

### VERWENDUNGSZWECK:

Der ZYMUTEST® HIA MonoStrip IgG ist ein Enzymimmunoassay zum qualitativen Nachweis Heparin- bzw. Protaminsulfat-abhängiger Antikörper vom IgG-Isotyp in humanem Plasma, Serum oder anderen biologischen Flüssigkeiten. Der Test ist zum Gebrauch als *in vitro*-Diagnostikum bestimmt.

### TESTPRINZIP:

Die verdünnte Probe (humanes Plasma, Serum oder andere biologische Flüssigkeiten) wird zusammen mit einem Plättchenlysat in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte pipettiert, die mit Protaminsulfat und einem Überschuss an unfraktioniertem Heparin beschichtet sind. Unter Nachahmung der Abläufe, die sich *in vivo* abspielen, komplexieren in der Probe bzw. im Plättchenlysat enthaltene Chemokine wie Plättchenfaktor 4 (PF4) mit diesem Heparin. Diese spezielle Beschichtung aus Protaminsulfat und dynamischen PF4:Heparin-Komplexen erlaubt die Bindung von in der Probe vorhandenen Heparin- bzw. Protaminsulfat-abhängigen Antikörpern. Nach einem ersten Waschschrift erfolgt die Zugabe eines Meerrettichperoxidase (HRP)-gekoppelten polyklonalen Antikörpers, der für das humane Fcγ-Fragment und folglich für humane Antikörper vom IgG-Isotyp spezifisch ist. Nach einem zweiten Waschschrift wird das Peroxidasesubstrat, 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB), in Gegenwart von Wasserstoffperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) zugegeben. Unter diesen Bedingungen färbt sich TMB blau und schlägt beim Stoppen der Reaktion mit Schwefelsäure nach gelb um. Die Farbentwicklung ist direkt proportional zum Titer Heparin- bzw. Protaminsulfat-abhängiger Antikörper vom IgG-Isotyp in der Probe.

### PROBENMATERIAL:

Humanes Plasma mit Trinatrium-Citrat oder Na<sup>+</sup>-EDTA als Antikoagulanzen, humanes Serum oder jede andere biologische Flüssigkeit, in der Heparin- bzw. Protaminsulfat-abhängige Antikörper vom IgG-Isotyp vorhanden sein können.

### IM TESTKIT ENTHALTENE KOMPONENTEN:

- **COAT:** 4 ELISA-Mikrotiterstreifen zu je 8 Vertiefungen, mit einer stabilisierten Beschichtung aus Protaminsulfat und einem Überschuss an biologisch verfügbarem, unfraktioniertem Heparin. Die Streifen sind in Gegenwart eines Trockenmittels einzeln in Aluminiumbeuteln verpackt.
- **SD:** 2 Flaschen mit je 12 ml HIA Probenverdünner, gebrauchsfertig. Enthält Natriumazid.
- **C+:** 4 Flaschen HIA IgG Positivkontrolle, lyophilisiert. Durch Rekonstitution mit 0,5 ml HIA Probenverdünner (SD) erhält man eine 1:100 vorverdünnte Positivkontrolle.
- **C-:** 4 Flaschen Negativkontrolle (humanes Normalplasma), lyophilisiert. Durch Rekonstitution mit 0,5 ml HIA Probenverdünner (SD) erhält man eine 1:100 vorverdünnte Negativkontrolle.

**Anmerkung:** Die erwarteten Reaktivitäten der HIA IgG Positivkontrolle (C+) und der Negativkontrolle (C-) variieren von Charge zu Charge. Sie werden auf dem Datenblatt, das jeder Testpackung beigelegt ist, angeführt.

- **CLY:** 4 Flaschen Plättchenlysat, lyophilisiert. Mit 0,5 ml aqua dest. zu rekonstituieren.
- **CD:** 1 Flasche mit 10 ml Konjugatverdünner, gebrauchsfertig.
- **IC:** 4 Flaschen anti-(h)-Fcγ-HRP-Immunkonjugat. Polyklonaler Antikörper, spezifisch für das humane Fcγ-Fragment, gekoppelt an Meerrettichperoxidase (HRP), lyophilisiert. Mit 2 ml Konjugatverdünner (CD) zu rekonstituieren.
- **WS:** 2 Flaschen mit 12 ml 20-fach konzentrierter Waschlösung.
- **TMB:** 1 Flasche mit 10 ml Peroxidasesubstrat (3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin), versetzt mit Wasserstoffperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), gebrauchsfertig.
- **SA:** 1 Flasche mit 3 ml Stopplösung (0,45 M Schwefelsäure), gebrauchsfertig.

**Anmerkung:** Zur Testdurchführung dürfen ausschließlich Komponenten aus Testpackungen mit übereinstimmender Chargennummer verwendet werden. Es dürfen keine Reagenzien aus Testpackungen mit unterschiedlichen Chargennummern kombiniert werden.

### ERFORDERLICHE MATERIALIEN, DIE NICHT IM TESTKIT ENTHALTEN SIND:

- 8-Kanal- oder Repetierpipette mit einem Pipettiervolumen im Bereich von 50-300 µl
- Einkanalpipetten mit Pipettiervolumina in den Bereichen von jeweils 0-20, 20-200 und 200-1000 µl
- Mikrotiterplattenwascher und -schüttler
- Mikrotiterplattenleser zur Messung bei einer Wellenlänge von 450 nm
- Aqua dest.

### VORBEREITUNG, LAGERUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN:

In der Originalverpackung bei 2-8°C gelagert sind die ungeöffneten Reagenzien bis zum auf dem Etikett gedruckten Verfallsdatum haltbar.

- **COAT:** Den Aluminiumbeutel öffnen und die für die jeweilige Testreihe erforderliche Anzahl an Mikrotiterstreifen entnehmen. Nach Entnahme aus dem Beutel müssen die Streifen innerhalb von 30 Minuten verwendet werden. Zur Lagerung werden nicht benötigte Streifen in Gegenwart des Trockenmittels im originalen Aluminiumbeutel verschlossen und im mitgelieferten Druckverschlussbeutel verpackt. Unter diesen Bedingungen sind die Streifen 8 Wochen bei 2-8°C haltbar.
- **SD:** Gebrauchsfertig. Nach dem Öffnen kann die Lösung, unter Vermeidung jeglicher Kontamination und Verdunstung, 8 Wochen bei 2-8°C gelagert werden. Enthält Natriumazid.

**Warnhinweis:** Der HIA Probenverdünner (SD) enthält Natriumazid, das mit Blei- und Kupferarmaturen unter Bildung hochexplosiver Metallazide reagieren kann. Bei Entsorgung der Lösung in den Abfluss muss mit großen Wassermengen nachgespült werden.

- **C+:** Den Inhalt der Flasche mit 0,5 ml HIA Probenverdünner (SD) rekonstituieren. Somit erhält man eine 1:100 vorverdünnte Positivkontrolle, die einem Plasma entspricht, das Heparin-abhängige Antikörper vom IgG-Isotyp enthält. Unter Vermeidung jeglicher Kontamination und Verdunstung ist die rekonstituierte Positivkontrolle 2 Wochen bei 2-8°C und 2 Monate bei -20°C oder tiefer stabil.
- **C-:** Den Inhalt der Flasche mit 0,5 ml HIA Probenverdünner (SD) rekonstituieren. Somit erhält man eine 1:100 vorverdünnte Negativkontrolle, die humanem Normalplasma entspricht. Unter Vermeidung jeglicher Kontamination und Verdunstung ist die rekonstituierte Negativkontrolle 2 Wochen bei 2-8°C und 2 Monate bei -20°C oder tiefer stabil.
- **CLY:** Den Inhalt der Flasche mit 0,5 ml aqua dest. rekonstituieren. Unter Vermeidung jeglicher Kontamination und Verdunstung ist das rekonstituierte Plättchenlysat 2 Wochen bei 2-8°C und 2 Monate bei -20°C oder tiefer stabil.

**Warnhinweis:** Die Negativkontrolle (C-) wurde aus humanem Plasma und das Plättchenlysat (CLY) aus humanem Plättchenkonzentrat gewonnen. Diese wurden mit validierten Methoden auf HIV-Antikörper, HBs-Ag und HCV-Antikörper untersucht und für negativ befunden. Kein Test kann jedoch die Abwesenheit von Infektionserregern mit absoluter Sicherheit garantieren. Sämtliche Produkte biologischen Ursprungs müssen deshalb unter Beachtung aller erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen als potenziell infektiös behandelt werden.

- **CD:** Gebrauchsfertig. Nach dem Öffnen kann die Lösung, unter Vermeidung jeglicher Kontamination und Verdunstung, 8 Wochen bei 2-8°C gelagert werden. Enthält 0,05% Kathon CG.
- **IC:** Den Inhalt der Flasche mit 2 ml Konjugatverdünner (CD) rekonstituieren und bis zur vollständigen Auflösung vorsichtig schütteln. Unter Vermeidung jeglicher Kontamination und Verdunstung ist das rekonstituierte Immunkonjugat 24 Stunden bei Raumtemperatur (18-25°C), 4 Wochen bei 2-8°C und 2 Monate bei -20°C oder tiefer stabil.
- **WS:** Für 15-30 Minuten im Wasserbad bei 37°C bis zur vollständigen Auflösung allfälliger Feststoffe inkubieren. Schütteln und das für die Testreihe erforderliche Volumen 1:20 mit aqua dest. verdünnen. Aus 12 ml Konzentrat lassen sich folglich 240 ml verdünnte Waschlösung herstellen. Nach dem Öffnen ist das Konzentrat in der Originalflasche 8 Wochen bei 2-8°C haltbar. Nach Verdünnung kann die Waschlösung, unter Vermeidung jeglicher Kontamination und Verdunstung, 7 Tage bei 2-8°C gelagert werden. Enthält 0,05% Kathon CG.
- **TMB:** Gebrauchsfertig. Nach Öffnen kann das Substrat, unter Vermeidung jeglicher Kontamination und Verdunstung, 8 Wochen bei 2-8°C gelagert werden.
- **SA:** Gebrauchsfertig.

**Warnhinweis:** Schwefelsäure (SA) ist trotz Verdünnung auf 0,45 M ätzend und wie ähnliche Chemikalien mit größter Vorsicht zu handhaben. Jeglicher Haut- und Augenkontakt ist unter Verwendung von Handschuhen und Schutzbrillen zu vermeiden.

**Anmerkung:** Die erforderlichen Testkitkomponenten müssen mindestens 30 Minuten vor Gebrauch auf Raumtemperatur (18-25°C) gebracht werden. Nicht benötigte Komponenten sind bei 2-8°C zu lagern. Stabilitätsstudien bei 30°C haben gezeigt, dass die Testpackungen ohne Beeinträchtigung der darin enthaltenen Komponenten bei Raumtemperatur (18-25°C) versendet werden können.

### TESTDURCHFÜHRUNG:

#### Probengewinnung:

Blut (9 Volumenteile) wird vorsichtig in 0,109 oder 0,129 M Trinatrium-Citrat als Antikoagulanzen (1 Volumenteil) abgenommen und für 20 Minuten bei 2.500 g zentrifugiert. Das aus dem Überstand gewonnene Citratplasma muss innerhalb von 24 Stunden getestet werden. Alternativ kann es für bis zu 6 Monate bei -20°C oder tiefer gelagert werden. Das gefrorene Plasma muss vor Gebrauch für 15 Minuten bei 37°C aufgetaut und innerhalb von 72 Stunden getestet werden. Statt Citratplasma können auch Na<sup>+</sup>-EDTA-Plasma und Serum getestet werden. Ihre Lagerung und Haltbarkeit entsprechen denen des Citratplasmas.

#### Proben und Kontrollen:

Proben müssen zur Testung 1:100 mit HIA Probenverdünner (SD) verdünnt werden. Bei sehr hohen Titern Heparin- bzw. Protaminsulfat-abhängiger Antikörper müssen die Proben in höherer Verdünnung (1:200 oder höher) getestet werden.

Die Kontrollen (C+ und C-) liegen nach Rekonstitution bereits 1:100 vorverdünnt vor und müssen zur Testung nicht weiter verdünnt werden.

#### Testdurchführung:

Die für die Testreihe erforderliche Anzahl an Mikrotiterstreifen aus dem Aluminiumbeutel entnehmen und in den mitgelieferten Rahmen legen. Dann nach folgendem Schema verfahren:

Reagenz	Volumen	Vorgehen
Plättchenlysat (CLY), mit 0,5 ml aqua dest. rekonstituiert	50 µl	In jeweils eine Vertiefung der Mikrotiterstreifen pipettieren
Leerwert (nur Probenverdünner), Kontrollen (unverdünnt) oder Proben (1:100 verdünnt)	200 µl	In die einzelnen Vertiefungen sofort hinzupipettieren <sup>1</sup>

(Fortsetzung auf der nächsten Seite)

(Fortsetzung von der vorherigen Seite)

<b>Für 1 Stunde bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubieren<sup>2,3</sup></b>		
<b>Waschlösung (WS),</b> 1:20 mit aqua dest. verdünnt	<b>300 µl</b>	<b>5 aufeinanderfolgende Waschrötte</b> unter Verwendung eines Waschröters <sup>4</sup>
<b>anti-(h)-Fcγ-GRP-Immunkonjugat,</b> mit 2 ml Konjugatverdünner (CD) rekonstituiert	<b>200 µl</b>	Unmittelbar nach dem letzten Waschrötte in die einzelnen Vertiefungen hinzupipettieren <sup>4</sup>
<b>Für 1 Stunde bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubieren<sup>2,3</sup></b>		
<b>Waschlösung (WS),</b> 1:20 mit aqua dest. verdünnt	<b>300 µl</b>	<b>5 aufeinanderfolgende Waschrötte</b> unter Verwendung eines Waschröters <sup>4</sup>
<b>Peroxidasesubstrat (TMB)</b>	<b>200 µl</b>	Unmittelbar nach dem letzten Waschrötte in die einzelnen Vertiefungen hinzupipettieren <sup>4,5</sup>
<b>Für 5 Minuten bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubieren<sup>2,3,6</sup></b>		
<b>Stopplösung (SA)</b>	<b>50 µl</b>	In die einzelnen Vertiefungen hinzupipettieren, um die Farbreaktion zu stoppen <sup>7</sup>
Zur Stabilisierung der Farbe <b>für 10 Minuten bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubieren<sup>2,3,6</sup></b> die Absorption bei <b>450 nm (A<sub>450</sub>)</b> messen <sup>7</sup> und jeweils den Leerwert subtrahieren		

**Anmerkungen:**

- Um eine homogene Antigenbindung zu gewährleisten müssen die Kontrollen und Proben so rasch wie möglich und jedenfalls innerhalb von 10 Minuten in die Vertiefungen der Mikrotiterstreifen pipettiert werden. Etwaige Verzögerungen können zu falschen Ergebnissen führen.
- Vor jeder Inkubation ist ein kurzes Durchmischen der Testansätze unter Verwendung eines Mikrotiterplattenschüttlers empfohlen. Ein Schütteln während der gesamten Inkubation ist zu vermeiden, da dies zu einer starken Erhöhung der Reaktivität führen kann.
- Jede Inkubation muss bei Raumtemperatur (18-25°C) erfolgen. Eine Inkubation bei < 18°C kann zu einer starken Erniedrigung, eine Inkubation bei > 25°C zu einer starken Erhöhung der Reaktivität führen.
- Im Zuge der Entfernung der Waschlösung nach jedem einzelnen Waschrötte dürfen die Vertiefungen der Mikrotiterstreifen niemals austrocknen, da dies die an der Platte immobilisierten Komponenten beeinträchtigen könnte. Deshalb muss das darauffolgende Reagenz so rasch wie möglich und jedenfalls innerhalb von 3 Minuten nach Entfernung der Waschlösung in die einzelnen Vertiefungen pipettiert werden. Der Mikrotiterplattenwascher muss so eingestellt sein, dass die Platten schonend gewaschen werden und ein abruptes Entfernen der Waschlösung vermieden wird.
- Die Zugabe des Peroxidasesubstrats von Reihe zu Reihe muss in genau definierten Zeitabständen erfolgen. Diese Zeitabstände müssen bei der anschließenden Zugabe der Stopplösung eingehalten werden.
- Während der Inkubationen und hierbei besonders während der Farbentwicklung sollten die Testansätze vor direkter Sonneneinstrahlung geschützt werden.
- Bei bichromatischen Messungen kann eine Referenzwellenlänge von z.B. 620 oder 690 nm verwendet werden.

**QUALITÄTSKONTROLLE:**

Die im Testkit enthaltenen **Kontrollen** (C+ und C-) ermöglichen die Überprüfung einer korrekten Testdurchführung. Die für die Kontrollen erwarteten, bei **450 nm** ermittelten Absorptionen (**A<sub>450</sub>**) variieren von Charge zu Charge, liegen aber, sofern der Test bei Raumtemperatur (18-25°C) durchgeführt wird, immer wie folgt:

**Positivkontrolle (C+): A<sub>450</sub> ≥ 1,0**

**Negativkontrolle (C-): A<sub>450</sub> ≤ 0,25**

**Anmerkung:** Die für die Kontrollen einer bestimmten Charge erwarteten A<sub>450</sub>-Werte werden auf dem Datenblatt, das jeder Testpackung beigelegt ist, angeführt und gelten bei einer Testdurchführung bei 20 ± 1°C. Wird der Test bei einer davon abweichenden Temperatur durchgeführt, so können sich die gemessenen A<sub>450</sub>-Werte von den erwarteten A<sub>450</sub>-Werten unterscheiden.

**ANGABE UND INTERPRETATION DER ERGEBNISSE:**

Die Proben werden entsprechend der jeweils gemessenen A<sub>450</sub>-Werte als positiv oder negativ eingestuft. Wurden die Proben stärker als 1:100 verdünnt, ist der jeweilige verwendete Verdünnungsfaktor zu berücksichtigen.

Bei einer Testdurchführung bei Raumtemperatur (18-25°C) gelten folgende Bewertungsbereiche:

**Negativ:** A<sub>450</sub> ≤ 0,30  
**Schwach positiv:** 0,30 < A<sub>450</sub> ≤ 0,50  
**Positiv:** A<sub>450</sub> > 0,50

**Anmerkung:** Die Temperatur kann einen starken Einfluss auf die Reaktivität der Testansätze haben. Wird der Test nicht bei Raumtemperatur (18-25°C) durchgeführt, ist eine Anpassung des Cutoffs zwischen dem negativen und dem schwach positiven Bewertungsbereich empfohlen. Zu diesem Zweck wird der auf dem Datenblatt, das jeder Testpackung beigelegt ist, angeführte Prozentsatz herangezogen. Dieser Prozentsatz ist chargenabhängig und entspricht dem A<sub>450</sub>-Wert des Cutoffs im Vergleich zum A<sub>450</sub>-Wert, der für die Positivkontrolle gemessen wird.

**ERGÄNZENDE CHARAKTERISIERUNG POSITIVER PROBEN:**

Die Anwesenheit Heparin-abhängiger Antikörper kann in einem **Heparin-Inhibitionstest** bestätigt werden. Zu diesem Zweck werden 500 µl der 1:100 mit HIA Probenverdünner (SD) verdünnten Probe mit **10 µl 100 IE/ml unfraktioniertem Heparin** vermischt und der Test wie in obiger Tabelle beschrieben wiederholt. Die hohe Endkonzentration von 2 IE/ml Heparin in der Probe hemmt die Bindung Heparin-abhängiger Antikörper an die Mikrotiterplatte. Ein positiver Heparin-Inhibitionstest (A<sub>450</sub>-Wert < 50% des im ursprünglichen Testansatz gemessenen A<sub>450</sub>-Wertes) bestätigt in den meisten Fällen die Anwesenheit **Heparin-abhängiger Antikörper**.

Umgekehrt schließt ein negativer Heparin-Inhibitionstest (A<sub>450</sub>-Wert > 50% des im ursprünglichen Testansatz gemessenen A<sub>450</sub>-Wertes) in den meisten Fällen die Anwesenheit Heparin-abhängiger Antikörper aus. Er kann jedoch gleichzeitig auf die Anwesenheit Protaminsulfat-abhängiger Antikörper hinweisen. Um diese zu bestätigen wird der Test mit der 1:100 mit HIA Probenverdünner (SD) verdünnten Probe wie in obiger Tabelle beschrieben, allerdings ohne Zugabe des **Plättchenlysats (CLY)**, wiederholt. Ein positives Ergebnis bestätigt die Anwesenheit **Protaminsulfat-abhängiger Antikörper**. Ein negatives Ergebnis deutet hingegen auf die Anwesenheit von Antikörpern gegen in der Probe bzw. im Plättchenlysats enthaltene Chemokine wie PF4, Interleukin 8 (IL-8) oder das Neutrophil-aktivierende Peptid 2 (NAP2) hin.

**KLINISCHE BEDEUTUNG:**

Eine Heparin-induzierte Thrombozytopenie (HIT) vom immunallergischen Typ (Typ II) kann während einer Heparinbehandlung auftreten<sup>1,2</sup> und ist eine der wesentlichen Komplikationen dieser Therapie. Sie beruht auf der Bildung von Antikörpern, die gegen Protein:Heparin-Komplexe gerichtet sind. Solche Heparin-abhängige Antikörper sind in der Lage, Plättchen zu aktivieren, was sowohl eine Thrombozytopenie als auch thrombotische Ereignisse zur Folge haben kann. Neben Antikörpern gegen Heparin im Komplex mit PF4<sup>3,4</sup> wurden, wenn auch seltener, Antikörper gegen Heparin im Komplex mit anderen Chemokinen wie IL-8 und NAP2 beschrieben.<sup>5</sup> Im Wesentlichen ist eine HIT Typ II auf Heparin-abhängige Antikörper vom IgG-Isotyp zurückzuführen, während Antikörper der IgA- und IgM-Isotypen meist asymptomatisch sind. Um das Risiko für klinische Komplikationen im Rahmen einer HIT Typ II zu bestimmen, kann jedoch ein Screening nach allen drei Isotypen als prognostische Marker hilfreich sein. Dafür ist der ZYMUTEST® HIA IgGAM (Art.Nr. RK040D) vorgesehen.

Die Vielfalt an Heparin-abhängigen Antikörpern, die für die Entstehung einer HIT Typ II verantwortlich sein können, erklärt eventuelle Diskrepanzen zwischen einem klinischen Bild und den Ergebnissen diagnostischer Tests<sup>6-8</sup> nur teilweise. Protaminsulfat-abhängige, d.h. gegen Protaminsulfat:Heparin-Komplexe gerichtete Antikörper können ein der HIT Typ II nahezu identisches Krankheitsbild (Pseudo-HIT) hervorufen, sind aber durch herkömmliche immunologische und funktionielle Tests nicht nachweisbar.<sup>9</sup> Protaminsulfat wird zur Neutralisation von Heparin, z.B. nach Herzoperationen, eingesetzt. Ein erhöhtes Risiko für eine Pseudo-HIT besteht dann, wenn Protaminsulfat-abhängige Antikörper bereits vor der Behandlung mit Protaminsulfat vorhanden sind, z.B. bei wiederholten Herzoperationen, aber vermutlich auch bei Diabetikern unter Insulintherapie, zumal gewisse Insulinpräparate Protaminsulfat als Stabilisator enthalten.<sup>10</sup> Nach aktuellem Erkenntnisstand wird nur Protaminsulfat-abhängigen Antikörper vom IgG-Isotyp klinische Relevanz beigemessen.

**TESTSPEZIFITÄT UND -CHARAKTERISTIK:**

Der ZYMUTEST® HIA MonoStrip IgG verwendet eine stabilisierte Beschichtung aus Protaminsulfat und einem Überschuss an biologisch verfügbarem, unfraktioniertem Heparin. Somit erlaubt er volle Reaktivität mit Heparin- bzw. Protaminsulfat-abhängigen Antikörpern. Dieses optimierte Testsystem ermöglicht hohe Reproduzierbarkeit durch Identifizierung Heparin- bzw. Protaminsulfat-abhängiger Antikörper vom IgG-Isotyp, indem die *in vivo*-Bindungsmechanismen dieser Antikörper an Protein:Heparin- bzw. Protaminsulfat:Heparin-Komplexe nachgeahmt werden.

**TESTEINSCHRÄNKUNGEN:**

Proben von Patienten, die an Entzündungen, Infektionskrankheiten und Autoimmunerkrankungen leiden, können wie in allen Autoantikörpertesten auch im ZYMUTEST® HIA MonoStrip IgG hohe Hintergrundsignale aufweisen und dadurch als schwach positiv interpretiert werden. In solchen Fällen empfiehlt sich die Wiederholung des Testes anhand einer Probe aus einer späteren Abnahme.

Die Ergebnisse dieses Testes sollten nicht als alleinige Grundlage für eine klinische Diagnose herangezogen werden. Obwohl ein positives Ergebnis auf die Anwesenheit Heparin- bzw. Protaminsulfat-induzierter Antikörper hinweist, ist dies noch **keine Bestätigung** für das Vorliegen einer HIT bzw. Pseudo-HIT.

**INTERFERENZEN:**

Keine Beeinflussung durch Heparin bis zu 1 IE/ml.

**LEISTUNGSMERKMALE:**

- Externe Studie: ZYMUTEST® HIA MonoStrip IgG vs. Serotonin Release Assay (SRA) mit n = 174 Proben. Übereinstimmung bedeutet, dass beide Tests entweder positiv oder negativ waren:

Übereinstimmungen	131
% Übereinstimmung	75,29

- Externe Zwei-Zentren-Studie: ZYMUTEST® HIA MonoStrip IgG vs. Asserachrom® HPIA mit n = 243 Proben:

ZYMUTEST® HIA	Asserachrom® HPIA	
	Positiv	Negativ
Positiv	33	17
Negativ	42	151
Übereinstimmung	76%	
Übereinstimmung, positiv	44%	
Übereinstimmung, negativ	90%	
Probenanzahl	243	

- Beispieldaten zur Reproduzierbarkeit:

Probe	Intra-Assay			Inter-Assay		
	n	A <sub>450</sub>	VK (%)	n	A <sub>450</sub>	VK (%)
HIA IgG Positivkontrolle	6	1,31	3,07	7	1,34	7,11

**REFERENZEN:**

- Gruel (1998). Thrombopénie induite par les héparines: manifestations cliniques et physiopathologie. *Presse Med* 27:7-12.
- Warkentin *et al.* (1995). Heparin-induced thrombocytopenia in patients treated with low molecular weight heparin or unfractionated heparin. *N Eng J Med* 332:1330-5.
- Amiral *et al.* (1992). Platelet factor 4 complexed to heparin is the target for antibodies generated in heparin-induced thrombocytopenia. *Thromb Haemostasis* 68:95-6.
- Amiral *et al.* (1995). Antibodies to macromolecular platelet factor 4-heparin complexes in heparin-induced thrombocytopenia: a study of 44 cases. *Thromb Haemostasis* 73:21-8.
- Amiral *et al.* (1996). Presence of autoantibodies to interleukin-8 or neutrophil-activating peptide-2 in patients with heparin-associated thrombocytopenia. *Blood* 78:449.
- Elalamy *et al.* (1999). Diagnostic et gestion des thrombopénies induites par l'héparine. *Rev Mal Respir* 16:961-74.
- Warkentin & Sheppard (2006). Testing for heparin-induced thrombocytopenia antibodies. *Transfus Med Rev* 20:259-72.
- Greinacher (2006). Heparin induced thrombocytopenia: frequency and pathogenesis. *Pathophysiol Haemost Thromb* 35:37-45.
- Amiral *et al.* (2009). Association of protamine sulfate antibodies with 'Pseudo-HIT' in heparin-treated patients. *Haemostaseologie* PP4.4-9-A65.
- Bakchoul *et al.* (2013). Anti-protamine-heparin antibodies: incidence, clinical relevance and pathogenesis. *Blood* 121:2821-7.