Performance of Four Anti-Heparin/Platelet Factor 4 Immunoassays for the Diagnosis of Heparin-Induced Thrombocytopenia

Jae Hyeon Park, Ji-Eun Kim, Hyun Ju Yoo, Ja-Yoon Gu, Kyou Sup Han, and Hyun Kyung Kim

Department of Laboratory Medicine, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

Corresponding author:
Hyun Kyung Kim
Department of Laboratory Medicine, Seoul National University Hospital, Seoul National University College of Medicine, 101 Daehak-ro, Jongno-gu, Seoul 110-744, Korea
Tel: +82-2-2072-0853
Fax: +82-2-747-0359
E-mail: lukekhk@snu.ac.kr

pISSN: 2384-2458
eISSN: 2288-7261

Background: Heparin-induced thrombocytopenia (HIT) is a significant complication of heparin therapy induced by antibodies to heparin/platelet factor 4 (PF4) complexes. We investigated the diagnostic performance of four commercial immunoassays that detect the anti-heparin/PF4 antibody.

Methods: Four different anti-heparin/PF4 antibody assays were performed in 39 patients with suspected HIT: HemosIL AcuStar HIT-IgG, HemosIL AcuStar HIT-total antibody (Ab) (Instrumentation Laboratory, USA), STic Expert HIT (Diagnostica Stago, France), and PF4 Enhanced (Immunocor GTI Diagnostics, USA). Patients were diagnosed with HIT when the Chong score was ≥ 5 .

Results: The estimated sensitivity and specificity for diagnosis of HIT were 33.3% and 80.0% for AcuStar HIT-IgG, 55.6% and 53.3% for AcuStar HIT-total Ab, 100.0% and 37.9% for STic Expert HIT, and 33.3% and 66.7% for PF4 Enhanced. All specificities significantly increased when 4Ts scores were included in the diagnosis. The areas under the curves (AUCs) for predicting thrombosis in the AcuStar HIT-IgG, AcuStar HIT-total Ab, and PF4 Enhanced assays were 0.639, 0.522, and 0.681, respectively. When the results of each assay were analysed along with 4Ts scores, the AUC increased to 0.927 in the AcuStar HIT-IgG assay and 0.944 in the AcuStar HIT-total Ab and PF4 Enhanced assays.

Conclusions: The STic Expert HIT assay had high sensitivity but low specificity for diagnosis of HIT. The performances of the three other immunoassays were comparable to each other. Specificity significantly increased when assay data were combined with 4Ts scores. Differences in the diagnostic performance of the four immunoassays were not evident, and simultaneous consideration of clinical scoring systems improved performance.

(J Lab Med Qual Assur 2015;37:84-91)

Key Words: Heparin-induced thrombocytopenia, Immunoassay, Diagnostic performance, Thrombosis

Received December 1, 2014, **Revision received** February 23, 2015, **Accepted** March 3, 2015

서론

헤파린유도혈소판감소증(heparin-induced thrombocytopenia, HIT)은 헤파린 치료에 의해 발생할 수 있는 심각한 합병증으로 헤파린과 platelet factor 4 (PF4)의 복합체에 대한 자가항체(항-헤파린/PF4 항체)에 의해서 발생한다[1,2]. 이 복합체는 혈소판의 Fc γ 수용체 IIA에 결합 후 혈소판을 활성화시켜 혈소판미세입자 분비와 함께 혈소판의 응집을 일

으켜 혈소판 감소와 동정맥 혈전을 일으킨다[1]. 항-헤파린/PF4 항체검사는 기능적인 검사로 확진하는데, 방사성 세로토닌을 사용하는 세로토닌분비검사(serotonin-release assay)와 방사성 물질을 사용하지 않는 헤파린유도혈소판활성검사(heparin-induced platelet activation assay)가 있으나 공여 자 혈소판을 사용해야 하며 시행하기 어려워 주로 면역학적 방법을 이용하고 있다[1-3]. 헤파린/PF4 복합체에 대한 다 특이적인 항체(IgG/A/M)를 모두 검출하는 검사에 비해 IgG

항체만 검출하는 것이 특이도와 양성예측도가 우수하다고 알려져 있다[2-4]. 임상적인 지표로 HIT를 예측하기 위한 점수 체계로는 혈소판감소증(thrombocytopenia), 헤파린 노출에 비한 혈소판 감소의 시기(timing of platelet count fall), 혈전증과 기타 합병증(thrombosis), 혈소판 감소증의 다른 원인(thrombocytopenia by other causes)을 점수화하는 '4Ts' 점수체계가 있으며(Table 1) [5], 혈소판감소증의 발생 시기, 혈소판감소증의 다른 원인, 헤파린을 중단 후 혈소판감소증 회복 여부와 재투여 시 재발 여부, 혈전증, HIT의 면역검사 및 기능 검사를 점수화하는 Chong 점수가 있다(Table 2) [6]. 현재 두 임상 점수체계 중 어느 쪽을 권장한다는 학계의 지침이 없으며, Chong 점수에서는 헤파린 중단 후 혈소판감소증 회복 여부와 재발 여부에 항체검사결과를 포함하여 더 포괄적인 HIT 진단이 가능하다고 생각된다. HIT로 인한 혈전증을 검출하지 못하면 헤파린 치료를 지속하게 되어 환자에게 혈전이 악화되

는 심각한 합병증을 초래할 수 있으며, HIT를 과잉 진단하게 되면 헤파린 이외의 항응고제 사용이 증가해 출혈 위험이 증가할 수 있다[7].

국내에는 2013년 6월부터 항-헤파린/PF4 항체검사에 대한 요양급여가 시작되었으며, 현재 상품화된 항-헤파린/PF4 항체 진단 시약이 여러 회사에서 출시되고 있으나 아직 평가자료가 없다. 이에 본 연구에서는 흔히 사용하는 상품화된 진단시약 4가지를 비교 평가하여, 항-헤파린/PF4 항체 시약에 대한 평가자료를 임상검사실에 제공하고자 한다.

재료 및 방법

1. 연구대상

본 연구는 헤파린을 사용한 후 임상적으로 HIT가 의심되어 항-헤파린/PF4 항체검사가 의뢰된 39명을 대상으로 하였

Table 1. The 4Ts scoring system

Characteristic	2 Points	1 Point	0 Point
Thrombocytopenia	>50% platelet fall (nadir $\geq 20 \times 10^9/L$)	30%–50% platelet fall or nadir $10-19 \times 10^9/L$	<30% platelet fall or nadir $\leq 10 \times 10^9/L$
Timing of platelet count fall	Clear onset during days 5–10 or ≤ 1 day (if heparin exposure within past 30 days)	Consistent with days 5–10 fall, but not clear (e.g., missing platelet counts) or ≤ 1 day (heparin exposure within past 31–100 days)	Platelet count fall ≤ 4 days without recent heparin exposure
Thrombosis or other sequelae	New thrombosis; skin necrosis; acute systemic reaction after intravenous heparin bolus	Progressive or recurrent thrombosis; erythematous skin lesions; suspected thrombosis (not yet proven)	None
Other cause of thrombocytopenia	None evident	Possible	Definite

Pretest probability score: 6–8, high; 4–5, moderate; 0–3, low.

Table 2. Chong scoring system

Criteria	Point
Onset of thrombocytopenia* (or a substantial decrease in platelets, by >50% of baseline) 4–14 days after starting heparin	3
Onset of thrombocytopenia outside above time interval	1
Exclusion of other causes of thrombocytopenia	2
Thrombocytopenia resolves after discontinuing heparin	2
Thrombocytopenia recurs on heparin rechallenge	1
Thrombosis associated with thrombocytopenia	1
Laboratory tests	
Immunoassay positive	2
Functional assays: two-point system	3
Functional assays: non-two-point system	2

*The presence of thrombocytopenia is mandatory. Thrombocytopenia is defined as a platelet count below $150 \times 10^9/L$. If the total point is >7, 5–6, 3–4, and <3, the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia is considered definite, probable, possible, and unlikely, respectively.

다. 39명 환자의 중앙연령은 67세(범위, 51-73세)였고, 남자는 28명, 여자는 11명이었다(Table 3). 본 연구는 서울대학교병원의 기관생명윤리위원회로부터 연구승인을 받았다(H-1002-056-310).

2. 진성 Heparin-Induced Thrombocytopenia의 진단

임상 점수체계인 4Ts 점수와 Chong 점수를 활용해 HIT의 가능성을 예측하였다. Chong 점수는 Chong 점수에서 definite HIT (>7점)와 probable HIT (5-6점)로 판정된 경우 진성 HIT가 있다고 진단했다. 4Ts 점수에서 높은 가능성(6-8점)과 중등도 가능성(4-5점)에 대해서 HIT의 가능성이 높은 것으로 판단했고, 항체검사결과와 함께 분석하였다.

3. 검사

1) AcuStar HIT-IgG, total Ab

HemosIL AcuStar HIT-IgG (PF-4H)와 HemosIL AcuStar HIT-total antibody (Ab) (PF-4H) (Instrumentation Laboratory, Bedford, MA, USA)는 자동화된 화학발광면역측정법(chemiluminescent immunoassay)으로 각각 PF4/polyanion 복합체에 대한 IgG 항체와 총 항체를 측정하는 검사로 제조사의 지침서에 따라 검사를 시행했다. 두 자동화 검사는 검체를 자성입자가 입혀진 PF4/polyvinyl sulfonate 복합체와 반응 후 자성을 이용해 자성입자를 분리하고 세척했다. 항체 결합은 AcuStar HIT-IgG의 특정한 항인체 IgG 항체 또는 AcuStar HIT-total Ab에 혼합된 2차 항

Table 3. Comparison of clinical and laboratory characteristics between patients with high and moderate probability of HIT and those with low probability of HIT defined by 4Ts score

Characteristic	Total (n=39)	4Ts score		P-value*
		High & moderate probability (n=15)	Low probability (n=24)	
Age (yr)	67 (51-73)	68 (54-76)	67 (45-73)	0.726
Female sex (%)	11 (28.2)	4 (26.7)	7 (29.2)	0.866
Platelet count, baseline ($\times 10^9/L$)	136 (84-193)	168 (117-224)	108 (45-163)	0.050
Platelet count, nadir ($\times 10^9/L$)	57 (31-82)	46 (28-78)	63 (34-100)	0.436
% Decrease platelet count from baseline	62.2 (3.34-78.3)	71.4 (62.0-79.2)	27.7 (-9.7-74.9)	0.028
Type of anticoagulation				0.313
None	3 (7.7)	0	3 (13.0)	
UFH only	19 (48.7)	6 (40.0)	13 (54.2)	
UFH+LMWH	6 (15.4)	4 (26.7)	2 (8.3)	
LMWH only	11 (28.2)	5 (33.3)	6 (25.0)	
Patient type				0.338
Cardiac disease	18 (46.2)	8 (53.3)	10 (41.7)	
Venous thromboembolism	4 (10.3)	3 (20.0)	1 (4.2)	
Vascular surgery	1 (2.6)	0	1 (4.2)	
Pneumonia/chronic obstructive pulmonary disease	2 (5.1)	0	2 (8.3)	
Others	14 (35.9)	4 (26.7)	10 (41.7)	
Chong score				<0.001
Unlikely HIT	16 (41.0)	1 (6.7)	15 (62.5)	
Possible HIT	14 (35.9)	6 (40.0)	8 (33.3)	
Probable HIT	7 (17.9)	6 (40.0)	1 (4.2)	
Definite HIT	2 (5.1)	2 (13.3)	0	
Recent infections	15 (38.5)	6 (40.0)	9 (37.5)	0.876
Thromboembolic events	8 (20.5)	8 (53.3)	0	<0.001

Values are presented as the median (range) for continuous variables or number (%) for categorical variables, unless otherwise indicated.

Abbreviations: HIT, heparin-induced thrombocytopenia; UFH, unfractionated heparin; LMWH, low molecular weight heparin.

*Chi-square test or Fisher's exact test for categorical variables and Man-Whitney U test for continuous variables.

체(항인체 IgG/A/M)을 이용해 확인하였다. 세척단계와 발광 반응 유도 후 방출된 빛을 ACL AcuStar (Instrumentation Laboratory)의 광학시스템을 이용해 상대적인 광단위(relative light unit)로 측정하였고, 30분 안에 임의적인 단위(arbitrary unit, U/mL)로 보고되었다. 두 검사 모두 제조사 지침대로 결과가 1.00 U/mL 이상이면 HIT 항체가 존재한다고 판단했다.

2) STic EXPERT HIT

STic Expert HIT (Diagnostica Stago SAS, Asnières sur Seine, France)는 측면유동면역발색법(lateral flow immunochromatographic assay)으로 PF4/polyanion 복합체에 대한 IgG 항체 유무를 확인하는 검사다. 제조사의 지침대로 5 µL의 혈장이나 혈청을 검사기구의 검체 투입구에 투입한 다음 완충액 2방울을 첨가했고, 실온에서 10분간 반응시킨 다음 판독했다. 검사자가 육안으로 확인하여 검사선(line-T)이 보이지 않거나 평가 카드의 선보다 연할 경우 음성으로 판독하고, 검사선과 대조선(line-C)의 결과를 비교하여 검사선의 색이 대조선과 비슷하거나 더 진할 경우 양성으로 판독했다.

3) PF4 Enhanced

PF4 Enhanced (Immucor GTI Diagnostics, Waukesha, WI, USA)는 정량적인 고체상 효소면역측정법(enzyme linked immunosorbent assay)으로 PF4/polyanion 복합체에 대한 항체를 측정하는 검사로 제조사 지침대로 시행했다. 검체를 PF4/polyvinyl sulfonate 복합체가 입혀진 microwell에 주입하고 세척 후 알칼리성 인산분해효소가 입혀진 항인체글로불린 시약(항-IgG/A/M)을 well에 더한 후 반응시켰다. 결합하지 않은 항-IgG/A/M을 세척하고 반응물로 p-nitrophenyl phosphate를 추가했다. 30분 동안 반응시킨 후 정지용액으로 반응을 중단 후 분광광도계(spectrophotometer)로 흡광도(optical density)를 측정하였다.

4. 통계분석

정성결과는 chi-square 검정 또는 Fisher's exact 검정으로, 정량결과는 Mann-Whitney U 검정으로 비교 분석하였다. 각 항체검사의 결과는 McNemar 검정으로 비교했고, 연속형 결과에 대해서는 receiver operating characteristic (ROC) 곡선 분석으로 각각 비교했다. 각 항체검사결과와 4Ts 점수를 결합하기 위하여 로지스틱 회귀분석으로 확률변수라는 새로운 값을 산정하여 이 값을 ROC 곡선분석으로 각각 비교했다. 통계 프로그램은 IBM SPSS ver. 19.0 (IBM Co., Armonk, NY,

USA)과 MedCalc ver. 14.8.1 (MedCalc Software, Ostend, Belgium)을 이용하였다. $P < 0.05$ 를 통계학적으로 유의한 차이가 있는 것으로 간주하였다.

결과

1. Heparin-Induced Thrombocytopenia 의심 환자군의 임상 양상

혈소판 수치 초기값의 중앙값은 $136 \times 10^9/L$ (범위, 84-193 $\times 10^9/L$)이었고, 최저점의 중앙값은 $57 \times 10^9/L$ (범위, 31-82 $\times 10^9/L$)이었으며, 혈소판 감소비율의 중앙값은 62.2%(범위, 3.34-78.3%)이었다(Table 3). 비분획형헤파린만 사용한 환자는 19명(48.7%)이며, 저분자량헤파린만 사용한 환자는 11명(28.2%)이고, 비분획형헤파린과 저분자량헤파린 모두 사용한 환자는 6명(15.4%)이었다. 환자들의 주진단으로는 심장질환이 18명(46.2%)이고, 정맥혈전증은 4명(10.3%), 혈관 수술은 1명(2.6%), 폐렴/만성 폐쇄성 폐질환은 2명(5.1%), 그 외 질환은 14명(35.9%)이었다. 최근에 감염이 있었던 환자는 15명(38.5%)이었고, 혈전증이 발생했던 환자는 8명(20.5%)이었다. 4Ts 점수에서 높은 가능성(6-8점)과 중등도 가능성(4-5점)이었던 환자는 모두 15명(38.5%)이고, 낮은 가능성(0-3점)이었던 환자는 24명(61.5%)이었다. Chong 점수에서는 definite HIT는 2명(5.1%), probable HIT는 7명(17.9%), possible HIT는 14명(35.9%), unlikely HIT는 16명(41.0%)이었다. 4Ts 점수에서 높거나 중등도 가능성인 환자들에서 기저치에 비해 혈소판 수치의 감소비율이 높았고, Chong 점수의 등급, 혈전증의 비율이 유의한 차이를 보였다.

2. 항-헤파린/Platelet Factor 4 항체검사들의 Heparin-Induced Thrombocytopenia 진단 성능 평가

전체 39명의 환자 중 1명에서 STic Expert HIT 검사를 검체부족으로 시행하지 못했다. 전체 환자에서 항체 양성률은 AcuStar HIT-IgG 23.1% (9/39명), AcuStar HIT-total Ab 48.7% (19/39명), STic Expert HIT 71.1% (27/38명), PF4 Enhanced 33.3% (13/39명)이었다.

Chong 점수에서 5점 이상을 진성 HIT로 가정하고, 각 항체의 임상성능을 분석하였다. 각 항체검사의 HIT 진단민감도, 진단특이도는 AcuStar HIT-IgG 33.3%, 80.0%, AcuStar HIT-total Ab 55.6%, 53.3%, STic Expert HIT 100.0%, 37.9%, PF4 Enhanced 33.3%, 66.7%였다(Table 4). 또한 진단정확도는 AcuStar HIT-IgG가 69.2%로 가장 높았고, PF4 Enhanced 59.0%, AcuStar HIT-total Ab 53.8%, STic

Table 4. Comparison of diagnostic performance of four different immunoassays and combination with 4Ts score for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia defined by Chong score

Variable	Sensitivity	Specificity	Positive predictive value	Negative predictive value	Diagnostic accuracy
AcuStar HIT-IgG	33.3	80.0	33.3	80.0	69.2
AcuStar HIT-total Ab	55.6	53.3	26.3	80.0	53.8
STic Expert HIT	100.0	37.9	33.3	100.0	52.6
PF4 Enhanced	33.3	66.7	23.1	76.9	59.0
4Ts+AcuStar HIT-IgG	33.3	90.0	50.0	81.8	76.9
4Ts+AcuStar HIT-total Ab	55.6	90.0	62.5	87.1	82.1
4Ts+STic Expert HIT	88.9	86.2	66.7	96.2	86.8
4Ts+PF4 Enhanced	33.3	86.7	42.9	81.3	74.4

Abbreviations: HIT, heparin-induced thrombocytopenia; Ab, antibody.

Fig. 1. Comparison of the ROC curves of the three immunoassays with/without 4Ts scores for prediction of thrombosis. (A) ROC curves of the OD values. (B) ROC curves in combination with OD values and 4Ts scores. Abbreviations: ROC, receiver operating characteristic; OD, optical density; AUC, area under the curve; CI, confidence interval; HIT, heparin-induced thrombocytopenia; Ab, antibody.

Expert HIT 52.6%였다.

각 항체검사결과에 임상소견을 포함하여 판단하기 위해 임상 점수체계인 4Ts 점수를 추가하였을 때 진단특이도가 두드러지게 상승하였다(Table 4). 또한 4Ts 점수를 추가한 경우 진단정확도는 STic Expert HIT가 86.8%로 가장 높았고, AcuStar HIT-total Ab 82.1%, AcuStar HIT-IgG 76.9%, PF4 Enhanced 74.4% 순이었다.

McNemar 검사로 네 가지 검사를 각각 비교했을 때 AcuStar HIT-IgG 대 AcuStar HIT-total, AcuStar HIT-IgG 대 STic Expert HIT, STic Expert HIT 대 PF4 Enhanced는 각각 P -value가 0.002, <0.001, 0.003으로 유의한 차이

가 있었고, AcuStar HIT-IgG 대 PF4 Enhanced, AcuStar HIT-total 대 STic Expert HIT, AcuStar HIT-total 대 PF4 Enhanced는 유의한 차이가 관찰되지 않았다. 네 가지 검사의 불일치 정도를 비교했을 때, STic Expert HIT만 양성인 환자가 10명(26.3%)이었고, STic Expert HIT와 AcuStar HIT-total Ab만 양성인 환자가 7명(18.4%)이었다.

3. 항-헤파린/Platelet Factor 4 항체 검사들의 혈전증 발생의 예측력 비교

혈전증 발생의 예측력을 비교하기 위해 세 항체검사결과로 ROC 곡선을 그렸을 때 area under the curve (AUC)는

AcuStar HIT-IgG 0.639 (95% confidence interval [CI], 0.470 to 0.786), AcuStar HIT-total Ab 0.522 (95% CI, 0.357 to 0.684), PF4 Enhanced 0.681 (95% CI, 0.513 to 0.821)이었다(Fig. 1A). 세 항체검사의 AUC 값 간의 유의한 차이는 관찰되지 않았다.

세 항체검사의 결과에 4Ts 점수를 추가하였을 때 AcuStar HIT-IgG의 AUC는 0.927 (95% CI, 0.797 to 0.986)로 현저히 증가하였다(Fig. 1B). 각 항체검사결과에 4Ts 점수를 추가한 경우 AUC 값의 유의한 상승이 있었다(AcuStar HIT-IgG vs. 4Ts+AcuStar HIT-IgG, $P=0.008$; AcuStar HIT-total Ab vs. 4Ts+AcuStar HIT-total Ab, $P=0.007$; PF4 Enhanced vs. 4Ts+PF4 Enhanced, $P=0.019$).

고찰

HIT 진단에서 면역학적인 항-헤파린/PF4 항체검사의 민감도는 매우 우수하다고 보고되어있다[2,4,7-13]. 그러나 항-헤파린/PF4 항체검사만으로는 PF4에 대한 비병원성의 항체나 항인지질 항체를 감별해낼 수 없기에 위양성이 많아 HIT를 과진단하게 되며, 이를 보완하기 위해 IgG에 특이적인 항체를 검출하거나 흡광도의 기준치를 높이는 방법이 있으나 여전히 위양성은 존재하고 위음성이 발생할 위험이 있다[7]. 임상적인 지표로는 4Ts 점수와 Chong 점수 등이 있으며, 4Ts 점수가 사용하기 간단하고 음성예측도가 우수하여 널리 사용되고 있다. 4Ts 점수에서 높은 가능성(6-8)과 중등도 가능성(4-5)인 환자에서 항체 검사를 시행하고, 흡광도 결과가 높으면 헤파린을 중단하고, HIT 치료를 시작하는 방법도 제시되었다[2].

HIT 항체검사의 성능을 평가한 보고에 따르면 AcuStar HIT-IgG의 진단민감도는 96.2-100.0%, 진단특이도는 85.0-96.5%, AcuStar HIT-total Ab의 진단민감도는 98.1-100.0%, 진단특이도는 73.0-91.2%로 보고되었다[4,9,11,12]. STic Expert HIT의 진단민감도는 97.5-100.0%, 진단특이도는 82.2-93.0%로 보고되었고[10,13], PF4 Enhanced는 진단민감도 93-100%, 진단특이도 65-93%로 보고되었다[8,10].

본 연구에서는 4가지 항체검사를 동시에 비교 평가하였고, 여러 상품화된 시약을 함께 비교한 보고한 경우는 거의 없었다. 기존 보고에서 이들 항체들의 진단민감도가 비교적 우수하였으나[4,8-13], 본 결과에서는 진단민감도가 비교적 낮게 관찰되었다. 이는 진성 HIT를 정의하는데 기준이 다르기 때문으로 생각된다. 본 연구에서는 Chong 점수의 definite HIT (>7 점)와 probable HIT (5-6점)로 진성 HIT를 정의한 반면, 다른 연구들에서는 기능검사에서 양성인 경우를 진성 HIT로 정의

하였다. 따라서 Chong 점수로만 진성 HIT를 판단하였으므로 기능검사 음성인 환자가 포함되어 진단민감도가 낮아졌을 가능성이 있다.

본 연구에서 STic Expert HIT는 진단민감도가 100.0%로 우수했으나 진단특이도가 37.9%로 낮았다. AcuStar HIT-IgG와 AcuStar HIT-total Ab를 비교했을 때, IgG만 특이적으로 검출한 것이 진단특이도는 더 우수했으나(80.0% vs. 53.3%) 민감도는 더 떨어지는 것으로 관찰되었다(33.3% vs. 55.6%). PF4 Enhanced의 경우에는 진단민감도는 AcuStar HIT-IgG와 동일했고, 특이도는 AcuStar HIT-IgG와 AcuStar HIT-total Ab 사이의 결과를 나타냈다. 4Ts 점수와 함께 항체검사를 해석했을 때 진단특이도와 양성예측도가 개선되었고, 다른 검사에서는 진단민감도의 변화가 없으나 STic Expert HIT의 경우에는 민감도가 다소 감소하는 것이 관찰되었다. 세 가지 항체검사의 혈전증 예측도를 분석했을 때 ROC 곡선의 AUC는 PF4 Enhanced가 0.681로 다른 두 검사에 비해서 높았으나 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. 또한 항체검사결과에 4Ts 점수를 추가하였을 때 혈전증 예측력이 현저히 상승하는 것을 관찰하였다.

STic Expert HIT의 경우 진단특이도가 낮았는데, STic Expert HIT결과만 양성인 경우가 전체의 26.3% (10/38건)이었다. 이는 자동화된 검사와는 달리 STic Expert HIT의 경우 검사자가 육안으로 검사선과 대조선을 비교하여 검사선의 색이 대조선과 비슷하거나 더 진할 경우 양성으로 판독하도록 되어 있어 검사자에 따라 양성률이 다를 수 있어 검사판독에 주의가 필요하다[13].

HIT는 혈소판 활성을 증가시키는 항체의 존재를 확인하여야 하므로 기능검사인 세로토닌분비검사와 헤파린유도혈소판 활성화검사가 중요하다. 그러나 현실적으로 기능검사는 표준화된 검사실에서만 시행되고 있고, 국내에서는 시행하지 못하고 있다. 본 연구에서 기능검사를 시행할 수 없어서 진성 HIT에 대한 정의를 Chong 점수로 판단하여 HIT 환자군에 기능검사 음성환자가 일부 포함되었을 가능성이 있다. 따라서 항체의 진단민감도가 낮게 평가되고, 진단특이도가 상대적으로 높게 평가되었다. 향후 HIT 기능검사가 임상검사실에서 용이하게 수행될 수 있는 상품화된 검사시약이 개발되기를 기대한다.

결론적으로 항-헤파린/PF4 항체에 대한 4가지 검사를 비교했을 때 STic Expert HIT는 진단민감도가 높으나 진단특이도가 낮았고, 나머지 항-헤파린/PF4 항체검사와 간의 성능은 유사하였다. 각 항체검사를 4Ts와 함께 해석했을 때 진단특이도가 현저히 상승한 결과를 보였다는 점은 향후 HIT 진단에 검사결과와 임상점수체계가 결합하여 유용하게 사용될 수 있을

것으로 생각된다.

REFERENCES

1. Warkentin TE. HIT paradigms and paradoxes. *J Thromb Haemost* 2011;9 Suppl 1:105-17.
2. Cuker A. Clinical and laboratory diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia: an integrated approach. *Semin Thromb Hemost* 2014;40:106-14.
3. Warkentin TE, Greinacher A, Gruel Y, Aster RH, Chong BH; scientific and standardization committee of the international society on thrombosis and haemostasis. Laboratory testing for heparin-induced thrombocytopenia: a conceptual framework and implications for diagnosis. *J Thromb Haemost* 2011;9:2498-500.
4. Van Hoecke F, Devreese K. Evaluation of two new automated chemiluminescent assays (HemosIL[®] AcuStar HIT-IgG and HemosIL[®] AcuStar HIT-Ab) for the detection of heparin-induced antibodies in the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *Int J Lab Hematol* 2012;34:410-6.
5. Warkentin TE, Heddle NM. Laboratory diagnosis of immune heparin-induced thrombocytopenia. *Curr Hematol Rep* 2003;2:148-57.
6. Chong BH, Chong JJ. Heparin-induced thrombocytopenia. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2004;2:547-59.
7. Cuker A. Heparin-induced thrombocytopenia (HIT) in 2011: an epidemic of overdiagnosis. *Thromb Haemost* 2011;106:993-4.
8. Shaheed G, Malkovska V, Mendoza J, Patel M, Rees J, Wesley R, et al. PF4 ENHANCED assay for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia in complex medical and surgical patients. *Crit Care Med* 2007;35:1691-5.
9. Legnani C, Cini M, Pili C, Boggian O, Frascaro M, Palareti G. Evaluation of a new automated panel of assays for the detection of anti-PF4/heparin antibodies in patients suspected of having heparin-induced thrombocytopenia. *Thromb Haemost* 2010;104:402-9.
10. Sachs UJ, von Hesberg J, Santoso S, Bein G, Bakchoul T. Evaluation of a new nanoparticle-based lateral-flow immunoassay for the exclusion of heparin-induced thrombocytopenia (HIT). *Thromb Haemost* 2011;106:1197-202.
11. Althaus K, Hron G, Strobel U, Abbate R, Rogolino A, Davidson S, et al. Evaluation of automated immunoassays in the diagnosis of heparin induced thrombocytopenia. *Thromb Res* 2013;131:e85-90.
12. Jourdy Y, Nougier C, Rugeri L, Bordet JC, Sobas F, Negrier C. Prospective evaluation of automatized PF4/heparin immunoassays HemosIL HIT-ab (PF4-H) for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *Int J Lab Hematol* 2015;37:244-52.
13. Leroux D, Hezard N, Lebreton A, Bauters A, Suchon P, de Maistre E, et al. Prospective evaluation of a rapid nanoparticle-based lateral flow immunoassay (STic Expert[®]) HIT) for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *Br J Haematol* 2014;166:774-82.

헤파린유도혈소판감소증 진단을 위한 항-헤파린/Platelet Factor 4 항체검사 평가

박재현 • 김지은 • 유현주 • 구자윤 • 한규섭 • 김현경

서울대학교 의과대학 진단검사의학교실

배경: 헤파린유도혈소판감소증(heparin-induced thrombocytopenia, HIT)은 헤파린과 platelet factor 4 (PF4)의 복합체에 대한 자가항체에 의해서 발생하며 혈전증을 일으킬 수 있는 심각한 합병증이다. 본 연구에서는 HIT 진단을 위해 사용할 수 있는 상품화된 항-헤파린/PF4 항체 시약들의 진단성능을 평가하였다.

방법: HIT가 의심되는 39명의 환자에서 4종류의 항-헤파린/PF4 항체 시약을 이용하여 제조사의 지침에 따라 검사하였다: HemosIL AcuStar HIT-IgG, HemosIL AcuStar HIT-total antibody (Ab) (Instrumentation Laboratory, USA), STic Expert HIT (Diagnostica Stago, France), PF4 Enhanced (Immucor GTI Diagnostics, USA). HIT 진단은 기존의 임상 점수체계인 Chong 점수 5 점 이상으로 설정하였다.

결과: HIT 진단에 대한 각 검사의 민감도, 특이도는 각각 AcuStar HIT-IgG 33.3%, 80.0%, AcuStar HIT-total Ab 55.6%, 53.3%, STic Expert HIT 100.0%, 37.9%, PF4 Enhanced 33.3%, 66.7% 였고, 각 결과에 4Ts를 진단기준으로 추가했을 때 특이도가 현저히 상승하였다. 혈전증 발생가능성의 area under the curves (AUC)는 AcuStar HIT-IgG 0.639, AcuStar HIT-total Ab 0.522, PF4 Enhanced 0.681이었고, 각 항체결과와 4Ts를 함께 분석한 결과, AUC가 4Ts+AcuStar HIT-IgG는 0.927, 4Ts+AcuStar HIT-total Ab와 4Ts+PF4 Enhanced는 0.944로 상승하였다.

결론: STic Expert HIT은 민감도가 높으나 특이도가 낮았고, 나머지 항-헤파린/PF4 항체검사들 간의 성능은 유사하였다. 각 항체검사를 4Ts와 함께 해석했을 때 특이도가 현저히 상승했다. 혈전증 예측에 대한 각 면역검사의 진단성능은 차이가 없었고, 임상 점수체계를 함께 고려했을 때 진단성능이 개선될 것이다.

(J Lab Med Qual Assur 2015;37:84-91)

교신저자: 김현경

우)110-744 서울시 종로구 대학로 101, 서울대학교 의과대학 서울대학교병원 진단검사의학과
Tel: 02)2072-0853, Fax: 02)747-0359, E-mail: lukekhk@snu.ac.kr