rápido, típico e tardio. Nos casos mais comuns, a diminuição da contagem das plaquetas ocorre entre o quinto e o décimo quinto dia da terapia com heparina, embora haja casos em que essa queda acontece antes, quando estamos perante uma TIH precoce. Existe ainda a TIH de início tardia, que é definida como aquela que ocorre cinco ou mais dias após a retirada da heparina (37).

Num doente que foi exposto à heparina nos últimos três meses, os anticorpos permanecem em circulação, o que pode levar a uma reação imediata na queda das plaquetas logo nos primeiros minutos ou horas de reexposição à heparina. É fundamental nos doentes em que se prevê uma terapia com heparina haver uma contagem basal de plaquetas e a sua monitorização (38).

O quadro de trombocitopenia é apenas revertido com a interrupção da heparina, começando a haver um incremento de plaquetas ao segundo e terceiro dia; gradualmente voltam ao normal por volta do décimo dia. Contudo, os anticorpos uma vez formados permanecem em circulação durante dois a três meses.

Embora não seja tão frequente, a TIH tipo II também pode estar associada a uma queda absoluta na contagem de plaquetas ($\geq 50\%$ do valor inicial) cujo nadir não seja inferior a $150 \times 10^9/L$. Apesar de haver um decréscimo na contagem das plaquetas, há um predomínio da trombose em vez da hemorragia. Neste tipo de TIH, o risco de trombose é de 5% a 10% nos primeiros dois dias; o risco cumulativo em 30 dias é de aproximadamente 50% (39).

A trombose é a complicação mais grave da HIT e contribui para a morbidade e mortalidade da doença (4,5,7,12). Eventos trombóticos arteriais e venosos graves podem ocorrer e afetar qualquer leito vascular. A trombose venosa, incluindo a trombose venosa profunda e a embolia pulmonar, são as complicações mais frequentes, seguidas pela trombose arterial periférica, acidente vascular cerebral e enfarte do miocárdio. Além disso, 10% a 20% dos pacientes apresentam necrose cutânea localizada nos locais de injeção de heparina e até 20% dos pacientes podem desenvolver coagulação intravascular disseminada.

Em termos clínicos práticos, quando nos referimos à TIH reportamo-nos à **TIH Tipo II**, uma vez que não ocorrem eventos clínicos associados à TIH Tipo I.

O tipo de heparina (HNF/ HBPM), a dosagem (uso profilático ou terapêutico), a via de administração, a duração do tratamento, assim como o local de internamento do doente (cirurgia/medicina), são os principais fatores que influenciam a frequência do aparecimento da TIH. Em relação à idade, os doentes com idade superior a 60 anos têm um risco aumentado de desenvolverem TIH, sendo rara em doentes com idade inferior a 40 anos. Relativamente ao sexo, as mulheres têm o dobro do risco de desenvolverem TIH em comparação com os homens (40,41).

Na Tabela 1 estão descritos os fatores que influenciam o risco de desenvolvimento de uma trombocitopenia induzida por heparina (42).

Tabela 1 – Fatores que influenciam a frequência de TIH

Tipo heparina	HNF de pulmão bovino > HNF intestino de porco > HBPM
Duração da heparina	Cada dia de heparina após dia 5 até dia 14 aumenta o risco
Dose de heparina	Alteração de dose profiláctica para terapêutica pode levar a queda abrupta de PLT em doentes com anticorpos TIH
Tipo de doente	Pós cirúrgico (ortopédico > cardíaco) > médico > obstétrico
Sexo	Mulher > Homem
Definição de trombocitopenia	A queda da contagem PTL percentual > 50% é mais sensível para detectar TIH do que a queda absoluta de $100-150 \times 10^9$

Adaptado de Warkentin T, British Journal of Haematology, 2003, 121: 535–555 (42)

Na Tabela 2 podemos comparar as principais diferenças entre a TIH Tipo I e Tipo II.

Tabela 2 – Principais diferenças entre TIH Tipo I E Tipo II

	TIH Tipo I	TIH Tipo II
Incidência	20 a 30%	2 a 5 %
Gravidade	Baixa	Alta
Início	1º ao 4º dia de heparina	5º ao 15º dia de heparina
Contagem PLT	Até 100x10 ⁹ /L	30 a 80 x10 ⁹ /L
Mecanismo	Não imune	Imune
Sintomas	Assintomática	TEV e EP
Diagnóstico	Clínico	Laboratorial

Adaptado de Pavanelli M, Spitzner F, Trombocitopenia induzida por heparina: Revisão de literatura (37)

1.5. Resposta imune da TIH

Os anticorpos anti- PF4/Heparina podem ser detetados em praticamente todos os doentes com TIH, o que nos indica que o distúrbio é mediado por uma resposta imunológica. No entanto, a TIH tem várias características atípicas que diferem da resposta imune induzida normalmente por antígenos. Os doentes desenvolvem rapidamente anticorpos da classe IgG (em poucos dias), sem terem uma resposta primária de anticorpos da classe IgM contra o PF4/Heparina (7,43).

A heparina é uma mistura de polissacarídeos carregados negativamente que pertencem à família de moléculas dos glicosaminoglicanos (GAG). A família de moléculas GAG inclui moléculas endógenas semelhantes à heparina expressas em células endoteliais (44). O PF4 é libertado pelas plaquetas ativadas especialmente nos locais de lesão endotelial. O PF4 carregado positivamente interage com os glicosaminoglicanos (GAGs) carregados negativamente, incluindo a heparina, levando à formação de grandes complexos PF4/Heparina (PF4/H). Estes complexos são o alvo antigénico dos anticorpos heparina dependentes. O tamanho e a carga do complexo, dependendo das quantidades relativas de PF4 e heparina, parecem desempenhar um papel importante na sua patogenicidade (36,45).

Os recetores FcgRIIA das plaquetas ligam-se ao anticorpo PF4/Heparina, o que leva à libertação de micropartículas pró-coagulantes. Por sua vez, os monócitos levam à expressão do fator tecidual e formação de trombina contribuindo assim para o aumento do risco de complicações tromboembólicas. A trombocitopenia ocorre por dois mecanismos: remoção de plaquetas com IgG ligada por macrófagos esplênicos e consumo de plaquetas causada pela formação de trombos (1,46,47). Na Figura 5 podemos observar o mecanismo fisiopatológico da TIH.

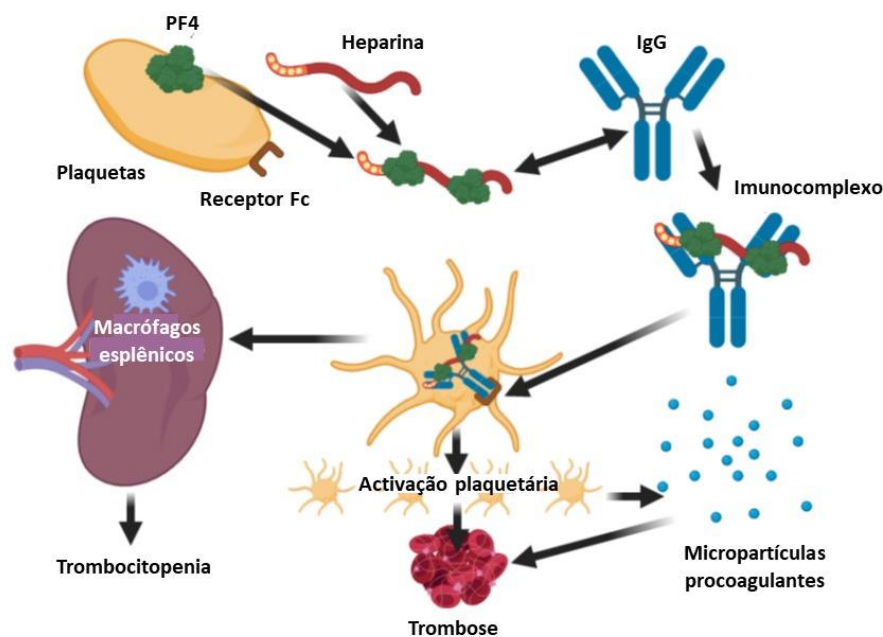


Figura 5 -Mecanismo fisiopatológico da TIH (46)

A TIH é muitas vezes descrita usando um modelo iceberg. A resposta imune ao PF4/Heparina ocorre com muito mais frequência do que as manifestações clínicas de trombocitopenia e trombose. Não se sabe por que alguns doentes soropositivos permanecem assintomáticos enquanto outros evoluem para patologia grave. Estudos clínicos indicam que certas características sorológicas, como o isotipo IgG, a capacidade de ativar as plaquetas e níveis elevados de anticorpos estão associados ao risco trombótico (48). O modelo iceberg da TIH (Figura 6) mostra a relação entre a maior frequência de deteção de anticorpos PF4/Heparina em imunoensaios e a prevalência muito menor de TIH clinicamente significativa (44).

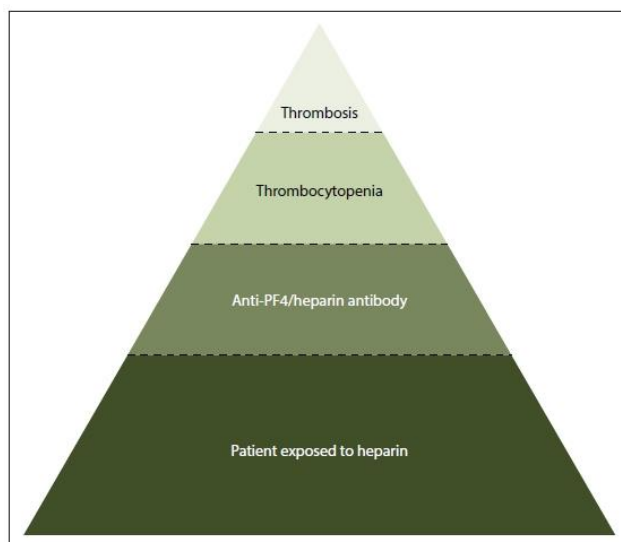


Figura 6 - Modelo iceberg para a TIH (PF4- Fator plaquetário4) (44)

1.6. Características clínicas e diagnóstico da TIH

Para estarmos perante uma suspeita clínica de TIH devemos ter como achados clínicos:

- A demonstração de uma associação temporal entre o desenvolvimento da trombocitopenia e/ou trombose e a terapêutica com heparina.
- A exclusão de outras causas de trombocitopenia e/ou trombose (ex: infeções, outros fármacos, materiais intravasculares e cirurgia).

Para chegarmos ao diagnóstico de TIH baseamo-nos em três critérios fundamentais:

- O doente está a receber heparina ou foi exposto recentemente a HNF ou HBPM.
- A existência de um achado clínico ou laboratorial (Score 4Ts).
- A deteção laboratorial de anticorpos que se ligam aos complexos PF4/Heparina.

1.7. O Score Clínico 4Ts – Warkentin

Existe um score clínico que foi desenvolvido por Warkentin (4Ts) para calcular a probabilidade pré teste da TIH com base em características clínicas e laboratoriais bem definidas. Introduzido pela primeira vez em 2006, o score 4Ts tornou-se o sistema de pontuação pré-teste mais utilizado e estudado para identificar a TIH (9). O score 4Ts avalia quatro critérios: 1) o grau de trombocitopenia; 2) o momento do declínio plaquetário após a administração da heparina; 3) presença de trombose ou outras sequelas da TIH; e 4) a probabilidade de outras causas de trombocitopenia. Esse sistema é simples e continua a ser o mais utilizado, como se pode observar na Tabela 3 (41).

Tabela 3 – Probabilidade pré teste de TIH – Score Clínico 4Ts

Critérios	Fator de ponderação na Probabilidade
Trombocitopenia	0 – Redução plaquetária < 30% ou nadir de plaquetas $\leq 10 \times 10^9/L$ 1 – Redução plaquetária entre 30–50% ou nadir de plaquetas $10\text{--}19 \times 10^9/L$ 2 – Redução plaquetária > 50% ou nadir de plaquetas $\geq 20 \times 10^9/L$
Tempo do início da trombocitopenia	0 – \leq Dia 4 sem exposição recente à heparina 1 – > Dia 10 após início heparina ou exposição pouco evidente à heparina 2 – Dias 5–10 ou dia 1 se exposição recente à heparina
Trombose	0 – Sem sinais de trombose 1 – Trombose recorrente ou progressiva. Lesões cutâneas eritematosas 2 – Nova trombose. Necrose cutânea ou reação sistêmica aguda após heparina
Outra causa de trombocitopenia	0 – Outra causa definida 1 – Outra causa possível 2 – Nenhuma outra causa evidente

Adaptado de Warkentin, British Journal of Haematology, 2003;121:535–555

Cada categoria recebe uma pontuação de 0 a 2, e a pontuação total é calculada com a soma das pontuações dos quatro critérios. Um score total de 0 a 3 é considerado **baixa probabilidade** de TIH, um score de 4 a 5 é considerado probabilidade **intermédia** e um score de 6 a 8 é considerado **alta probabilidade**.

Uma baixa probabilidade exclui o diagnóstico de TIH devido ao seu elevado valor preditivo negativo (VPN). Já numa probabilidade intermédia, a patologia é normalmente confirmada em 10% a 20% dos casos nesse intervalo de valores. Uma alta probabilidade geralmente vê o diagnóstico confirmado em 40%–80% dos casos (1,49).

1.8. Algoritmo de diagnóstico e gestão inicial de doentes com suspeita de TIH

As diretrizes atuais da Sociedade Americana de Hematologia (ASH 2018) (50) para o diagnóstico da TIH recomendam o uso do score 4Ts para determinar a necessidade de testes laboratoriais:

- Todos os doentes devem ter uma avaliação clínica inicial com estimativa do score 4Ts e para aqueles que têm um score 4Ts de baixa probabilidade, recomendam não ser necessária a realização de testes laboratoriais para anticorpos anti PF4/heparina.
- Pode ser necessário para doentes com pontuação 4Ts de baixa probabilidade, a realização de testes laboratoriais se houver incerteza sobre a pontuação dos 4Ts (por exemplo, devido à falta de dados).
- Quando se obtém um score 4Ts de probabilidade intermediária ou alta, sugerem a realizado um teste de imunoensaio ELISA PF4/H para deteção da presença de anticorpos anti- PF4/Heparina.
- Se o imunoensaio ELISA PF4/H for positivo, deve ser confirmado com a realização de um ensaio funcional, se este estiver disponível a nível da instituição (50)

O algoritmo que atualmente se utiliza na investigação de doentes com suspeita de TIH no CHUS João, resulta da aplicação das recomendações internacionais às condições práticas e laboratoriais existentes. Nesse sentido, para o diagnóstico de TIH devemos ter em conta a combinação da avaliação da probabilidade pré teste (Score 4Ts) e a interpretação do resultado do imunoensaio anti-PF4/Heparina.

Na Figura 7 podemos observar o algoritmo utilizado no CHUS João para a TIH Tipo II. Após a suspeita clínica é determinada, através do cálculo do Score 4Ts, a probabilidade de o doente poder vir a desenvolver TIH. Perante a suspeita clínica confirmada, é enviado um pedido para a realização de um teste imunoensaio – STic® Expert HIT. No caso de se obter um resultado negativo no teste STic® Expert HIT é automaticamente excluída a presença de TIH. Se o resultado for positivo, este terá de ser confirmado por um teste ELISA Asserachrom® HPIA – IgG. Se o resultado do teste ELISA for positivo, o diagnóstico de TIH é confirmado e se for negativo, o diagnóstico de TIH é excluído.

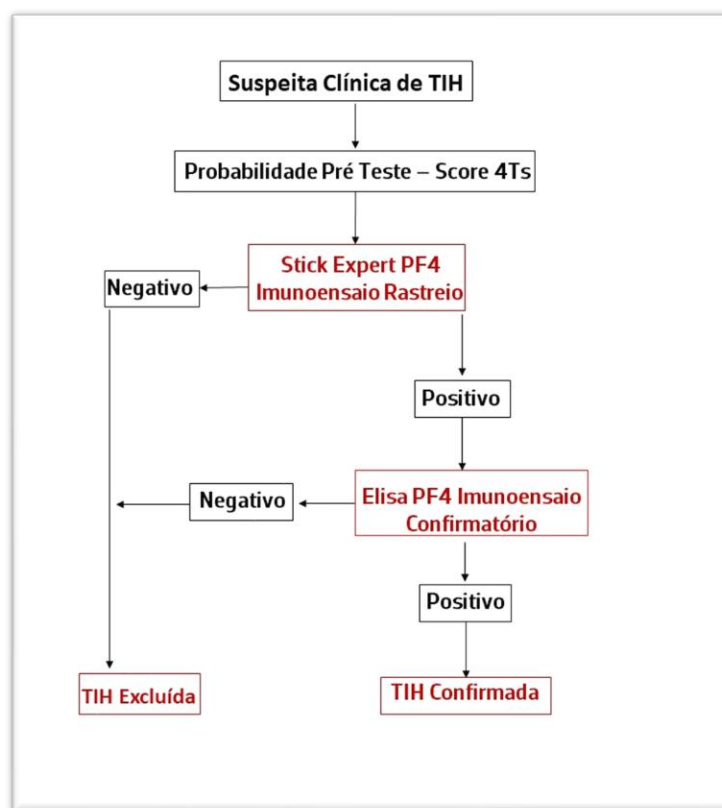


Figura 7 – Algoritmo da TIH no CHUSJoão

1.9. Diagnóstico Laboratorial TIH

O diagnóstico de TIH não pode ser efetuado sem a evidência laboratorial de anticorpos anti-PF4/Heparina. Existem dois tipos de testes que evidenciam fases diferentes da patogénese da TIH:

- Testes Imunoensaio (antigénio) – detetam a ligação dos anticorpos anti PF4/Heparina e referem-se à resposta imunológica inicial.
- Testes Funcionais (ativação plaquetária) – investigam a capacidade dos anticorpos do doente ativarem as plaquetas na presença de heparina, referindo-se ao risco de trombose associado.

Os testes imunoensaio possuem elevada sensibilidade (>99%), tornando-os ideais para uso como teste de rastreio inicial para TIH. A desvantagem é a baixa especificidade (30%–70%) para o diagnóstico de TIH. Como tal, apresentam menor valor preditivo positivo. Em geral, apenas 10% a 50% dos pacientes com resultados de imunoensaio positivos apresentam anticorpos ativadores de plaquetas. Os testes imunoensaio têm a vantagem de poderem ser realizados em rotina pela maioria dos laboratórios e de terem um tempo de resposta rápido (51).

Os testes laboratoriais considerados o padrão ouro para o diagnóstico da TIH são os testes funcionais, que demonstram a presença de anticorpos ativadores de plaquetas *in vitro* (52). Os testes funcionais mais comuns são o teste de ativação plaquetária induzida por heparina e o teste da libertação da serotonina. Contudo, estes testes apresentam várias desvantagens e limitações, são testes demorados e caros, o que limita desde logo a sua utilização para tomar decisões clínicas que não podem esperar. Por outro lado, são tecnicamente mais desafiadores, exigem a utilização de plaquetas de doadores saudáveis e no caso do teste SRA a utilização de radioisótopo. A sua disponibilidade é limitada na maioria dos hospitais, sendo mais frequentes em laboratórios de referência (52,53).

Existem vários tipos de testes de imunoensaio: o imunoensaio de fluxo lateral (STic® Expert HIT) e o imunoenzimático (ELISA). Na Tabela 4 encontram-se descritas a sua metodologia e tempo de realização (54)

Tabela 4 - Testes imunoensaio utilizados para anticorpos PF4/H

Tipo Imunoensaio	Metodologia	Tempo de realização
Baseado em avaliação visual		
STic Expert	Imunocromatografia Fluxo lateral	10 Min
Baseado em DO		
Elisa	DO	3 - 4 Horas

Adaptado de Favalaro E, Pasalic L, Lippi G Pathology (2022) 54(3) 254-261 (54)

1.9.1. Teste imunológico de fluxo lateral (STic® Expert HIT, Stago)

O teste STic® Expert HIT é um teste qualitativo de deteção de anticorpos IgG anti complexos PF4/heparina. Trata-se de um imunoensaio de fluxo lateral que se baseia na ação capilar que leva o fluxo do plasma do doente ao longo da tira do teste como observado na Figura 8 (55). A IgG anti-humana imobilizada na membrana de nitrocelulose liga-se aos anticorpos IgG do doente previamente capturados pelo complexo PF4/poliânion (do tampão de amostra), que é detetado por nanopartículas de ouro intensamente coloridas (49,56,57).

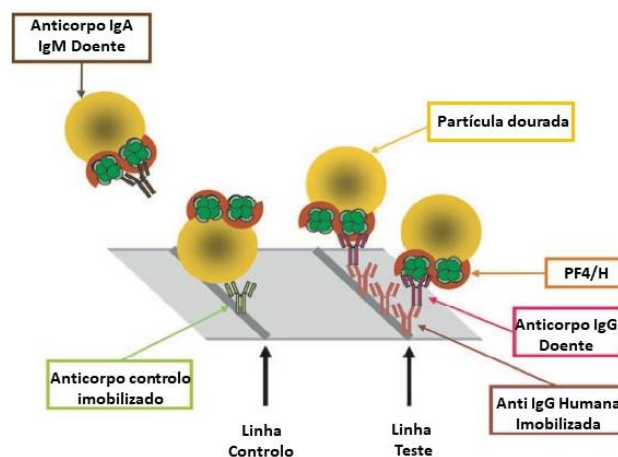


Figura 8 - Ilustração esquemática do imunoensaio de fluxo lateral para a deteção de anticorpos TIH (55)

1.9.2.ELISA específico para PF4-H (Asserachrom® HPIA-IgG)

O Asserachom HPIA-IgG é um teste ELISA muito sensível e específico para a detecção de anticorpos IgG PF4/H (Diagnostica Stago, Asnieres, France). Neste teste os poços das tiras de plástico são revestidos por complexos PF4/Heparina, aos quais são adicionadas as amostras dos doentes. Após incubação e lavagem é adicionada uma imunoglobulina de cabra anti IgG humana ligada à peroxidase para a fixação do imuno-conjugado, o teste volta a incubar. Após nova lavagem é adicionado o substrato para a obtenção da coloração. Essa mudança de cor é utilizada para detetar a presença dos anticorpos anti-PF4/Heparina. A intensidade da cor é proporcional à quantidade de anticorpos ligados e é medida em densidade óptica (DO). A leitura da DO é realizada num leitor de placas definido para ler valores de absorbância a 450 nm, como ilustrado na Figura 9 (55).

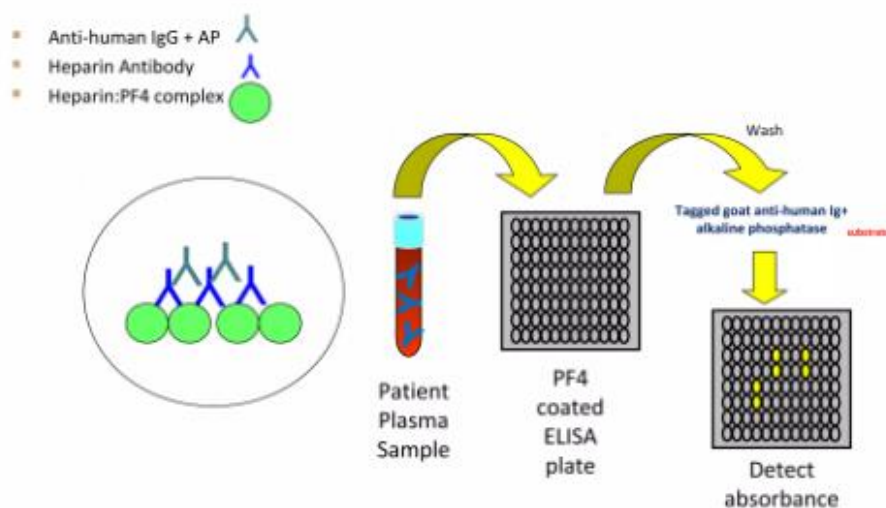


Figura 9 - Imunoensaio ELISA PF4/Heparina (58)

Como o teste ELISA tem um tempo de realização entre 3 – 4 horas e é executado uma vez por dia na maioria dos hospitais, os resultados geralmente não estão disponíveis no momento. Como consequência, doentes com score 4Ts de probabilidade intermediária e alta, muitos dos quais não têm TIH, são tratados empiricamente com um anticoagulante alternativo enquanto aguardam os resultados dos testes. Reconhecendo essa limitação, a diretriz da ASH identificou a "integração de novos imunoensaios rápidos em algoritmos diagnósticos" como uma prioridade de pesquisa urgente (59).

1.10. Tratamento da TIH

Quando um clínico tem pelo menos uma suspeita moderada de TIH, a administração de heparina de qualquer fonte deve ser interrompida. Isso inclui exposição a HBPM, cateteres revestidos de heparina e descargas de heparina. A cessação por si só não é suficiente para prevenir eventos trombóticos.(60)

O risco de trombose subsequente nos 30 dias após a interrupção da terapia com heparina é estimado por baixo em 19% e pode chegar até aos 52%. Dada a alta probabilidade de trombose nos doentes cujos diagnósticos foram confirmados por resultados laboratoriais ou têm alta suspeita de TIH com base apenas na avaliação clínica, é fundamental iniciar imediatamente uma anticoagulação alternativa para reduzir a produção de trombina e prevenir eventos trombóticos (60).

A anticoagulação alternativa inclui inibidores diretos da trombina (Argatroban®, Bivalirudina®) e inibidores diretos do fator Xa (Fondaparinux®). A seleção é multifatorial e deve ter em consideração procedimentos adicionais previstos, o metabolismo dos doentes com função hepática ou renal comprometida, o custo e a disponibilidade do medicamento, bem como a experiência do clínico (61) (1,9).

2. OBJECTIVO

O objetivo deste estudo é avaliar a validade preditiva do Score 4Ts Warkentin num grupo de doentes com suspeita de trombocitopenia induzida por heparina.

3. MÉTODOS

Realizou-se um estudo observacional, analítico e transversal, desenvolvido num hospital do grande Porto. O protocolo deste estudo foi autorizado pelo Conselho de Administração do Centro Hospitalar Universitário S. João, após ter sido aprovado pela Comissão de Ética e pela Comissão de Proteção Dados desta instituição (Anexo I).

3.1. População e amostra

A População em estudo refere-se a todos os registos dos doentes que receberam terapia com HNF, HBPM ou ambas e apresentaram suspeita de trombocitopenia induzida por heparina com base em critérios clínicos e ou laboratoriais.

3.1.1. Critérios de inclusão

Foram incluídos no estudo todos os registos dos doentes internos (CHUSJ) e externos (outras instituições) enviados para o CHUSJ com pedido de análise anti-PF4 entre janeiro de 2017 e dezembro de 2021 nesta instituição.

Nos pedidos internos foi possível aceder às seguintes variáveis: idade, sexo, tipo de heparina prescrita, score 4Ts e ao resultado dos testes de imunoensaio.

Já nos pedidos externos só foi possível ter acesso às seguintes variáveis: idade, sexo e resultado do teste de imunoensaio. Não foi possível efetuar o cálculo do score 4Ts, nem saber o tipo de heparina utilizada, visto não termos tido acesso a essa informação clínica. No entanto, considerou-se a inclusão destes pedidos no estudo, uma vez que se obtiveram dois episódios com testes ELISA positivos, pelo que não fazia sentido a sua exclusão para efeitos estatísticos.

3.1.2. Variáveis

As seguintes variáveis foram registadas numa base de dados elaborada especificamente para o efeito em Microsoft Excel 365™, tendo-se concentrado aqui os registos dos sistemas HS-Sislab (CPC-HS) e do SClínico™ (CSP V. 2.8):

- Idade: idade do doente no momento da colheita da análise anti-PF4
- Sexo: M/F
- Resultado do teste de rastreio (STic® Expert HIT, Stago)
- Resultado do teste confirmatório (ELISA Asserachrom® HPIA-IgG, Stago)
- Tipo de heparina: HNF, HBPM
- Serviço de origem do doente
- Score 4Ts

Para o cálculo do score 4Ts (Tabela 3) em cada doente foram recolhidas as seguintes variáveis:

- **Trombocitopenia** – calculada a percentagem de diminuição da contagem de plaquetas entre o valor de plaquetas inicial e o nadir de plaquetas.
 - Valor de plaquetas inicial – valor de plaquetas no dia que inicia a heparina.
 - Nadir de plaquetas – valor de plaquetas mais baixo entre o 1º dia e o 10º dia após a introdução da heparina ou no dia em que é pedido o teste nos casos em que a queda só se inicia após os 10 dias.
- **Tempo de queda** – considerado o tempo de início da redução das plaquetas desde o 1º dia em que iniciou a heparina.
- **Trombose** – considerado evento trombótico quando descrito em diário clínico ou codificado o evento no SClínico™.
- **Outras causas de trombocitopenia**

No estudo definiu-se como Score 4Ts positivo para TIH os scores ≥ 5 e como Scores negativos para TIH os scores ≤ 4 . Os doentes com scores intermédios (4–5) e altos (6–8) têm respetivamente 14% e 64% de probabilidade de desenvolver TIH (62).

Neste estudo foram analisados os resultados de dois testes para o diagnóstico da TIH: o teste imunoensaio de fluxo lateral (*STic[®] Expert HIT, Stago*) e o teste imunoenzimático específico para H-PF4 (*Asserachrom[®] HPIA – IgG*). O primeiro é utilizado a nível do laboratório de hemóstase como teste de rastreio, e o segundo como teste confirmatório dos resultados positivos obtidos no teste de rastreio. O teste ELISA é o padrão ouro permitindo assim a confirmação ou exclusão do diagnóstico de TIH.

3.2. Tratamento dos dados

- A probabilidade clínica pré teste de TIH foi definida através da pontuação obtida no score 4Ts Warkentin como: baixa, intermédia e alta (Tabela 3).
- A validade preditiva do score 4Ts comparada com os resultados do teste *STic[®] Expert* e ELISA (*Asserachrom[®] HPIA IgG*) foi avaliado pela sensibilidade, especificidade, valor preditivo negativo (VPN) e valor preditivo positivo (VPP).
- A análise estatística foi realizada com o apoio dos programas Microsoft Excel 365™ e IBM SPSS Statistics 28™.

4. RESULTADOS

Foram identificados no período em estudo um total de 290 episódios clínicos correspondentes a 265 doentes. Na amostra em estudo, a média de idades foi de $60,71 \pm 19,02$ anos, com idade mínima de um ano e máxima de 97 anos (Gráfico 1); em relação ao sexo 52,8% (n=140) dos doentes eram do sexo masculino (Gráfico 2).

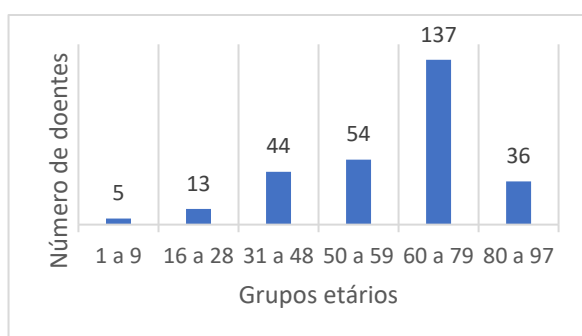


Gráfico 1 - Distribuição das idades dos doentes em anos

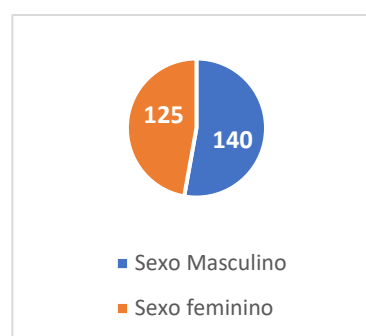


Gráfico 2 - Distribuição do sexo dos doentes

Relativamente à terapêutica com heparina, foi obtida a informação em 260 episódios clínicos, dos quais 124 (47,7%) apresentavam registos de terapêutica com HBPM e 181 (69,6%) terapêutica com HNF, existindo uma sobreposição de ambas em 45 desses episódios (17,3%) (Gráfico 3).

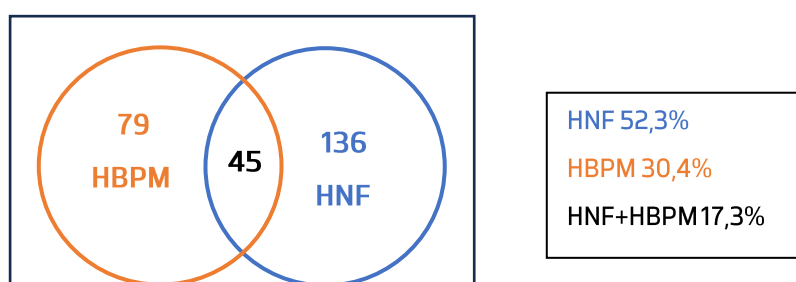


Gráfico 3 - Terapêutica com Heparina

Em relação ao local de internamento 46,55% dos episódios correspondiam a doentes internados em unidades de cuidados intensivos (UCI) e intermédios, dos quais 31,85% encontravam-se em

Extra Corporeal Membrane Oxygenation (ECMO) e 18,52% tinham como diagnóstico COVID-19. Foram intervencionados pela cirurgia cardiotorácica ou cirurgia ortopédica cerca de 25,86% dos episódios. O Gráfico 4 representa a distribuição dos episódios pelos respetivos serviços.

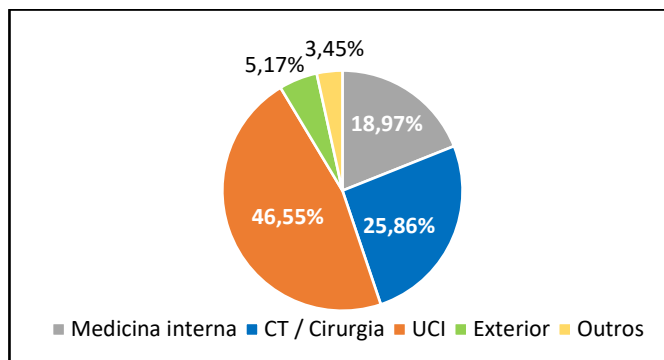


Gráfico 4 - Internamento clínico dos episódios

No que diz respeito à avaliação da probabilidade pré-teste de trombocitopenia induzida pela heparina de acordo com o Score 4Ts, foi possível realizar o seu cálculo em 257 episódios, dos quais: 184 (71,6%) eram de **baixa probabilidade**, 66 (25,7%) eram de **probabilidade intermédia** e 7 (2,7%) eram de **alta probabilidade**, como podemos observar na Tabela 5.

Tabela 5 - Avaliação da probabilidade pré teste de TIH de acordo com o Score 4Ts

	Score 4 Ts	n	%
Baixa	0	8	3,1
	1	21	8,2
	2	67	26,1
	3	88	34,2
Subtotal		184	71,6
Intermédia	4	51	19,9
	5	15	5,8
Subtotal		66	25,7
Alta	6	4	1,5
	7	3	1,2
	8	0	0
Subtotal		7	2,7
TOTAL		257	100

Do total dos episódios avaliados pelo imunoensaio **STic[®] Expert HIT**, 21 episódios (7,2%) apresentaram resultado **Positivo**. Nestes 21 episódios clínicos foi realizado um teste confirmatório imunoenzimático **ELISA (Asserachrom[®] HPIA – IgG)**. No teste ELISA obteve-se um resultado **Positivo** em 18 episódios (85,7%) e um resultado **Negativo** em 3 episódios (14,3%).

Importa referir que, dos **18 doentes** que se consideraram com **diagnóstico clínico de TIH – teste imunoenzimático ELISA (Asserachrom[®] HPIA–IgG) Positivo** – cinco apresentavam *score* = 4; cinco apresentavam *score*= 5; quatro apresentavam *score*= 6 e dois apresentavam *score*= 7. Em dois episódios não foi possível o cálculo do *score* 4Ts.

No Gráfico 5 são apresentados os resultados dos testes **STic[®]Expert HIT** e **ELISA (Asserachrom[®] HPIA – IgG)** de acordo com o *Score* 4Ts.

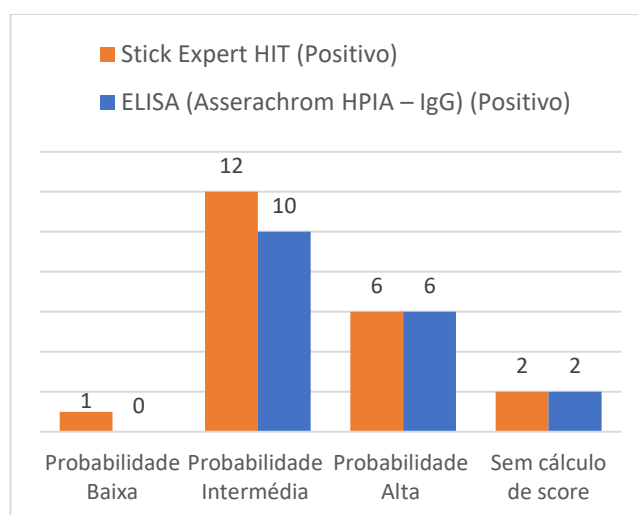


Gráfico 5 -Resultado dos testes STic[®]Expert HIT e ELISA (Asserachrom[®] HPIA–IgG) de acordo com o Score 4Ts

Legenda: Probabilidade Baixa – *score* ≤ 3; Probabilidade Intermédia – *score* 4 a 5; Probabilidade Alta *score* ≥ 6.

Nos gráficos abaixo encontramos a análise dos dados demográficos e tipo de heparina prescrita nos **18 doentes com o diagnóstico de TIH**. Relativamente ao sexo 72,2% dos doentes eram do sexo feminino e a média das idades foi de 60,06 ± 18,92 anos, com idade mínima de 24 anos e máxima de 93 anos (Gráficos 6 e 7).

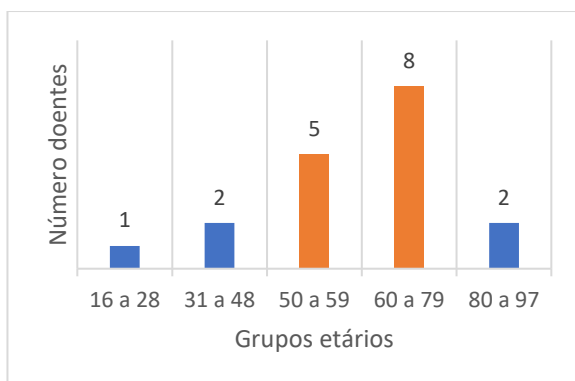


Gráfico 6 – Distribuição das idades dos doentes com TIH em anos

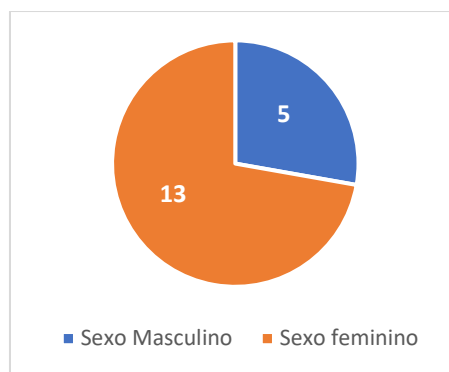


Gráfico 7 – Distribuição do sexo dos doentes com TIH

Em dez doentes estava a ser realizada terapêutica com HNF, em quatro HBPM, em dois foram prescritas ambas e em dois doentes não foi possível confirmar o tipo de terapêutica anticoagulante que havia sido prescrita (Gráfico 8).

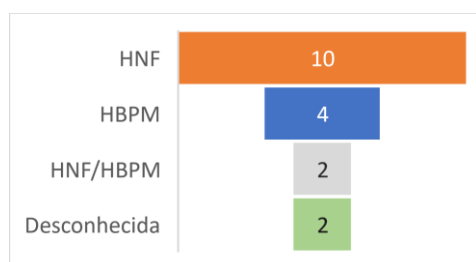


Gráfico 8 – Terapêutica dos doentes com TIH

Os serviços de internamento dos doentes com TIH foram as unidades de cuidados intensivos, a cirurgia cardiotorácica, a cirurgia geral e dois doentes vieram encaminhados do exterior (Gráfico 9).

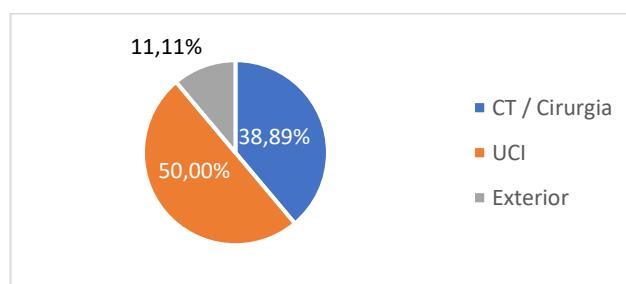


Gráfico 9 – Internamento dos doentes com TIH

Nos doentes com o diagnóstico de TIH a média da contagem das plaquetas foi de $176 \times 10^9/L$ antes do início da terapêutica com heparina como observado no gráfico caixa de cordel (Gráfico 10). O nadir médio de plaquetas no dia em que houve suspeita da TIH foi de $61 \times 10^9 /L$ e a percentagem média da queda na contagem plaquetária foi de 63,8%, tendo esta ocorrido maioritariamente entre o 5º a 10º dia após o início da heparina (Gráficos 10 e 11).

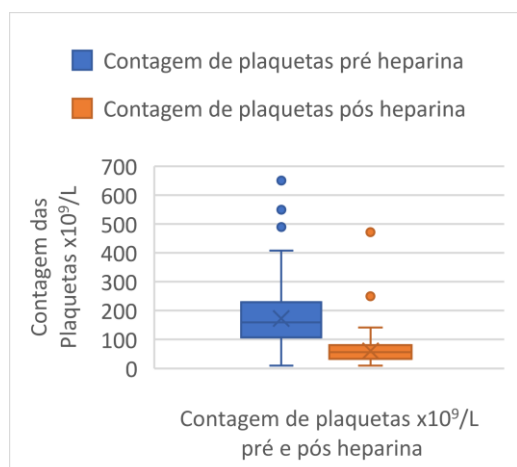


Gráfico 10 - Contagem de plaquetas inicial e após heparina nos doentes com TIH

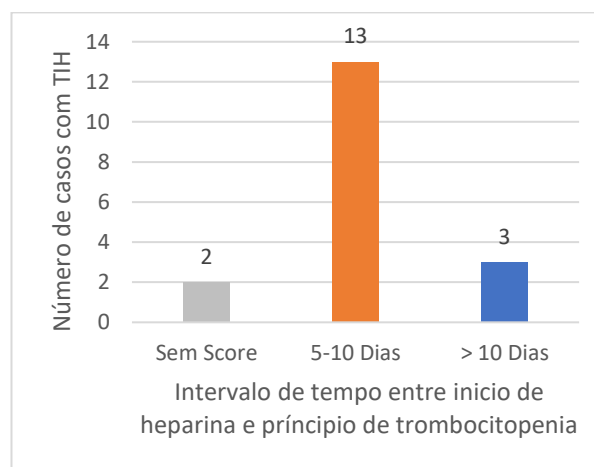


Gráfico 11 – Intervalo de tempo e o aparecimento de TIH

No âmbito da **Validade Preditiva**, para ser trabalhada uma variável dicotómica, definiu-se como **Score 4Ts positivo** os que pontuam ≥ 5 e **negativo** os que pontuam ≤ 4 . Assim, neste estudo, a utilização do Score 4Ts, apresenta uma **Sensibilidade** de 68,75%, **Especificidade** de 95,44%, **Valor Preditivo Positivo** de 49,89% e **Valor Preditivo Negativo** de 97,88% como podemos observar nas Tabelas 6 e 7.

Tabela 6 - Validade Preditiva do Score 4Ts

Teste ELISA		Score 4Ts		Total
		Positivo (≥ 5)	Negativo (≤ 4)	
Teste ELISA	Positivo	11	11	22
	Negativo	5	230	235
Total		16	241	257

Tabela 7 – Prevalência, Sensibilidade, Especificidade, VPN e VPP do Score 4Ts

Score 4Ts				
Prevalência	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
6,2	68,75	95,44	50,00	97,87

5. DISCUSSÃO

A trombocitopenia induzida por heparina (TIH) é uma complicação que frequentemente se suspeita nos doentes a realizar terapêutica com heparina, mas em muitos casos, é identificada outra causa que explica a diminuição na contagem de plaquetas.

Em relação às características dos doentes deste estudo com o diagnóstico de TIH confirmado, estão de acordo com as descritas na literatura (63). A média de idades encontrada foi 60 anos, em relação ao sexo 72,2 % pertenciam ao sexo feminino e 55,5% tinham como terapêutica HNF. A queda na contagem plaquetária ocorreu maioritariamente entre o 5^o a 10^o dia após o início da terapêutica com heparina.

O estudo identificou algumas limitações em relação ao cálculo do score 4Ts, que foi realizado retrospectivamente. Houve dificuldade em obter todas as informações nos registos clínicos no que diz respeito ao tipo de heparina prescrita, a ocorrência de eventos trombóticos e outras causas de trombocitopenia que podem não estar bem documentadas nos diários clínicos dos doentes. Essa falta de informação ocorreu com mais frequência nos episódios que vieram do exterior.

No nosso estudo 46,6% dos doentes estavam internados em UCI, onde a etiologia da trombocitopenia é muitas vezes multifatorial. Estes doentes têm doenças concomitantes, multisistémicas e estão sujeitos a múltiplos tratamentos que podem provocar uma trombocitopenia, o que dificulta o cálculo do score 4Ts.

Essa dificuldade também foi verificada num estudo realizado por Vishal Jindal et al (2) onde a grande maioria dos doentes eram provenientes de UCI (63,4%). Vishal constatou que a grande parte dos doentes não foi avaliado adequadamente pelo score 4T, o que levou a um pedido de testes anticorpos PF4/Heparina, desproporcional para uma UCI.

Por outro lado, Linkins et al (64) também salienta a importância de doentes com suspeita de TIH poderem ter mais do que uma causa de trombocitopenia, e que o score 4Ts sozinho pode ser insuficiente para excluir a TIH nos doentes mais complexos. Realça também que quando não é possível o cálculo do score por falta de registo do uso prévio de heparina e sua duração, deve ser incluída a realização de um teste de imunoensaio rápido (64).

Num outro estudo, Cuker et al (65) refere numa revisão sistemática e meta-análise, que um score 4Ts de baixa probabilidade é um meio robusto de excluir a TIH. Menciona também que a integração do score 4Ts na avaliação inicial de doentes com suspeita de TIH pode reduzir o excesso de testes, o sobrediagnóstico e o sobretratamento desta patologia.

A validade preditiva do score 4Ts foi calculada para avaliar a sua capacidade de antecipar corretamente o diagnóstico de TIH, ou de o excluir. Os resultados corroboram o elevado VPN do score 4Ts em estudos já efetuados (99,8%) (65). No nosso estudo, 71,6% dos episódios foram classificados com uma baixa probabilidade pré teste de TIH, o que nos indica a sua eficácia em identificar doentes com baixo risco de TIH. Neste estudo, se os doentes tivessem sido adequadamente avaliados pelo score 4Ts, nos doentes com baixa probabilidade (n=184), em que não houve dúvidas no respetivo cálculo, o teste imunoensaio STic® Expert HIT podia ter sido evitado. E em alguns desses doentes a terapia com heparina não tinha sido descontinuada enquanto se aguardava pelo resultado do teste. Tendo em consideração que perante um resultado duvidoso ou positivo (o teste é qualitativo), teve de se esperar pela realização do teste

ELISA (Asserachrom® HPIA–IgG) que não é efetuado durante a urgência, o que levou a um atraso crítico no diagnóstico ou exclusão da TIH.

Sugerimos por isso a implementação das atuais diretrizes internacionais (ASH 2018) (50) no cálculo do score 4Ts na prática clínica, com exceção de situações clínicas atípicas em que mesmo perante scores de baixa probabilidade, a exclusão da realização de testes laboratoriais pode ser pertinente pelo risco trombótico (infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral, oclusão de artéria de membro) ou hemorrágico (outra etiologia da trombocitopenia) associado, devendo o clínico avaliar tais situações.

Em termos de custo, o imunoensaio rápido (STic® Expert HIT) é mais caro quando comparado com o teste ELISA (múltiplas amostras podem ser estudadas de uma só vez) (66). No entanto, a disponibilidade na urgência hospitalar 24 horas por dia pode reduzir o intervalo de tempo entre a suspeita e o diagnóstico de TIH. É importante reduzir a exposição desnecessária de doentes com trombocitopenia sem TIH a anticoagulantes alternativos dispendiosos e aos seus riscos associados.

6. CONCLUSÃO

O nosso estudo verificou que muitos dos episódios não foram adequadamente avaliados pelo score 4Ts antes da realização do teste de rastreio, o que demonstra uma necessidade de melhorar a consciencialização dos clínicos em relação ao cálculo do score e sobre importância da probabilidade clínica pré teste.

Este estudo confirma os anteriores (Vishal et al) (2) sobre a importância da implementação do score 4Ts na prática clínica, para uma correta solicitação de testes de imunoensaio anti-PF4/Heparina e evitar assim investigação excessiva e gastos desnecessários. Propomos por isso uma abordagem diagnóstica integrada que combine o quadro clínico (score 4Ts) com a realização de um teste imunoensaio rápido STic® Expert HIT, apenas quando assim se justificar.

Seria muito relevante ponderar a implementação a nível informático de no momento da realização do pedido do teste anti PF4/H, a obrigatoriedade do preenchimento de um campo com o resultado obtido no cálculo do score 4Ts, para garantir a sua realização e verificar a necessidade do teste de imunoensaio.

É muito importante que os clínicos que cuidam dos vários doentes estejam cientes de que a trombocitopenia pode representar um sinal de alerta precoce da TIH, e por isso é fundamental realizar contagens plaquetárias de rotina em pacientes de alto risco, embora existam diferentes diretrizes sobre quais pacientes devem ser monitorados e com que frequência (50).

Com vigilância clínica e elevado grau de suspeição, o diagnóstico pode ser confirmado numa fase inicial da doença e iniciadas terapêuticas anticoagulantes alternativas adequadas, resultando na redução da morbidade e mortalidade.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Páramo JA, Lozano ML, González-Porras JR, Mateo J. Current status of diagnosis and treatment of heparin-induced thrombocytopenia (HIT). *Med Clin (Barc)*. 2022 Jan 21;158(2):82–9.
2. Jindal V, Singh A, Siddiqui AD, Leb L. The Appropriateness of Testing Platelet Factor 4/Heparin Antibody in Patients Suspected of Heparin-induced Thrombocytopenia. *Cureus*. 2018 Oct 31;
3. Arepally GM. Review Series Heparin-induced thrombocytopenia. *Blood* [Internet]. 2017 May 17;129(21):2864–72. Available from: <http://ashpublications.org/blood/article-pdf/129/21/2864/1400738/blood709873.pdf>
4. Arepally G, Cines DB. The Pathogenesis and Clinical Relevance of Heparin-Induced Autoantibodies. *The Decade of Autoimmunity*. 1999 Jan 1;157–68.
5. Favalaro EJ, Pasalic L, Lippi G. Antibodies against Platelet Factor 4 and Their Associated Pathologies: From HIT/HITT to Spontaneous HIT-Like Syndrome, to COVID-19, to VITT/TTS. Vol. 11, *Antibodies*. MDPI; 2022. p. 1–13.
6. Greinacher A, Gopinadhan M, Günther JU, Omer-Adam MA, Strobel U, Warkentin TE, et al. Close approximation of two platelet factor 4 tetramers by charge neutralization forms the antigens recognized by HIT antibodies. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006 Oct;26(10):2386–93.
7. Warkentin TE. Platelet-activating anti-PF4 disorders: An overview. *Semin Hematol*. 2022 Apr 1;59(2):59–71.
8. Franchini M. Heparin-induced thrombocytopenia: An update. Vol. 3:14, *Thrombosis Journal*. 2005. p. 1–5.
9. Hogan M, Berger JS. Heparin-induced thrombocytopenia (HIT): Review of incidence, diagnosis, and management. *Vascular Medicine (United Kingdom)*. 2020 Apr 1;25(2):160–73.
10. Arepally GM, Padmanabhan A. Heparin-Induced Thrombocytopenia; A Focus on Thrombosis. Vol. 41, *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. Lippincott Williams and Wilkins; 2021. p. 141–52.

11. Warkentin TE. Laboratory diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. Vol. 41, International Journal of Laboratory Hematology. Blackwell Publishing Ltd; 2019. p. 15–25.
12. Jandrot-Perrus M, Nurden P. Des fonctions plaquettaires aux implications thérapeutiques. Revue de Medecine Interne. 2010 Dec;31(SUPPL. 3).
13. Kamath S, Blann AD, Lip GYH. Platelet activation: Assessment and quantification. Vol. 22, European Heart Journal. 2001. p. 1561–71.
14. Fritsma GA. Platelet Structure and Function. Clinical Laboratory Science [Internet]. 2015;28(2):125–31. Available from: <http://hwmain.clsjournal.ascls.org/>
15. Periyah MH, Halim AS, Zaharil A, Saad M. Mechanism Action of Platelets and Crucial Blood Coagulation Pathways in Hemostasis. International Journal of Hematology-Oncology and Stem Cell Research IJHOSCR. 2017;11(4).
16. Castro HC, Leal B, Ferreira A, Nagashima T, Schueler A, Rueff; Carlos, et al. Plaquetas: ainda um alvo terapêutico. Journal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial. 2006;42:321–32.
17. Onishi A, St Ange K, Dordick JS, Linhardt RJ. Heparin and anticoagulation. Vol. 21, Frontiers in Bioscience. 2016.
18. Holinstat M. Normal platelet function. Vol. 36, Cancer and Metastasis Reviews. Springer New York LLC; 2017. p. 195–8.
19. N George J. Platelets Lancet 2000. The Lancet. 2000;355:1531–9.
20. Gremmel T, Frelinger AL, Michelson AD. Platelet physiology. Vol. 42, Seminars in Thrombosis and Hemostasis. Thieme Medical Publishers, Inc.; 2016. p. 191–204.
21. Broos K, Feys HB, de Meyer SF, Vanhoorelbeke K, Deckmyn H. Platelets at work in primary hemostasis. Blood Rev. 2011 Jul;25(4):155–67.
22. Kakkar V. Prevention of Postoperative Venous Thromboembolism by a New Low Molecular Weight Heparin Fraction. In: Cajozzo A, Perricone R, di Marco P, Palazzolo P, editors. Advances in Hemostasis and Thrombosis [Internet]. Boston, MA: Springer US; 1985. p. 289–302. Available from: https://doi.org/10.1007/978-1-4615-9424-6_28
23. Molina Castaño D, Campos Quesada M, Núñez Guerrero A. Historia de los anticoagulantes y su uso clínico en el presente. Revista Medica Sinergia. 2020 Feb 1;5(2):e365.
24. Beurskens DMH, Huckriede JP, Schrijver R, Hemker HC, Reutelingsperger CP, Nicolaes GAF. The Anticoagulant and Nonanticoagulant Properties of Heparin. Thromb Haemost. 2020 Oct 1;120(10):1371–83.

25. Heestermans M, Poenou G, Hamzeh-Cognasse H, Cognasse F, Bertolotti L. Anticoagulants: A Short History, Their Mechanism of Action, Pharmacology, and Indications. *Cells*. 2022 Oct 1;11(20):1–17.
26. Nicolas D NSHA et al. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. 2022 [cited 2022 Dec 11]. Heparin Induced Thrombocytopenia. [Updated 2022 Oct 3]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482330/>
27. Marmur JD, Bullock-Palmer RP, Poludasu S, Cavusoglu E. Avoiding Intelligence Failures in the Cardiac Catheterization Laboratory: Strategies for the Safe and Rational Use of Dalteparin or Enoxaparin during Percutaneous Coronary Intervention. Vol. 21, *J INVASIVE CARDIOL*. 2009.
28. Kumano O, Akatsuchi K, Amiral J. Updates on anticoagulation and laboratory tools for therapy monitoring of heparin, vitamin k antagonists and direct oral anticoagulants. Vol. 9, *Biomedicines*. MDPI AG; 2021.
29. Jeffrey Weitz MD. Low Molecular Weight Heparins. *N Engl J Med*. 1997;337:688–98.
30. Kandula V, Shah P v, Thirunavu VM, Yerneni K, Karras C, Abecassis ZA, et al. Low-molecular-weight Heparin (enoxaparin) versus unfractionated heparin for venous thromboembolism prophylaxis in patients undergoing craniotomy. *Clin Neurol Neurosurg* [Internet]. 2022;223:107482. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0303846722003638>
31. Aláez-Versón CR, Lantero E, Fernàndez-Busquets X. Heparin: New life for an old drug. Vol. 12, *Nanomedicine*. Future Medicine Ltd.; 2017. p. 1727–44.
32. Gruel Y, de Maistre E, Pouplard C, Mullier F, Susen S, Rouillet S, et al. Diagnosis and management of heparin-induced thrombocytopenia. *Anaesth Crit Care Pain Med*. 2020 Apr 1;39(2):291–310.
33. Smock KJ, Perkins SL. Thrombocytopenia: An update. Vol. 36, *International Journal of Laboratory Hematology*. Blackwell Publishing Ltd; 2014. p. 269–78.
34. Sekhon SS, Roy V. CME Topic Thrombocytopenia in Adults: A Practical Approach to Evaluation and Management. *South Med J* [Internet]. 2006;99:491–8. Available from: www.ctep.cancer.gov/reporting/ctc.html
35. Erkurt. Thrombocytopenia in Adults: Review Article. *J Hematol*. 2012;
36. Longhi F et al. Trombocitopenia induzida por heparina. *Revista Brasileira Hematologia Hemoterapia*. 2001;93–9.

37. Pavanelli MF, Spitzner FL. Trombocitopenia Induzida por Heparina: Revisão da Literatura. UNOPAR Cient Ciên Biol Saúde. 2011;13:325–32.
38. Ahmed I, Majeed A, Powell R. Heparin induced thrombocytopenia: Diagnosis and management update. Vol. 83, Postgraduate Medical Journal. 2007. p. 575–82.
39. Fischer KG. Mechanism and Clinical Presentation 2001. Hemodialysis International. 2001;5:74–80.
40. Warkentin TE. Heparin-induced thrombocytopenia: pathogenesis and management. Br J Haematol [Internet]. 2003 May 1;121(4):535–55. Available from: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.2003.04334.x>
41. Shaikh N, Chanda A, Ganaw A, Raiz S, Ehfeda M, Shible A, et al. Heparin-Induced Thrombocytopenia: Facts and Figures. Journal of Blood Transfusion and Diseases [Internet]. 2019; Available from: www.scitcentral.com
42. Warkentin T. HEPARIN-INDUCED THROMBOCYTOPENIA: PATHOGENESIS AND MANAGEMENT. Br J Haematol [Internet]. 2003;212:535–55. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2141.2003.04334.x>
43. Warkentin TE, Sheppard JAI, Moore JC, Cook RJ, Kelton JG. Studies of the immune response in heparin-induced thrombocytopenia. Blood. 2009;113:4963–9.
44. Bailly J, Haupt L, Joubert J, Loebenberg P, Jacobson BF, Louw VJ, et al. Heparin-induced thrombocytopenia: An update for the COVID-19 era. Vol. 111, South African Medical Journal. South African Medical Association; 2021. p. 841–8.
45. Revelly E, Scala E, Rosner L, Rancati V, Gunga Z, Kirsch M, et al. How to Solve the Conundrum of Heparin-Induced Thrombocytopenia during Cardiopulmonary Bypass. J Clin Med [Internet]. 2023 Jan 18;12(3):786. Available from: <https://www.mdpi.com/2077-0383/12/3/786>
46. Acanfora D, Acanfora C, Ciccone MM, Scicchitano P, Bortone AS, Ugucioni M, et al. The cross-talk between thrombosis and inflammatory storm in acute and long-covid-19: Therapeutic targets and clinical cases. Viruses. 2021 Oct 1;13(10).
47. Arepally GM, Cines DB. Pathogenesis of heparin-induced thrombocytopenia. Vol. 225, Translational Research. Mosby Inc.; 2020. p. 131–40.
48. Baroletti S, Hurwitz S, Conti NAS, Fanikos J, Piazza G, Goldhaber SZ. Thrombosis in Suspected Heparin-induced Thrombocytopenia Occurs More Often with High Antibody

- Levels. *Am J Med* [Internet]. 2012;125(1):44–9. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002934311006309>
49. 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). *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2011;106(6):1197–202.
 50. Cuker A, Arepally GM, Chong BH, Cines DB, Greinacher A, Gruel Y, et al. American Society of Hematology 2018 guidelines for management of venous thromboembolism: Heparin-induced thrombocytopenia. Vol. 2, *Blood Advances*. American Society of Hematology; 2018. p. 3360–92.
 51. Sahu KK, Jindal V, Anderson J, Siddiqui AD, Jaiyesimi IA. Current perspectives on diagnostic assays and anti-pf4 antibodies for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. Vol. 11, *Journal of Blood Medicine*. Dove Medical Press Ltd; 2020. p. 267–77.
 52. Kumar N, Uppal V, Ahluwalia J, Malhotra P, Varma N, Jain A. Evaluation of STic Expert @ HIT Kit and Its Comparison with ID-PaGIA™ Test in Suspected Heparin-Induced Thrombocytopenia. *Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion*. 2019 Jan 25;35(1):155–60.
 53. Rittener-Ruff L, Marchetti M, Grandoni F, Gomez FJ, Alberio L. Combinations of rapid immunoassays for a speedy diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *Journal of thrombosis and haemostasis* [Internet]. 2022;20:2407–18. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jth.15811>
 54. Favalaro EJ, Pasalic L, Henry B, Lippi G. Laboratory testing for platelet factor 4 antibodies: differential utility for diagnosis/exclusion of heparin induced thrombocytopenia versus suspected vaccine induced thrombotic thrombocytopenia. *Pathology* [Internet]. 2022;54(3):254–61. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003130252100831X>
 55. Bakchoul T, Zöllner H, Greinacher A. Current insights into the laboratory diagnosis of HIT. Vol. 36, *International Journal of Laboratory Hematology*. Blackwell Publishing Ltd; 2014. p. 296–305.
 56. Berroëta C, Crespin M, Bouabdallah K, Pargade S, Huchet FX, Bourel P, et al. Diagnostic Performance of a New Rapid Lateral Flow Immunoassay in Patients Suspected of Heparin-Induced Thrombocytopenia and Its Clinical Consequences. *Semin Thromb Hemost*. 2015 Nov 23;42(1):69–74.

57. Abudouleh E, Alhamshari A, Al-Qahtani AA, Aguilos A, Owaidah T. Comparison of HIT Tests in Patients with COVID-19 and Thrombocytopenia. *J Blood Med.* 2022;13:357–61.
58. Samuelson Bannow B, Warad DM, Jones CG, Pechauer SM, Curtis BR, Bougie DW, et al. A prospective, blinded study of a PF4-dependent assay for HIT diagnosis. 2021; Available from: <http://ashpublications.org/blood/article-pdf/137/8/1082/1800893/bloodbld2020008195.pdf>
59. Cuker Adam, Cines Douglas. Diagnosing HIT: the need for speed. Vol. 135, *Blood*. American Society of Hematology; 2020. p. 1080–2.
60. Salter BS, Weiner MM, Trinh MA, Heller J, Evans AS, Adams DH, et al. THE PRESENT AND FUTURE Heparin-Induced Thrombocytopenia A Comprehensive Clinical Review. 2016.
61. Kelton JG, Arnold DM, Bates SM. Nonheparin Anticoagulants for Heparin-Induced Thrombocytopenia. *New England Journal of Medicine.* 2013 Feb 21;368(8):737–44.
62. Gallo T, Curry SC, Padilla-Jones A, Heise CW, Ramos KS, Woosley RL, et al. A computerized scoring system to improve assessment of heparin-induced thrombocytopenia risk. *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* 2019 Feb 1;17(2):383–8.
63. Warkentin TE, Sheppard JAI, Sigouin CS, Kohlmann T, Eichler P, Greinacher A. Gender imbalance and risk factor interactions in heparin-induced thrombocytopenia. *Blood.* 2006 Nov 1;108(9):2937–41.
64. Linkins LA, Bates SM, Lee AYY, Heddle NM, Wang G, Warkentin TE. Combination of 4Ts score and PF4/H-PaGIA for diagnosis and management of heparin-induced thrombocytopenia: prospective cohort study. 2015; Available from: www.bloodjournal.org
65. 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* [Internet]. 2012;120:4160–7. Available from: <http://ashpublications.org/blood/article-pdf/120/20/4160/1360310/zh804612004160.pdf>
66. Gardiner EE, Andrews RK, Cuker A. Diagnostics assays for heparin-induced thrombocytopenia. *Br J Haematol.* 2014;166(5):631–3.


ANEXOS

Centro de Epidemiologia Hospitalar

Tomei conhecimento. Nada a opor. À DC.

17 de Fevereiro de 2023

A Diretora do Centro de Epidemiologia Hospitalar



(Prof.ª Doutora Ana Azevedo)



n.º 338 / 22

DIRECÇÃO CLÍNICA
23.02.2023

PEDIDO DE AUTORIZAÇÃO
Realização de Investigação

Deliberado concordar, nos termos legais em vigor.

Exmo. Senhor Presidente do Conselho de Administração do Centro Hospitalar de São João

02 MAR 2023

CONSELHO DE ADMINISTRAÇÃO CHUSJ, EPE - REUNIÃO DE
Presidente do Conselho de Administração

(Prof.ª Doutora Maria João Baptista)

Diretor Clínico	Enfermeiro Director	Yogal Executiva	Yogal Executiva
			
Prof. Doutor Roberto Ronconi	Enl.ª Paula Emília Mata	Dra. Fernanda Oliveira	Dra. Sílvia Lael

Nome do Investigador Principal:

Joana Barbosa Ferreira de Lemos Baldaque

Título da Investigação:

Avaliação de um teste de imunoensaio de fluxo lateral rápido (Stic Expert® HIT) para o diagnóstico de trombocitopenia induzida por heparina – Experiência de um hospital terciário

Pretendendo realizar no(s) Serviço(s) de:

Imunohemoterapia

a investigação em epígrafe, solicito a V. Exa., na qualidade de Investigador/Promotor, autorização para a sua efetivação.

Para o efeito, anexo toda a documentação referida no dossier da Comissão de Ética do Centro Hospitalar de São João/ Faculdade de Medicina da Universidade do Porto respeitante à investigação, à qual enderecei pedido de apreciação e parecer.

Com os melhores cumprimentos.

O Investigador/Promotor

Porto, 30 de Novembro de 2022 .





Encarregado de Protecção de Dados
Data Protection Officer

Entrada: 09.01.2023

assinatura
• Centro Hospitalar São João •
Centro de Epidemiologia Hospitalar

10.2.2023



CES-IM005-0

Parecer da Comissão de Ética do
Centro Hospitalar Universitário de São João / Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

Título do Projeto: Avaliação de um teste de imunoensaio de fluxo lateral rápido (Stic Expert® HIT) para o diagnóstico de trombocitopenia induzida por heparina - Experiência de um hospital terciário

Nome da Investigadora Principal: Joana Barbosa Ferreira de Lemos Baldaque

Onde decorre o Estudo: No Serviço de Imunohemoterapia do CHUSJ. Apresentou declaração Dra. Maria do Carmo Koch.

Objetivos do Estudo:

O objetivo do ensaio é a obtenção e avaliação dos resultados (positivos/negativos) do teste de imunoensaio de fluxo lateral rápido (Stic Expert HIT) num grupo de doentes com suspeita de trombocitopenia induzida por heparina, com a finalidade de correlacionar os resultados desse teste para a pesquisa de Ac Anti PF4 com o sistema de pontuação pré clínico 4T (Warkentin) e com o teste ELISA (Asserachrom HPIA – IgG). Estudo realizado no âmbito do Mestrado em Imunohemoterapia e Transplantação da Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Porto, do IPP, sob orientação da Dra. Inês Salvador e da TDT Dina Hortelão.

Conceção e Pertinência do estudo:

O risco elevado do doente desenvolver um estado protrombótico potencialmente fatal na presença de anticorpos anti PF4/H, leva à necessidade de urgência no resultado laboratorial para confirmação de diagnóstico de Trombocitopenia induzida por heparina. A suspensão da heparina e sua substituição por outro anticoagulante poderá vir a ser feita mais precocemente se se demonstrar correlação entre o score pré clínico e o resultado do teste de rastreio e o teste confirmatório.

Estudo retrospectivo.

Tamanho amostral de aproximadamente 200 participantes.

Benefício/risco:

Não existem riscos associados a este estudo.

Confidencialidade dos dados:

Apenas serão recolhidos dados pseudoanonimizados através de codificação e siglas.

Apresentou um pedido de reutilização de registos clínicos para Investigação e Desenvolvimento ao RAI, e uma 'avaliação sobre o impacto da proteção de dados' para o EPD.

Respeito pela liberdade e autonomia do sujeito de ensaio: Não aplicável

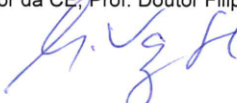
Curriculum da investigadora: Adequado à investigação.

Data previsível da conclusão do estudo: junho de 2023

Conclusão: Proponho um parecer favorável à realização do estudo.

Porto, 16 de dezembro de 2022

O Relator da CE, Prof. Doutor Filipe Almeida

PKo 

23000151

338-22

Questionário eletrónico



SUBMISSÃO DE PROJETO DE INVESTIGAÇÃO PARA PARECER E AUTORIZAÇÃO



AUTORIZADO U. PORTO FMUP FACULDADE DE MEDICINA (Art. 9º, Lei 2016 de 22/8) UNIVERSIDADE DO PORTO

Preenchimento em formato digital obrigatório

05/01/2023

IDENTIFICAÇÃO DO ESTUDO

Título do projeto: Avaliação de um teste de imunoenensaio de fluxo lateral rápido (Stic Expert® HIT) para o diagnóstico de trombocitopenia induzida por heparina – Experiência de um hospital terciário

Data prevista para início: 1 / 10 / 22 Data prevista para o término: 30 / 06 / 23

EQUIPA DE INVESTIGAÇÃO

1. Investigador principal
 Nome: Joana Barbosa Ferreira de Lemos Baldaque
 Contacto telefónico: 914530463 Endereço eletrónico: joanaferreiralemos@gmail.com
 Afiliação institucional: CHUSJ FMUP Outro: _____
 Serviço/ Departamento: Imunohemoterapia
 Grupo profissional: Técnico Superior Diagnóstico e Terapêutica Cédula Profissional n.º: 2025019
 Formação em Boas Práticas Clínicas (GCP): Não Sim

2. Co-investigadores
 Nome: Inês Isabel Dias Simões Machado Salvador
 Contacto telefónico: 933174800 Endereço eletrónico: ines.machado.91@gmail.com
 Afiliação institucional: CHUSJ
 Grupo profissional: Médica Cédula Profissional n.º: 62183

Nome: Dina Guiomar Quinteiro Hortelão
 Contacto telefónico: 968810770 Endereço eletrónico: dinahortelao@gmail.com
 Afiliação institucional: CHUSJ
 Grupo profissional: Técnica Superior Diagnóstico e Terapêutica Cédula Profissional n.º: 254778010

(acrescentar nº de investigadores, se apropriado ao projeto de investigação)

3. Promotor (se aplicável): _____

CARACTERIZAÇÃO DA INVESTIGAÇÃO

1. Metodologia da investigação
 Qualitativa Mista (qualitativa+quantitativa) Outra. Qual? _____
 Se quantitativa:
 Experimental Observacional Sem intervenção Com intervenção
 Se experimental ou observacional com intervenção, qual o tipo de intervenção?
 Algoritmo de decisão diagnóstica/terapêutica Comunicação
 Outra. Qual? _____

Carteira de Afiliado FMU
SÃO JOÃO HOSPITAL
04/01/2023
T

CARACTERIZAÇÃO DA INVESTIGAÇÃO

2. Aleatorização dos braços de intervenção: Não Sim

3. Se observacional, qual o desenho?

Coorte prospetivo Coorte retrospectivo Caso-controlo
 Transversal Ecológico Outro. Qual? _____

REALIZAÇÃO DA INVESTIGAÇÃO

Local onde se realiza a investigação: CHUSJ FMUP Outro

Serviço/Departamento: Imunohemoterapia / Laboratório de Trombose e Hemostase

Existem outros Centros onde se realizará a investigação? Não Sim. Quais? _____

ENTIDADE(S) QUE TUTELA(M) A INVESTIGAÇÃO

1. CHUSJ – Serviço: Imunohemoterapia

2. FMUP – Departamento: _____

3. Outra instituição. Qual? _____

ORIENTADOR (se aplicável)

Nome: A definir pela ESS-IPP

Afiliação: _____ Endereço eletrónico: _____

PROFISSIONAL DE LIGAÇÃO (se aplicável - ver anexo)

Nome: _____ Serviço: _____

ENQUADRAMENTO DA INVESTIGAÇÃO

Em trabalho académico? Não Sim Conferidor de grau? Não Sim

Síntese dos objetivos:

O objectivo do ensaio é a obtenção e avaliação dos resultados (positivos/negativos) do teste de imunoensaio de fluxo lateral rápido (Stic Expert HIT) num grupo de doentes com suspeita de trombocitopenia induzida por heparina, com a finalidade de correlacionar os resultados desse teste para a pesquisa de Ac Anti PF4 com o sistema de pontuação pré clínico 4T (Warkentin) e com o teste ELISA (Asserachrom HPIA – IgG).

Fundamentação ética (incluir informação sobre o estado da arte, ganhos em conhecimento/ inovação, ponderação geral sobre benefícios/risco):

O risco elevado do doente desenvolver um estado protrombótico potencialmente fatal na presença de anticorpos anti PF4/H, leva à necessidade de urgência no resultado laboratorial para confirmação de diagnóstico de Trombocitopenia induzida por heparina. A suspensão da heparina e sua substituição por outro anticoagulante poderá vir a ser feita mais precocemente se se demonstrar correlação entre o score pré clínico e o resultado do teste de rastreio e o teste confirmatório.

PARTICIPANTES PREVISTOS PARA A INVESTIGAÇÃO

Doentes? Não Sim

Pessoas incapazes do exercício de autonomia? Não Sim

Pessoas menores de 18 anos? Não Sim. Justifique:

Estudo retrospectivo, em base dados HS-Sislab

Voluntários saudáveis? Não Sim. Justifique:

PARTICIPANTES PREVISTOS PARA A INVESTIGAÇÃO

Estão definidos critérios de inclusão / de exclusão de doentes? Não Sim

Onde e como serão recrutados os participantes no estudo?
Estudo retrospectivo, em base dados HS-Sislab

Qual é o tamanho amostral?
 Está prevista a recolha de material biológico específico para a investigação?
 Não Sim. Identifique e justifique:
Tamanho amostral de aproximadamente 200 participantes

BENEFÍCIO/RISCO DE CORRENTE DA PARTICIPAÇÃO

Descreva os benefícios previsíveis:
Possível diagnóstico de trombocitopenia induzida por heparina através dos testes de rastreio anti PF4.

Descreva os riscos/incómodos previsíveis:
Nada a assinalar visto ser um estudo retrospectivo.

CONSENTIMENTO INFORMADO, ESCLARECIDO E LIVRE

Prevê a obtenção de consentimento informado? Sim Não. Justifique:
Não visto ser um estudo retrospectivo.

Se sim, prevê informação escrita para os participantes? _____
 Não. Justifique: **Estudo retrospectivo**
 Sim (se sim, enviar documento de informação a utilizar na investigação)

O modelo para obtenção de consentimento é o modelo institucional do CHUSJ? Não Sim

PROTEÇÃO DE DADOS PESSOAIS

Necessita consultar registos clínicos? Não Sim
 Está previsto o tratamento de dados pessoais? Não Sim
 Se sim, de que forma é garantida a pseudonimização dos dados recolhidos? (codificação, uso de filtros, siglas...)
Codificação e siglas

Descreva o património informacional a que pretende ter acesso (v.g.: nome, idade, data nascimento, idade, morada, diagnóstico, história clínica, tratamento...):
Acesso a resultados clínicos laboratoriais

Está prevista a criação de um Banco de Dados? Não Sim
 Está previsto o registo de som ou de imagem dos participantes? Não Sim
 O estudo envolve investigação genética? Não Sim

PROPRIEDADE INTELECTUAL

De quem será a propriedade intelectual da investigação e seus resultados?
 Investigador Promotor Serviço Todos

DIVULGAÇÃO DOS RESULTADOS

Está prevista a divulgação dos resultados da investigação? Não Sim

Se sim, estão definidos critérios de publicação? Não Sim. Quais? Dissertação de mestrado

CONTRAPARTIDAS PARA OS PARTICIPANTES

Estão previstas contrapartidas para os participantes? Não Sim

Pela participação? Não Sim

Pelas deslocações? Não Sim

Pelas perdas salariais? Não Sim

Por outras perdas e/ou danos? Não Sim

EXAMES COMPLEMENTARES DE DIAGNÓSTICO

Estão previstos exames complementares de diagnóstico, para além dos inerentes à rotina assistencial?

Não Sim. Quais? _____

Por quem serão suportados estes custos?

PROTOCOLO FINANCEIRO

Existe protocolo financeiro com o CHUSJ? Não Sim (se sim, enviar documento)

SEGURO

Este estudo prevê intervenção clínica que implique a existência de um seguro para os participantes?

Não Sim (se sim, junte cópia da respetiva Apólice)

Data previsível para fim das credenciais de acesso: 30 / 06 / 23

DOCUMENTOS ANEXOS (em suporte digital)

Protocolo do estudo

Caderno de recolha de dados (CRF)

Declaração Diretor(es) Serviço(s)

Informação Orientador

Profissional de ligação

Informação aos participantes

Modelo de consentimento a utilizar

Instrumentos de avaliação (escalas...)

Curriculum vitae (investigador/es)

Questionário para Encarregado de Proteção de Dados (EPD)

Termo de Responsabilidade do Centro Académico Clínico (para investigadores da FMUP que não pertençam ao CHUSJ)

Protocolo financeiro

Outros

TERMO DE RESPONSABILIDADE

Aceitação dos termos e condições de reutilização

Cumulativamente com as obrigações decorrentes da Lei n.º 26/2016, de 22 de agosto, maxime dos n.º 2 e 3 do artigo 21 e o n.º 1 e 2 do artigo 12, ao submeter o presente pedido, concordo e fico ainda juridicamente vinculado aos seguintes termos e condições:

- Comprometo-me a manter confidencial toda a informação à qual vou ter acesso;
- Após explicação do RAI do CHUSJ, embora a Lei 26/2016, de 22 de agosto, imponha como requisito a anonimização sem possibilidades de reversão, tal desiderato, é não só uma impossibilidade matemática já comprovada, como ainda resulta num prejuízo para a investigação, face à quantidade e à qualidade da informação a retirar à fonte, razão pela qual, concordando com o RAI, assumimos como compromisso a pseudonimização, o que impõe uma avaliação e gestão do risco, num quadro ético-jurídico que aceitamos e nos comprometemos a colaborar e respeitar;
- Não vou elaborar registos, suscetíveis de identificar ou tornar identificável a identidade das pessoas a quem os mesmos dizem respeito;
- Comprometo-me a consultar os processos clínicos nos termos e locais que me forem indicados para o efeito;
- Tomei conhecimento, que a violação de qualquer dos compromissos aqui assumidos, poderá resultar no apuramento de responsabilidades disciplinares, civis e penais, e ainda, à impossibilidade futura de aceder a informação de saúde para fins de investigação.
- Independentemente de requerer a Certidão de Reutilização, Data REuse Certificate for Research (DARE), comprometo-me a citar as fontes, sempre que publicar, no todo ou em parte, resultados da presente investigação.

COMPROMISSO DE HONRA E DECLARAÇÃO DE INTERESSES

Eu, Joana Barbosa Ferreira de Lemos Baldaque

abaixo assinado, na qualidade de Investigador Principal, declaro por minha honra que as informações prestadas neste questionário são verdadeiras. Mais declaro que, durante o estudo, serão respeitadas as recomendações constantes na Declaração de Helsínquia (1960, e sucessivas emendas), e da Organização Mundial de Saúde, da Convenção de Oviedo e das 'Boas Práticas Clínicas' (GCP/ICH) no que se refere à experimentação que envolve seres humanos. Aceito, também, a recomendação da CE de que o recrutamento para este estudo se fará junto de doentes que não tenham participado em outro estudo, nos últimos três meses. Comprometo-me a entregar à CE o relatório final da investigação, assim que concluído.

Data: 2 / 12 / 22

Joana Baldaque
assinatura

16/12/2022
A Comissão de Ética para a Saúde
APROVA por unanimidade o parecer do
Relator, pelo que nada tem a opor à
realização deste projecto de investigação.

5/5

Título do Projeto	Avaliação de um teste de imunoensaio de fluxo lateral rápido (Stic Expert® HIT) para o diagnóstico de trombocitopenia induzida por heparina – Experiência de um hospital terciário		
Responsável pelo tratamento	Joana Barbosa Ferreira de Lemos Baldaque		
Instituição	Centro Hospitalar Universitário São João (CHUSJ) Escola Superior de Saúde do Politécnico do Porto (ESS-IPP)		
Investigador	Interno	Externo	
Contacto telefónico	914530463	Endereço Electrónico	u002189@chsj.min-saude.pt
Profissional de Ligação	Não aplicável		
Amostra	200		
Análise de Risco	Tolerável	Baixo	Elevado Muito Elevado

Parecer do EPD:

Data: 07/02/2023

Finalidade: obtenção e avaliação dos resultados (positivos/negativos) do teste de imunoensaio de fluxo lateral rápido (Stic Expert HIT) num grupo de doentes com suspeita de trombocitopenia induzida por heparina, com a finalidade de correlacionar os resultados desse teste de para a pesquisa de Ac Anti PF4 com o sistema de pontuação pré clínico 4T (Warkentin) e com o teste ELISA (Asserachrom HPIA – IgG).

Licitude: fundamento previsto no artigo 9(2)(j), com as garantias do 89(1) do RGPD, e artigo 31(1) da LERGPD.

Categorias de dados pessoais: variáveis identificadas com detalhe na AIPD, datada de 09/01/2023, **ponto 13**, tendo presente o **princípio da minimização dos dados**.

Conservação: os dados serão alvo de **pseudonimização**, armazenados em **local seguro**, em área restrita com acesso limitado ao Investigador Principal, com acesso a ficheiros protegido por **palavra-passe**, efetuando-se a conservação até a conclusão da investigação, durante o prazo máximo de **três (3) meses**. Os dados recolhidos **serão destruídos** após a finalização do estudo.

Comunicação de Dados: **não há partilha** de dados pessoais.

Face ao exposto, e observadas as recomendações, entende-se que a presente AIPD apresenta os elementos necessários para assegurar que o **tratamento é realizado em conformidade com o RGPD**.

Recomendações:

- Garantir medidas de segurança adicionais no transporte dos dados com recurso a dispositivos electrónicos de armazenamento (Laptop, Pen), nomeadamente através de medidas de cifragem e autenticação;
Garantir as medidas técnicas e organizativas para assegurar que o acesso ao sistema de informação é efetuado apenas por
- utilizadores devidamente autorizados, em razão da necessidade de conhecer e da segregação de funções (privilégios de acesso por função).
- Em caso de necessidade de extensão de prazo e/ou de qualquer alteração dos pressupostos atinentes ao presente parecer o Investigador Principal deverá solicitar a reapreciação do projeto de investigação junto do EPD.

Revisão AIPD:

Data da próxima revisão: ___/___/___

Não carece de revisão.

Anexos:

- Processo CES n.º 338/2022
- Parecer CES (16/12/2022)
- AIPD (09/01/2023)
- Protocolo de Investigação

Encarregado de Proteção de Dados
Assinado por: **PAULO ALEXANDRE MOTA DA SILVA**
Data: 2023.02.07 16:35:14+00'00'
Localização: CHUSJ