

INDONESIAN JOURNAL OF
**CLINICAL PATHOLOGY AND
 MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

DAFTAR ISI

PENELITIAN

Hubungan Antara Kadar Hemoglobin dengan Kadar Kreatinin Serum Penderita Penyakit Ginjal Menahun (Kronis) (<i>The Relationship between Haemoglobine and Creatinine Serum Concentration in Chronical Kidney Disease Patients</i>) Rosnety, M. Arif, Hardjoeno	97-99
Nilai Ureum, Kreatinin, dan Penyingkiran Kreatinin di Penderita Penyakit Ginjal Menahun (Kronik) (<i>Values of Ureum, Creatinine and Creatine Clearance in Chronically Kidney Disease Patients</i>) I. Ismail, Mutmainnah, Hardjoeno	100-103
Kajian Keluarga Thalassemia β -Hemoglobin E (<i>Family Study of β-Hemoglobin E Thalassemia</i>) Nurul A, Adi K Aman, Ratna A.G	104-108
Antigen OMP (<i>Outer Membrane Protein</i>) <i>Salmonella typhi</i> FAGA Lokal yang Imunodominan dan Spesifik terhadap Antibodi Penderita Demam Tifoid (<i>Immunodominant Parts of OMP from Local Phage Strain S. Typhi Which React Specifically with Antibody of Typhoid Fever Patients</i>) J Nugraha, Rahayu Anggraini, Prihatini, I Handojo, SP Edijanto	109-113
TELAAH PUSTAKA	
Trombositopenia pada Pengobatan dengan Heparin (<i>Trombocytopenia in Heparin Therapy</i>) B. Mulyadi, J. Soemarsono	114-123
LAPORAN KASUS	
Infestasi Plasmodium dalam Sumsum Tulang Penderita Malaria (<i>Plasmodium Infestation in Malarian Patient's Bone Marrow</i>) M. I. Diah P, Tonang D.A, Lusi O.W, J.B. Suparyatmo, Yuwono H.S.	124-128
MENGENAL PRODUK BARU	
Identifikasi Cepat Mikroorganisme Menggunakan Alat Vitek-2 (<i>Rapid Identification of Microorganism by Vitek-2</i>) Prihatini, Aryati, Hetty	129-132
MANAJEMEN LABORATORIUM	
Survei Turn Around Time pada Pelayanan Laboratorium (<i>Turn Around Time Survey on The Laboratory Services</i>) Linda Rosita, O. Sianipar	133-136
INFORMASI LABORATORIUM MEDIK TERBARU	137-140

TROMBOSITOPENIA PADA PENGOBATAN DENGAN HEPARIN

(Trombocytopenia in Heparin Therapy)

B. Mulyadi,* J. Soemarsono*

ABSTRACT

Heparin induced thrombocytopenia (HIT), a well known side effect of heparin therapy, occurs in 1–5% of adults exposed to heparin. Unlike other drug induced thrombocytopenia, HIT does not usually cause bleeding, but instead cause thrombosis about 50% of HIT. The thrombosis in HIT can lead to limb gangrene or even death. The Importance to know the HIT is the wide use of heparin led to the increasing recognition of untoward complications including HIT, relatively uncommon but severe side effect of heparin therapy, unpredictable, and difficulty in diagnosing and treating HIT. HIT is mediated by an antibody that recognizes an epitope on the platelet factor (PF4)-heparin complex. The platelet factor (PF4)-heparin complex binds to Fc_YRII receptor on the platelet surface and cross-links the receptors. This induces intense platelet activation and aggregation and simultaneously activates blood coagulation pathways, these changes are probably the basis of the thrombosis events in HIT. HIT was classified into type 1 and 2 base on the pathogenesis and the severity of HIT. Regular platelet count monitoring is best suited for early diagnosis of HIT. Functional (serotonin release, platelet aggregation test) and antigen assays (solid phase enzyme immunoassay, fluid phase, and particle gel immunoassay) are available to confirm HIT. HIT was made base on the clinical finding and laboratory examination. Once HIT is clinically suspected, heparin should be stopped immediately and treatment with an alternative anticoagulant, waiting for laboratory confirmation may be catastrophic. Early diagnosis of HIT will decrease the morbidity and mortality.

Key words: heparin-induced thrombocytopenia (HIT), thrombosis, platelet count, functional and antigen assays

PENDAHULUAN

Heparin telah digunakan lebih dari 50 tahun sebagai antikoagulan yang tepat guna (efektif) baik untuk mencegah trombus di penderita yang berisiko tinggi maupun pengobatan (terapi) penyakit tromboemboli. Secara umum pengobatan (terapi) menggunakan heparin yang memadai (adekuat) menurunkan angka kematian dan kesakitan akibat penyakit trombosis akut, tetapi penggunaan heparin juga menyebabkan penyulit (komplikasi) perdarahan dan trombositopenia, sehingga perlu memantau (monitoring) dosis antikoagulan dan dampak (efek) antiplatelet. Di Amerika diperkirakan 1 miliar unit heparin dipergunakan oleh 12 juta penderita pertahun.¹

Petunjuk (Indikasi) penggunaan heparin semakin banyak, disertai juga peningkatan trombositopenia. Pada umumnya heparin digunakan untuk trombosis vena dalam, emboli paru (pencegahan/profilaksis atau pengobatan/terapi), sindroma koroner akut, koagulopati akut dan menahun (kronis), emboli di arteri, sirkulasi ekstrakorporeal (hemodialisis, hemofiltrasi, bypass jantung paru selama operasi jantung, kateter arteri dan vena, kateter arteri pulmonal), tatalangkah (prosedur) radiologis intervensi (diagnosis dan pengobatan/terapi).²⁻⁵

Trombositopenia akibat heparin atau *heparin induced thrombocytopenia (HIT)* adalah dampak (efek) samping obat yang penting (serius), ditandai dengan trombosis vena, arteri, penurunan trombosit, menguatnya daya kerja (aktivasi), dan pengumpulan (agregasi) trombosit setelah menggunakan heparin.^{2,6,7} Proses di atas disebabkan oleh adanya kerumilan (kompleks) imun heparin/PF 4-Ig G dengan trombosit.^{2,6-15}

Kepentingan mengetahui trombositopenia pada penggunaan heparin ialah karena pemakaian heparin secara luas dan cenderung meningkat, menimbulkan penyulit (komplikasi) yang berat. Kejadian trombositopenia akibat heparin yang tidak dapat diramalkan (prediksi) dan adanya kesukaran dalam diagnosis dan pengobatan (terapi) trombositopenia akibat heparin.¹⁶⁻¹⁸ Pengenalan *HIT* lebih awal akan mengurangi angka kesakitan dan kematian.^{1,19}

Heparin

Heparin pertama kali ditemukan dari ekstrak hati pada tahun 1916, dan selanjutnya kini secara umum didapat dari ekstrak paru sapi atau mucosa usus babi.¹ Heparin endogen merupakan mukopolisakarida yang mengandung sulfat.²⁰ Secara umum ditemukan di jaringan manusia dan sel radang seperti sel

* Bagian/Instalasi Patologi Klinik FK Universitas Airlangga/RSU Dr. Soetomo Jl. Prof. Dr. Moestopo 6-8 Surabaya, e-mail: pdspatklin_sby@telkom.net

jaringan ikat (*mast*). Heparin sulfat terdapat di sel endotel sepanjang dinding pembuluh darah. Heparin dan heparin sulfat mengikat antitrombin, protein penghambat utama proses koagulasi. Ikatan heparin dan antitrombin mempercepat daya hambat terhadap *serin protease* yaitu: faktor IXa, Xa, XIa, XIIa, *kallikrein*, dan trombin. Kemudian terjadi hambatan berupa perubahan fibrinogen menjadi fibrin dan hambatan pengumpulan (agregasi) trombosit oleh trombin. Kegiatan (aktivitas) antikoagulan bergantung berat molekul heparin. Heparin dengan berat molekul yang rendah (yang berasal dari mukosa babi) lebih sedikit menyebabkan perdarahan atau HIT karena lebih sedikit perubahan yang terjadi pada fungsi trombosit dibandingkan dengan heparin dengan berat molekul yang besar (dari paru sapi). Terdapat 3 macam jalan tempuh (rute) pemberian heparin: suntikan subkutan, infus intravena berkala, dan infus intravena terus-menerus.

Kepekatan (konsentrasi) heparin yang sesuai dan penyulit (komplikasi) yang ditimbulkan minimal adalah 0,2–0,5 unit/ml plasma. Pemantauan dosis heparin dilakukan dengan pemeriksaan *APTT* (*activated partial thromboplastin time*) dan *TT* (*thrombin time*).^{1,20}

Heparin dapat disuling-tingkat (fraksinasi) menjadi dua (2) bagian dengan kromatografi gaya gabung (*affinity chromatography*) dengan menggunakan antitrombin nirlasak (*immobilized antithrombin*). Fraksi pertama, heparin dengan gaya gabung (afinitas) tinggi, bertanggung jawab untuk hampir semua kegiatan (aktivitas) anti koagulan. Suling-tingkat (fraksi) kedua, heparin bergaya gabung (afinitas) rendah, tidak mempunyai kegiatan (aktivitas) anti koagulasi. Kegiatan (aktivitas) antikoagulan dinyatakan dalam satuan nisbi (relatif

unit) yaitu bakuan internasional (*internasional standard/ IU*). Dari proses suling-tingkat (fraksinasi) di atas didapatkan LMWH sulung-tingkat (fraksi) pertama.

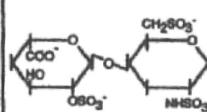
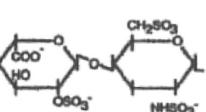
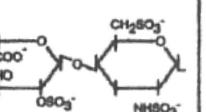
Bahaya (Resiko) trombositopenia pada pemakaian heparin

Di 50% penderita yang menggunakan heparin dapat terjadi ketergantungan antibodi heparin (*heparin dependent antibody*) dan 3% di antaranya mengalami HIT. Penyulit (Komplikasi) tromboemboli terjadi di hampir 50% penderita trombositopenia akibat heparin.^{22,23} Briege *et al*,²¹ menunjukkan bahwa 20% penderita HIT mengalami kerusakan jaringan dan 30% berakhir dengan kematian.¹²

Penyulit (Komplikasi) HIT di antaranya trombosis vena dalam, emboli paru, infark jantung, sumbatan arteri jaringan/organ, kejadian cerebrovaskular/*stroke*, nekrosis kulit, plak eritematus, kerusakan organ (adrenal, saluran cerna, limpa, hati, ginjal atau kandung empedu), bahkan menimbulkan kematian.^{3,18}

Peklinik (Klinisi) harus mempunyai kecurigaan tinggi terhadap HIT di penderita yang diberi heparin terutama penderita dengan bahaya (risiko) tinggi yaitu yang pernah mendapat heparin sebelumnya. Adanya ketergantungan antibodi heparin (*heparin dependent antibody*), riwayat HIT, penderita kardiovaskular atau ortopedi pascaoperasi.^{18,24-28}

Hitung jumlah trombosit harian dan penghentian heparin pada hitung trombosit dengan jumlah tertentu disarankan (rekomendasikan) untuk mencegah trombosis dalam HIT. Beberapa peneliti berpendapat penghentian heparin harus dilakukan bila jumlah trombosit kurang dari $150 \times 10^9/L$

	Heparin	LMW Heparin	LMW Heparinoid
Disaccharide Backbone		 HS (84%)	 DS (12%)
Mean Molecular Weight	12-15,000	5-8,000	8,000

Gambar 1. Struktur heparin²¹

Ket: HS: heparan sulphate, DS: dermatan sulphate, CS: chondroitin sulphate

atau bila terjadi penurunan trombosit sebesar 50%. Penurunan trombosit sebesar 50% lebih bermakna dibandingkan dengan jumlah trombosit yang kurang dari $150 \times 10^9/L$.¹⁸ Dalam suatu penelitian prospektif menunjukkan 2,4% penderita yang diobati (terapi) dengan LMWH dan 7,4% penderita dengan UFH berkembang menjadi HIT.²

Patogenesis trombositopenia akibat penggunaan heparin

Penggolongan (Klasifikasi) HIT: ada dua jenis (tipe) trombositopenia akibat heparin, yaitu HIT tipe 1 dan tipe 2:

HIT Tipe 1

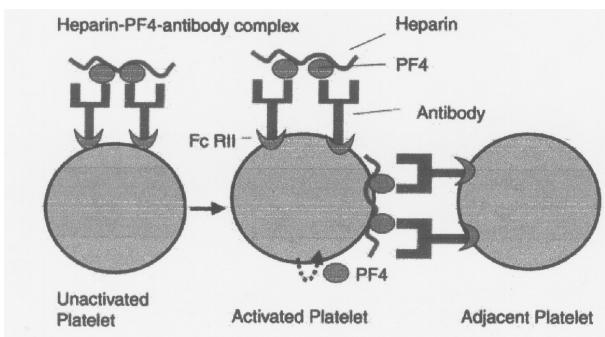
Terjadi akibat interaksi heparin dengan trombosit yang menyebabkan trombositopenia. Tampaknya PF 4 tetap diperlukan, walaupun jumlahnya tidak banyak, sehingga heparin dapat terikat di permukaan trombosit. Mekanisme tersebut masih belum diketahui secara tepat. HIT jenis (tipe) 1 tidak disebabkan oleh mekanisme imun, hal ini didukung adanya peningkatan kembali jumlah trombosit meskipun heparin tetap diberikan.⁸

HIT Tipe 2

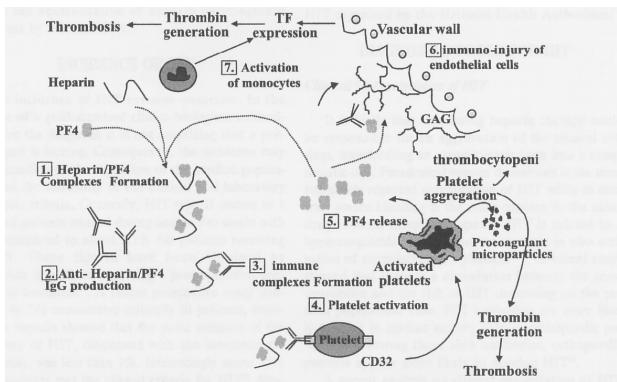
Pada tahun 1992, telah diketahui bahwa sebagian besar antigen di HIT adalah heparin rumpil (kompleks) dan PF 4^{2,6,10-15,21} serta protein lain yang dilepaskan oleh trombosit seperti *neutrophyl activating peptide 2* (NAP 2) dan interleukin 8 (IL 8).^{14,17} NAP 2 dan IL 8 yang bersifat bergantung heparin (*heparin independent*) sering meningkat dalam keadaan (kondisi) komorbid seperti infeksi, kelainan autoimun, dan keganasan. PF 4 adalah protein tetramerik yang bermuatan positif yang dihasilkan oleh granula α trombosit. PF 4 dapat ditemukan di plasma dalam jumlah kecil, meningkat bila trombosit mengalami peneralan (aktivasi). PF 4-heparin rumpil (kompleks) terikat di trombosit melalui letak ikatan heparin (*heparin binding site*). Ikatan PF4-heparin mengaruhi (induksi) perubahan protein yang menyesuaikan diri (*conformational protein*) PF 4 sehingga menampakkan *cryptic epitope* tertentu tempat antibodi terikat. Polisakarida lain (bermuatan negatif) yang dapat membentuk ikatan dengan PF 4 berupa heparin sulfat, *polyvinylsulfonate*. Ikatan ini bergantung di panjang rantai polisakarida dan derajat *sulfation*. LMWH lebih pendek daripada UFH dan terikat lebih lemah di PF4. Pembentukan rumpilan (kompleks) tersebut terjadi secara baik (optimal) dalam kepekatan (konsentrasi) PF 4 dan heparin yang *stoichiometric* (pada kepekatan/konsentrasi heparin dan PF 4 yang sama). Kepekatan (konsentrasi) heparin dan PF4 yang sama jarang terjadi, sebagai contoh pada pemberian heparin secara infus terus menerus, kepekatan (konsentrasi) dalam plasma 0,2–0,4 IU/ml atau 100–200 nmol/L,

kepekatan (konsentrasi) ini lebih tinggi daripada pemberian secara subkutan. Dalam semua keadaan (situasi) klinis kadar heparin dalam plasma lebih banyak dibandingkan dengan PF 4 (kepekatan/konsentrasi maksimal PF 4 setelah pemberian heparin intravena dan pelepasan PF 4 dari sel endotel sebesar 8 nmol/L). Kepekatan (konsentrasi) PF 4 plasma yang baik (optimal) mungkin terjadi di penderita yang mengalami peneralan (aktivasi) trombosit *in vivo* yang besar terutama di penderita yang mengalami pembedahan (pembedahan daerah pinggul, *cardiopulmonary bypass*). Antibodi –PF 4 heparin rumpil (kompleks) akan terikat di trombosit melalui penerima (reseptor) Fc (Fc γ RIIa). Hal tersebut diikuti oleh aruhan tanda (induksi signal) intraseluler dan peneralan (aktivasi) trombosit menyebabkan pelepasan granula trombosit, zarah (partikel) mikro, biosintesis tromboksan dan agregasi trombosit. PF 4 yang dilepaskan oleh trombosit yang terteral (aktivasi) akan bersitindak (interaksi) dengan heparin ekstraseluler untuk membentuk lebih banyak lagi PF 4-heparin rumpil (kompleks). Permukaan trombosit yang mengikat PF 4 heparin rumpil (kompleks) merupakan tempat tambahan untuk mengikat antibodi HIT. Tidak seperti ikatan pertama, akhir-akhir ini diketahui pengikatan sisa antibodi PF4-heparin rumpil (kompleks) melalui *Fab domain*. Dua molekul antibodi HIT yang berdekatan terikat di trombosit melalui *Fab domain*, sehingga masih mempunyai *Fc domain* yang bebas, ikatan silang penerima (reseptor) Fc dengan trombosit yang lain akan diikuti peneralan (aktivasi) trombosit, pelompokan (agregasi) trombosit dan pelepasan bahan koagulan, peneralan (aktivasi) jalur koagulasi dan pelepasan trombin serta pembentukan trombus. Trombositopenia terjadi akibat penyingkiran trombosit yang terteral (aktivasi) dan trombosit yang terlapisi antibodi oleh *reticulo endothelial system*.

PF 4 juga terikat di *glycosaminoglycans* (GAGs) yang secara alami terdapat di sel endotel. Imun rumpil (kompleks) antara PF 4 GAGs dan antibodi HIT akan meneral (aktivasi) dan merusak sel



Gambar 2. Ikatan heparin-PF 4 antibodi rumpil (kompleks)²⁹



Gambar 3. Patogenesis HIT²

endotel. Kerusakan sel endotel akan melepaskan faktor jaringan, meneral (aktivasi) koagulasi darah dan menghasilkan trombin. Zarah (Partikel) mikro dari trombosit dan antibodi terhadap PF 4-heparin menyebabkan tandaan (ekspresi) faktor jaringan monosit, hal tersebut meningkatkan terjadinya trombosis. Antibodi di sebagian besar penderita (> 80%) adalah Ig G dengan atau tanpa IgA, IgM, beberapa penderita (< 20%) hanya IgA atau IgM saja. IgA dan IgM tidak mengakibatkan peneralan (aktivasi) trombosit karena trombosit tidak mempunyai penerima penderita yang berantibodi IgA dan atau antibodi IgM saja biasanya tidak bergejala (asimtomatis).^{2,29}

Gambaran klinis HIT

Terjadinya HIT tidak bergantung jalan tempuh (rute) pemberian heparin apakah secara intravena, subkutan, intramuskuler dan apakah digunakan sebagai profilaksis atau terapi. Sebagian besar penderita tidak mengalami perdarahan meskipun perdarahan serius dapat terjadi di sebagian penderita HIT seperti perdarahan pascaoperasi, intra serebral, saluran cerna, retroperitoneal.²

Penyulit (komplikasi) HIT yang terbanyak adalah trombosis, yang dapat terjadi di arteri atau vena, bahkan sering terjadi di beberapa tempat sekaligus dan biasanya dalam bentuk gumpalan putih (*white clot syndrome*).¹

Tabel 2. Gambaran klinis HIT^{1,10}

HIT-tipe 1	HIT-tipe 2
<ul style="list-style-type: none"> - nonimmune - penurunan trombosit yang ringan setelah menggunakan heparin 1 sampai 2 hari, biasanya tidak di bawah $100 \times 10^9 /L$ - trombosit dapat meningkat kembali meskipun heparin tetap diberikan - pada jenis (tipe) ini sukar dibedakan dengan dengan jenis (tipe) 2 awal - pada 10 sampai 30% pasien yang mendapat UFH. 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>immune-mediated</i> (antibodi terhadap PF4 complex) - jumlah hitung trombosit hingga $30-50 \times 10^9 /L$ dalam hari ke-7 sampai 14 pada penggunaan heparin (1 sampai 2 hari bila sebelumnya pernah menggunakan heparin kurang dari 100 hari) - penghentian heparin harus segera dilakukan - kemungkinan penyulit (komplikasi) trombosis 30 sampai 50%, rerata 30% menyebabkan kematian - terjadi pada 1 sampai 5% pasien yang mendapat UFH

Tabel 1. Ragam tampilan (Variasi manifestasi) klinis²

Trombosis multiple (white clot syndrome) 0,01–0,1%

- Peneralan (aktivasi) sel endotel oleh Ig G HIT
- Disseminated intravascular coagulation
- Peran IgG penyebab peneralan (aktivasi) trombosis

Isolated thrombosis, 30–80% dan bergantung faktor klinis penderita

- Trombosis arteri trauma vaskular
- Trombosis vena imobilisasi pascaoperasi
- Gangren jaringan terapi warfarin

Trombositopenia tanpa gejala (asimptomatis), 30–50% Bahaya (risiko) trombositopenia mungkin bergantung:

- Dosis heparin
- Fungsi penerima (reseptor) Fc trombosit penderita
- Ragam batasan (variasi definisi) trombositopenia

HIT IgG serokonversi, 0–10%

Kekerapan (Frekuensi) serokonversi mungkin berhubungan dengan

- Derajat sulfation dan panjang rantai heparin
- Dosis dan cara memberikan heparin

clots) atau lemping kaya thrombus (*platelet rich thrombi*). Trombus di vena lebih sering daripada trombus di arteri (rasio 4 : 1).¹ Trombus di arteri sering terjadi di penderita yang diberi heparin untuk kelainan kardiovaskular, sedangkan trombus di vena sering terjadi di pasien yang menjalani pembedahan. Trombus di arteri atau vena dapat menyebabkan infark miokard, strok, emboli paru, ginjal, kegagalan organ yang lain, iskemia dan gangren. Terjadinya trombosis di HIT selalu disertai trombositopenia, penelitian retrospektif oleh Warkentin *et al*⁷ selama 14 tahun terhadap 127 penderita HIT menunjukkan 65 penderita mengalami trombositopenia setelah kejadian trombosis, 13 penderita diketahui mengalami trombosis (pemeriksaan setelah meninggal) saat perawatan di rumah sakit, sisanya trombositopenia tanpa trombosis dan akan berkecenderungan (risiko) trombosis 52,8% dalam 30 hari berikutnya sejak pengamatan awal.²

Secara umum patokan (kriteria) diagnostik HIT ialah: penurunan trombosit selama pengobatan (terapi) heparin, tidak ada penyebab trombositopenia yang lain, peningkatan jumlah hitung trombosit

Tabel 3. Sistem pencatatan (skoring) untuk menilai kemungkinan HIT^{1,11}

	2 poin	1 poin	0 poin
Trombositopenia	penurunan jumlah trombosit > 50% atau titik terendah 20 sampai $100 \times 10^9/L$	penurunan jumlah trombosit 30–50% atau titik terendah $10-19 \times 10^9/L$	penurunan jumlah trombosit < 30% atau titik terendah < $10 \times 10^9/L$
Waktu penurunan trombosit	terjadi pada hari ke-5 sampai 10 atau < 1 hari jika pajanan ulang < 100 hari pajanan terdahulu	terjadi > 10 hari	penurunan trombosit terlalu dini tanpa pajanan heparin sebelumnya
Trombosis	Trombosis baru, nekrosis kulit, reaksi sistemik akut	trombosis yang berulang dan meningkat (progresif), lesi kulit eritematus, dugaan trombosis tetapi belum terbukti	tidak ada
Penyebab lain trombositopenia	tanpa penyebab lain penurunan trombosit	kemungkinan penyebab lain	penyebab lain yang jelas

Ket: Nilai 6 sampai 8 : kemungkinan tinggi, 4 sampai 5 : sedang, 0 sampai 3 : rendah

Tabel 4. Diagnosis banding HIT^{9,10,31,32}

<i>Spurious thrombocytopenia (pseudo thrombocytopenia)</i>	Antikoagulan lupus
Trombositopenia akibat transfusi masif	<i>Post transfusion purpura</i>
Trombositopenia herediter dan kongenital	Trombositopenia yang didapat karena pemendekan umur trombosit
<i>Thrombocytopenia due to splenic pooling (sequestration)</i>	Trombositopenia pada kehamilan
Kegagalan sumsum tulang	<i>Neonatal alloimmune thrombocytopenia</i>
<i>Cyclic thrombocytopenia</i>	<i>Disseminated intravascular coagulation (DIC)</i>
<i>Idiopathic thrombocytopenic purpura</i>	Alkohol
Infeksi virus	Trombositopenia akibat obat sulfonamide
<i>Systemic lupus erythematosus (SLE)</i>	<i>Lymphoproliferative disorders</i> (limfoma, lekemia limfositik kronik)
Infeksi HIV	

Tabel 5. Uji laboratorik penderita/pasien dugaan HIT¹⁰

Tes fungsional	Tes antigen (immunoassays)
Pemeriksaan trombosit yang dicuci	
Uji pelepasan serotonin	<i>Solid phase enzyme immunoassay</i>
Uji agregasi trombosit yang diinduksi heparin (HIPA, heparin induced platelet activation)	GTI-PF 4 immunoassay
Pemeriksaan plasma kaya trombosit	<i>Asserachrom (STAGO, France)</i>
Uji agregasi trombosit	PF 4-polyvinylsulfonate antigen assay
	<i>Fluid phase immunoassay</i>
	<i>Particle gel immunoassay</i>

setelah pengobatan (terapi) heparin dihentikan, penguatan (konfirmasi) antibodi plt-heparin dengan uji laboratorik.^{1,10}

HIT sering tidak terdiagnosis, antara lain akibat kurang waspada karena gejala klinis tidak khas di sebagian besar penderita, misalnya HIT lebih sering berhubungan dengan kejadian trombosis bukan perdarahan. Adanya penyebab trombositopenia yang lain misalnya sepsis, *disseminated intravascular coagulation*, hemodialisis, kelainan primer sumsum tulang, kegagalan berbagai organ, keadaan hiperkoagulasi dapat menyebabkan kemungkinan HIT sering terabaikan.³⁰

Pemeriksaan laboratorium

HIT secara umum merupakan sindroma klinik patologis yang menunjukkan adanya kelainan klinis dan laboratoris.¹⁰

Uji pelepasan serotonin dari trombosit penyumbang (donor) yang ditandai (label) ^{14}C mempunyai kepekaan (sensitivitas) dan kekhasan (spesifitas) > 90%.^{8,19} Uji pelepasan serotonin masih tetap sebagai baku emas (*gold standard*).³⁰ Pemeriksaan *immunoassay* ELISA lebih banyak tersedia di laboratorium dan tampaknya menjadi metode rujukan (referens) guna mendiagnosa HIT. Dalam penelitian perbandingan ketepatan

Tabel 6. Keterbatasan uji fungsional dan *immunoassa Heparin factor* menunjukkan formasi imunologis rumpil (komplek) antara heparin dan protein selain PF 4^{19,30}

Imun rumpil (kompleks)	Uji fungsional (agregasi trombosit)	Uji antigen (HPIA heparin-PF 4)
IgG/Heparin PF 4	+	+
IgA &/IgM heparin PF 4	-	+
IgG heparin factor	+	-
IgA atau IgM heparin factor	-	-

Ket: HPIA (*Heparin induced platelet antibody*)

Tabel 7. Sensitivitas dan spesifitas pemeriksaan laboratorium konfirmasi HIT³⁴

Macam pemeriksaan	Kepakaan (Sensitivitas) %	Kekhasan (Spesifitas) %	
		4hr pertama	> hari ke-5
Uji pelepasan serotonin (¹⁴ C)	90–98	> 95	80–97
Uji pelompokan (agregasi) trombosit	90–98	> 95	80– 97
Agregasi trombosit dengan plasma kaya trombosit	35–85	90	82
Uji platelet factor 4/heparin antibody	> 90	> 95	50–93
Gabungan (Kombinasi) uji antigen dan meneral kepekaan (<i>sensitive activation</i>)	100	>95	80–97

Tabel 8. Perbandingan uji laboratorik¹¹

Uji	Kelebihan	Kekurangan
PF4/polianion-EIA keniagaan (komersial)	Tersedia secara luas, kepekaan (sensitivitas) yang tinggi	Menemukan (deteksi) anti PF 4/polianion IgA, IgM, dan IgG non patogenik
PF4/heparin-EIA, deteksi IgG	Menemukan IgG saja, meningkatkan kekhasan (spesivitas)	Tersedia terbatas (laboratorium penelitian)
Pelompokan (agregasi) trombosit (plasma sitrat kaya trombosit)	Banyak laboratorium yang mempunyai aggregometer trombosit	Kepakaan (sensitivitas) dan kekhasan (spesifitas) yang kurang baik, jumlah uji yang dapat dilakukan terbatas, dan memerlukan penyumbang (donor) trombosit
Uji peneralan (aktivasi) trombosit yang dicuci (pelepasan serotonin)	Kepakaan-kekhasan (sensitivitas-spesivitas) paling tinggi	Sukar secara teknis, terbatas di laboratorium penelitian, memerlukan penyumbang (donor) trombosit

(akurasi) uji metode ELISA dan agregasi trombosit menunjukkan kedua ujian tersebut saling melengkapi.¹⁹

Meskipun tidak ada uji dengan kesahihan (reliabilitas) 100%, tetapi dua kelompok uji di atas cukup untuk mendiagnosis HIT.^{11,19,30,33}

Hasil uji fungsional (pelepasan serotonin) yang positif khas (spesifik) untuk mendiagnosis HIT dan tidak membutuhkan uji konfirmasi yang lain. Bila hasil pemeriksaan negatif, pemeriksaan antibodi memberi informasi yang berguna, bila hasil positif maka penderita diobati (terapi) sebagai HIT. Bila kedua pemeriksaan negatif, diagnosis HIT dapat disingkirkan.³³

Antibodi yang lemah (non patogenik) dapat tertemukan (deteksi) terutama oleh metode ELISA sehingga hasil positif tidak selalu memperkuat (konfirmasi) HIT terutama untuk hasil positif lemah dan diketahui penyebab lain trombositopenia.^{11,30} Kekhasan (spesifitas) pemeriksaan metode ELISA rendah karena antibodi ini tertemukan (deteksi)

di 50% penderita 1 minggu setelah pembedahan jantung.¹¹ Waktu terbaik (optimal) yang diperlukan adalah 24–72 jam setelah pemberian heparin agar kepercayaan (validitas) hasil laboratorik terutama di penderita ortopedik, kardiovaskular pascaoperasi, dan penderita yang diberi heparin sebelumnya (kurang dari 100 hari). Secara umum rerata pembentukan antibodi HIT adalah dalam waktu 5 hari.¹⁹

Guna mendiagnosis HIT, sarana di laboratorium sedikit-sedikitnya harus dapat menguji 1 jenis peneralan (tipe aktivasi) dan uji antigen yang peka (sensitif) dengan beberapa alasan, misalnya: rerata 2% serum HIT penderita yang diulang menunjukkan hasil uji peneralan (aktivasi) yang meragukan dan uji antigen harus dilakukan untuk mendiagnosis HIT. Di penderita yang secara klinis dicurigai HIT (jarang) dengan uji antigen yang negatif tetapi positif untuk uji peneralan (aktivasi fungsional), hal ini menunjukkan kemungkinan ada antigen lain selain PF 4 (NAP 2, IL 8), sedangkan penderita dengan kemungkinan HIT yang kecil, hasil uji antigen yang

positif tidak cukup guna mendiagnosis HIT kecuali dengan uji peneralan (aktivasi) yang positif.³⁴

Uji yang berdasarkan agregasi atau peneralan (aktivasi) trombosit

Uji pelompokan (agregasi) trombosit

Uji ini bertujuan mengukur pelompokan (agregasi) trombosit akibat IgG di serum atau plasma penderita HIT. Plasma kaya trombosit terdapat di individu normal (antikoagulan sitrat 3,8%). Plasma kaya trombosit didapatkan dengan memusingkan (sentrifus) 1000 rpm, 10 menit dan kepekatan (konsentrasi) trombosit yang didapatkan $200\text{--}300 \times 10^9/\text{L}$. Uji ini digunakan sebagai uji awal HIT. Hasil yang positif secara umum mendukung diagnosis HIT dan uji selanjutnya tidak diperlukan. Karena kepekaan (sensitifitas) yang rendah, maka hasil negatif tidak menyingkirkan HIT di penderita dengan kemungkinan klinis yang sedang atau tinggi.

Plasma kaya trombosit (individu normal) dicampurkan dengan plasma/serum penderita. Agregasi diamati setelah 3–5 menit. Selanjutnya diikuti penambahan heparin atau saline dan agregasi diamati setelah 10–20 menit. Peningkatan agregasi trombosit ditandai dengan peningkatan *light transmission* lebih dari 20% dari sebelum penambahan heparin dosis rendah (mempunyai rentang antara 0,1–1 $\mu\text{/ml}$) dan plasma penderita (*one point assay*). Kontrol negatif menggunakan salin. Uji ini dapat juga dilakukan dengan uji cara dua titik (*two point methode test*) yang menggunakan heparin dosis tinggi (100 $\mu\text{/ml}$) dan rendah. Penghambatan pelompokan (agregasi) diharapkan terjadi dengan dosis yang tinggi, hal ini disebabkan dengan heparin dosis tinggi terjadi gangguan ikatan heparin-PF4 di permukaan trombosit.^{35,36}

Positif palsu dapat terjadi akibat pengampaian (suspensi) trombosit dalam plasma sitrat yang bereaksi nonspesifik terhadap heparin karena adanya fibrinogen dan pereaksi tahap akut (*acute phase reactans*) yang lain, kadar kalsium yang tinggi, dan IgG yang lain.^{34,37}

Heparin induced platelet activation (HIPA)

Uji ini merupakan uji pelompokan (agregasi) trombosit yang menggunakan sumuran mikrotiter (*microtiter wells*) yang berbentuk huruf U. Pada uji ini diperlukan ampaian (suspensi) trombosit penyumbang (donor) normal yang dicuci, heparin dosis tinggi dan rendah, dapar (buffer) untuk kendali (control) negatif dan 4 $\mu\text{g/ml}$ kolagen sebagai kendali (control) positif. Pemeraman (Inkubasi) 20 μl serum atau plasma penderita yang sudah diawateral (inaktivasi) dengan pemanasan menggunakan 75 μl ampaian (suspensi) trombosit yang sudah

dicuci dan 10 μl heparin pada suhu ruangan selama 45 menit dengan pengaduk magnetik (*magnetic stirrer*) dan hasil dibaca setelah 30 menit secara kasat mata (visual) adanya pelompokan (agregasi) jernih dengan heparin dosis rendah, (0,1–0,3 $\mu\text{/ml}$) dan tidak ada/kurangnya pelompokan (agregasi) keruh di heparin dosis tinggi (100 $\mu\text{l/ml}$).³⁶ Beberapa laboratorium menggunakan empat (4) macam trombosit penyumbang (donor) yang berbeda, sehingga meningkatkan kepekaan (sensitivitas) diagnostik. Uji dinyatakan positif bila terjadi pelompokan (agregasi) di tiga (3) dari empat (4) penyumbang (donor) trombosit. Bila pada pemberian heparin dosis tinggi hasil positif, maka hasil dianggap meragukan akibat reaksi yang tidak khas (non spesifik). Masalah mendasar dari uji ini ialah tidak menggunakan *titik akhir (endpoint)* yang khas (spesifik), sehingga tanggap peneralan (respon aktivasi) trombosit bisa disebabkan oleh sisa trombin atau imun rumpil (kompleks). Hal yang perlu diperhatikan untuk meningkatkan kepekaan (sensitivitas) dan kekhasan (spesivitas) pemeriksaan ini adalah peneralan (aktivasi) trombosit yang bermakna dalam kepekatan (konsentrasi) heparin 0,1–0,3 $\mu\text{/ml}$. Peneralan (aktivasi) trombosit tidak terjadi pada 100 $\mu\text{/ml}$, hambatan peneralan (aktivasi) trombosit oleh antibodi monoklonal terhadap CD 32 yang menghambat penerima (reseptor) FC trombosit (meningkatkan kekhasan/spesifisitas), serta penggunaan plasma penderita HIT atau penyumbang (donor) trombosit yang sudah diketahui reaktif terhadap *anti PF 4/heparin antibody* sebagai kendali (control) positif.

Pencucian trombosit penyumbang (donor) perlu dilakukan untuk mempertahankan meneral ulang (reaktivitas) trombosit terhadap antibodi HIT karena pencucian trombosit penyumbang (donor) akan menghilangkan faktor penghambat yang ada di dalam plasma. Sebelum pemeriksaan, serum/plasma penderita perlu dipanaskan pada suhu 56 °C selama 30 menit untuk mengawateral (inaktivasi) sisa trombin. Rerata 5% dari pemeriksaan memberikan hasil yang meragukan, yaitu serum menyebabkan peneralan (aktivasi) trombosit di semua dosis heparin yang diberikan. Pemeriksaan yang dilakukan tanpa pemanasan tampak memberikan hasil positif atau negatif yang jelas karena tanpa pemanasan tidak terjadi pelompokan (agregasi) imun IgG rumpil (kompleks), 2% di antaranya masih memberi hasil yang meragukan, sehingga perlu mutu (kualitas) pemeriksaan dikendalikan (control) menggunakan kendali (control) positif lemah dan kuat yang menjamin trombosit yang digunakan mampu menemukan (deteksi) serum HIT yang lemah atau menguji antigen dalam keadaan (kondisi) tersebut. Perlu dipertimbangkan ragam (variasi) antara keterlanjutan ulang (reaktivitas) serum penderita HIT yang menyebabkan peneralan (aktivasi) trombosit

dan ragam (variasi) teral ulang (reaktivitas) trombosit (sangat reaktif atau kurang reaktif).³⁸

Uji pelepasan serotonin trombosit (¹⁴C-SRA, serotonin release assay)

Tujuan pemeriksaan untuk mengukur pelepasan serotonin dari trombosit yang mengalami pelompokan (agregasi) dalam serum penderita HIT.

Plasma kaya trombosit disiapkan (dipusingkan/sentrifugasi 120 g, 20 menit) dari darah dengan antikoagulan *adenin citrat dextrose* (1 : 6 v/v) dari penyumbang (donor) sehat yang tidak minum obat aspirin dan sejenisnya minimal 10 hari sebelum pemeriksaan. Pemberian serotonin bertanda (label)¹⁴C 3,7 kBq/ml plasma kaya trombosit (diperam/inkubasi selama 45 menit, 37 °C). Membuat suasana asam dengan penambahan 111 µ/ml ACD dan 5 µl apyrase/ml plasma kaya trombosit, pemeraman (inkubasi) pada suhu 37 °C, 45 menit, pemusingan (sentrifugasi) 7 menit dengan kecepatan 650 g, lalu apungan (supernatant) dibuang. Ampai ulang (Resuspensi) dengan 5 ml dapar (buffer) pencuci (10 ml buffer tyrode, 25 µ apyrase, 10 µ hirudin), pada pH 6,3 dengan penambahan 0,1 mol/L HCl, pemeraman (inkubasi) dengan tabung tertutup 37 °C, 15 menit, pusingan (sentrifus) 650 g, 7 menit dan ampai ulang (resuspensi) dengan 1 ml dapar ampaian (buffer suspensi) (50 ml dapar/bufer tyrode berisi 0,212 mol/L MgCl₂ dan 196 mol/L CaCl₂), pH 7,2 dengan penambahan 0,1 mol/L HCl. Kepekatan (konsentrasi) akhir ampaian (suspensi) trombosit sebesar 300–400.10⁹/L. Pemeraman ampaian (inkubasi suspensi) trombosit dalam tabung tertutup 37 °C, 45 menit sebelum digunakan.

Langkah pemeriksaan berikutnya adalah meletakkan 20 µl serum penderita yang sudah diawateral (inaktivasi) dipanaskan 56 °C selama 30 menit di lempeng mikrotiter (*microtitre plate*). Heparin dosis tinggi atau rendah ditambahkan dan 75 µl ampaian (suspensi) trombosit. Pemeraman (inkubasi) pada suhu ruangan selama 45 menit dengan pengaduk magnetik (*magnetic stirrer*) dengan kecepatan 1000 rpm. Sesudah 45 menit, setelah penambahan 100 µl 0,5% EDTA reaksi berhenti. Pemusingan (sentrifugasi) 860 g selama 10 menit, setelah itu 75 µl apungan (supernatant) ditambah dengan 2 ml salir berkilaunya (*scintillation fluid*) dan kegiatan (aktivitas) apungan (supernatant) radioaktif diukur dengan penghitung beta (*beta counter*, Beckman, USA). Hasil positif bila didapatkan perbedaan kegiatan (aktivitas) radioaktif sebesar 20% pada pemberian heparin dosis rendah.^{37,39}

EIA (Enzyme immunoassay) SRA

Persiapan trombosit sama dengan pemeriksaan ¹⁴C-SRA, tetapi pemeriksaan ini tidak menggunakan bahan radioaktif dan kepekatan (konsentrasi) akhir trombosit 1.500×10^9 /L, hal ini disebabkan karena

kepekatan (konsentrasi) serotonin yang dilepaskan dari 1.500×10^9 /L trombosit perorangan (individu) normal merupakan batas bawah pengenalan (deteksi). Kepekatan (konsentrasi) heparin yang digunakan 0,5 dan 500 iu/ml.

Tatalangkah (Prosedur) pemeriksaan

Ambil 40 µl serum, 5 µl heparin dan 75 µl trombosit. Reaksi dihentikan dengan penambahan 100 µl dari 27 mmol EDTA dan sampel dipusingkan (sentrifus) selama 10 menit, 1800 g, dan dibiarkan pada suhu ruangan selama 15 menit. Serotonin dalam apungan (supernatant) diukur dengan metode ELISA. Sampel dan pengenceran serotonin baku (standard) dibubuhkan (aplikasikan) dalam sumuran yang dilapisi dengan antibodi anti kelinci asal domba (*goat anti rabbit antibody*) diikuti dengan penambahan 50 µl *biotin-labelled serotonin* dan 50 µl antibodi serotonin kelinci (*rabbit serotonin antibody*) dan diperam (inkubasi) semalam pada suhu 4 °C. Setelah pencucian dengan PBS, diikuti penambahan 150 µl antibody antibiotin domba (*goat antibiotin antibody*) yang dipasangkan (konjugasi) dengan fosfatase alkali dalam dapar (buffer) fosfat, diperam (inkubasi) selama 2 jam pada suhu ruangan seraya dicampur perlakan dan dilakukan pencucian lagi. *Para-nitrophenyl-phosphate* ditambahkan dan reaksi dihentikan setelah 60 menit dengan 50 µl 1 M natrium hidroksida. Pembacaan pada 405 nm dengan pembaca lempeng mikrotiter (*microtitre plate reader*). Pemeriksaan ini sudah tersedia secara keniagaan (komersial) oleh IBL, Hanberg, Germany.⁴⁰

Uji untuk ikatan imunoglobulin bergantung heparin (heparin dependent binding of immunoglobulins) yang terikat di membran trombosit (uji antigen)

Uji heparin -PF4 metode ELISA (HPIA, heparin-platelet induced antibody, Diagnostica Stago, France)

Uji ini digunakan untuk mengenali (deteksi) antibodi reaktif terhadap heparin-PF4 rumpil (kompleks).

Tatalangkah (Prosedur) pemeriksaan

Lempeng mikrotiter (*Microtitre plate*) dilapisi oleh heparin-PF4 rumpil (kompleks) dan kemudian diperam (inkubasi) dengan plasma/serum yang akan diuji. diikuti penambahan IgG, anti IgA, IgM anti manusia asal domba (*goat anti human*) yang bertanda (label) peroksidase dan terakhir dengan penambahan substrat kromogen *ortho phenylenediamine*.^{36,38,40} Pembacaan pada panjang gelombang 492 nm.

Dinyatakan positif bila kepadatan optika (OD, optical density) > 0,5 unit.³⁶

Newman *et al* mengembangkan uji tentuan kadar antigen tingkat (fase) salir (*a fluid phase antigen assay*) yang mencegah masalah mengawa-alam

(denaturasi) protein (antigen pada tingkat/fase padat), reaksi positif palsu yang lebih rendah. Uji ini juga berguna untuk menilai secara *in vitro* reaksi silang IgG HIT dengan LMWH dan *heparinoids*.

Von *et al* menemukan serap tempel (adsorpsi) HIT IgG dan PF4 heparin pada membran nilon yang bermuatan positif, sehingga dapat menggantikan pengikatan PF4-heparin di lempeng mikrotiter (*microtiter plate*) dari bahan plastik. Namun demikian, uji ini belum tersedia secara keniagaan (komersial).³⁸

Particle gel immunoassay/ID-heparin/PF4 antibody test (diamed. Switzerland)

Tatalaksana (prosedur) pemeriksaan: masukkan 10 µl serum ke dalam *ID card*. Kemudian dilakukan penambahan ampaian (suspensi) partikel *red polystyrene based* (zarah berkepadatan [partikel densitas] tinggi yang sudah diberi PF 4/heparin rumpil/kompleks). Pemeraman (Inkubasi) *ID-card* pada suhu ruangan selama 5 menit dan dilakukan pemusingan (sentrifugasi) sentrifus *ID-card* selama 10 menit, kemudian dilakukan pembacaan hasil. Hasil positif bila didapatkan penggumpalan zarah (aglutinasi partikel) merah di puncak kolom gel.^{39,41}

Pengobatan (Terapi)

HIT jenis (tipe) I

Tidak ada pengobatan (terapi) yang khas (spesifik) dan pemberian heparin tetap diteruskan bila ada petunjuk (indikasi).²⁹

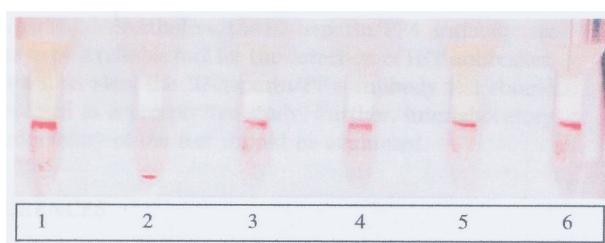
HIT jenis (tipe) 2

Di jenis (tipe) 2 trombositopenia disertai uji antibodi heparin yang positif.^{19,21,34} Pada keadaan (kondisi) tersebut heparin segera dihentikan.^{6,9,19,21,34} Transfusi trombosit tidak disarankan karena penyulit (komplikasi) perdarahan sangat jarang dan kejadian trombosis dapat terjadi pascatransfusi.^{10,21,23} Jumlah trombosit mulai meningkat selama 24–48 jam setelah pengobatan (terapi) heparin dihentikan dan normal dalam

4–5 hari.^{19,21} Penderita yang mengalami trombosis arteri dan vena perlu pengobatan (terapi) antikoagulan pengganti³¹ di antaranya LMW *heparinoid* seperti: orgaran dan aparoid, penghambat trombin langsung (*direct thrombine inhibitors*) seperti: argatroban, bivalirudin dan lepirudin, warfarin, *defibrinogenating agent ancrod*, *antiplatelet agents*, trombectomi, embolectomi.^{6,11,16,19,21,30} Tidak ada bukti bahwa penghentian heparin lebih awal dapat mencegah penyulit (komplikasi) trombosis. Kajian (studi) retrospektif yang dilakukan oleh *Wallis et al*³⁴ menunjukkan tingginya angka kejadian trombosis penderita dengan penghentian heparin dalam 48 jam setelah trombositopenia dibandingkan dengan penghentian lebih dari 48 jam (45% dan 34%, $p = 0,26$). Pada hari ke-30 angka kejadian trombosis 40 sampai 50%, sehingga antikoagulan pengganti (antitrombosis) dapat diberikan. Trombus dapat terjadi pada beberapa hari setelah heparin dihentikan rerata 5–10 hari. Penghentian heparin tidak menghentikan proses melepasnya trombin dan antibodi terhadap heparin, kejadian tersebut akan menghilang setelah 100 hari sejak heparin dihentikan di sebagian besar penderita,¹⁰ pajanan ulang kurang dari 100 hari dapat menyebabkan HIT yang lebih awal (kurang dari 5 hari).^{6,30,42} Pada keadaan klinis yang membutuhkan antikoagulan secara berarti (signifikan) seperti bedah vaskular atau pintas (*bypass*) jantung-paru, heparin dapat diberikan dengan syarat, antibodi terhadap heparin negatif dan pemberian hanya dalam waktu singkat.^{2,6,33}

SIMPULAN

HIT merupakan dampak (efek) sampingan yang penting (serius) dan sering terjadi pada pengobatan (terapi) baik UFH maupun LMWH. Di HIT terjadi perubahan yang berlawanan asas yaitu antikoagulan berubah menjadi prokoagulan dan antitrombosis menyebabkan trombosis. Terjadi peningkatan kekerapan (frekuensi) HIT karena peningkatan pemakaian heparin baik untuk pengobatan (terapi) maupun diagnosis. HIT harus segera diketahui baik secara klinis (sistem skoring) dan laboratoris yaitu uji fungsional peneralan trombosit/uji agregasi dan uji antigen (anti-heparin/PF 4 ELISA) serta penilaian adanya trombosis. Bila secara klinis dicurigai HIT, maka heparin harus segera dihentikan dan mulai pengobatan (terapi) dengan penghambat trombin langsung (*direct thrombin inhibitors*) sambil menunggu penguatan (konfirmasi) hasil pemeriksaan laboratorik. Kegagalan pengenalan (identifikasi) dapat menyebabkan stroke, infark miokard,



Gambar 4. ID-heparin/PF 4 card, hasil positif di kolom nomer 1,3–6, hasil negatif di kolom nomer 2³⁹

kerusakan jaringan dan penyulit (komplikasi) lain yang berbahaya.

Pengenalan HIT lebih awal akan mengurangi angka kematian dan kesakitan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Warkentin TE. Heparin induced thrombocytopenia: diagnosis and management. *Circulation*. 2004; 110: 454–8.
2. Bartholomew JR, Begelman SM, Almahameed A. Heparin induced thrombocytopenia: Principles for early recognition and management. *Cleveland Clinic Journal of medicine* 2005; 72(1): 31–6.
3. Williams RT, Damaraju LV, Mascelli MA. Anti platelet factor 4/heparin antibodies: an independent predictor of 30-day myocardial infarction after acute coronary ischemic syndromes. *Circulation* 2003; 107: 2307–12.
4. Schmugge M, Risch L, Huber AR. Heparin induced thrombocytopenia associated thrombosis in pediatric intensive care patients. *Pediatric* 2002; 109(1): 1–4.
5. Suh JS, Aster RH, Visentini GP. Antibodies from patients with heparin induced thrombocytopenia/thrombosis recognize different epitopes on heparin : platelet factor 4. *Blood* 1998; 91(3): 916–22.
6. Williams WJ, Lichtman MA, Beutler E. Manual of Hematology international edition. Edition 6th, Singapore, McGraw-Hill, 2003.
7. Warkentin TE. Heparin induced thrombocytopenia in patients treated with low molecular weight heparin or unfractionated heparin. *N Engl J Med* 1995; 332: 1330–5.
8. Zwicker JI, Uhl L, Huang WY. Thrombosis and ELISA optical density values in hospitalized patient with heparin induced thrombocytopenia. *Journal of thrombosis and hemostasis*, 2004; 2: 2133–7.
9. Geerts WH, Jay RM, Code CI. A comparison of low dose heparin with low molecular weight heparin as prophylaxis against venous thromboembolism after major trauma. *N Engl J Med* 1996; 335: 701–7.
10. Brandt JT. Diagnosing heparin induced thrombocytopenia. College of Amercan Pathologist. May 2000.
11. Leo A, Winterrol S. Laboratory diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia and monitoring of alternative anticoagulants. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*. Sep 2003; 731–40.
12. Greinacher A, Lubenow N. Heparin-induced thrombocytopenia. *Orphanet encyclopedia*. December 2003.
13. Matei DE, Schiller G. Immune-mediated thrombocytopenia. *Winter 2002; 6(1): 33–9.*
14. Gerotziafas GT, Samama MM, Elalamy I. Heparin induced thrombocytopenia: pathogenesis, epidemiology, diagnosis and management. *Haema* 2004; 7(1): 22–34.
15. Girolami B, Prandomi P, Stefani PM. The incidence of heparin induced thrombocytopenia in hospitalized medical patient treated with subcutaneous unfractionated heparin: a prospective cohort study. *Blood* 2003; 101(8): 2955–9.
16. Lubenow N. New developments in diagnosis and treatment of heparin induced thrombocytopenia. *Pathophysiol haemost thromb* 2003/2004; 33: 407–12.
17. Hassell K. Anticoagulation in heparin induced thrombocytopenia: an ongoing challenge. *Hospital physician* March 2000; 56–61.
18. Harenberg J, Jorg L, Fenyvesi T. Heparin induced thrombocytopenia: pathophysiology and new treatment options. *Pathophysiol haemost thromb*, 2002; 32: 289–94.
19. Blank M, Shoenfeld Y, Tavor S. Anti-platelet factor 4/ heparin antibodies from patients with heparin induced thrombocytopenia provoke direct activation of microvascular endothelial cells.
20. Matei DE, Schiller G. Immune-mediated thrombocytopenias. *Winter 2002; 6(1): 33–9.*
21. Brieger DB, Mak KH, Marchant KK. Heparin induced thrombocytopenia. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31: 1449–59.
22. Valenstein PN, Walsh MK, Meier F. Heparin monitoring and patient safety: a college of American pathologists Q-probes study of 3431 patients at 140 institutions. *Arch pathol lab med*, 2004; 128: 397–402.
23. Warkentin TE, Kelton JG. Delayed onset heparin induced thrombocytopenia and thrombosis. *Ann intern med*, 2001; 135: 502–6.
24. Warkentin TE. Platelet count monitoring and laboratory testing for heparin induced thrombocytopenia. *Arch pathol lab med*, 2002; 126: 1415–23.
25. Lubenow N, Kempf R, Eicher A. Heparin induced thrombocytopenia: temporal pattern of thrombocytopenia in relation to initial use or reexposure to heparin. *Chest* 2002; 122: 37–42.
26. Farmakologi dan terapi. Fakultas kedokteran Universitas Indonesia edisi 4. Jakarta . 1995; 749–51
27. Brieger DB, Mak K-H, Kottke-Marchant K, Topol EJ. Heparin induced thrombocytopenia . *J Am Coll Cardiol*. 1998; 31: 1449–59.
28. Warkentin TE, Chong BH, Greinacher A. Heparin induced thrombocytopenia: towards consensus . *Thromb Haemost*. 1998; 79: 1–7.
29. Chong BH. Heparin induced thrombocytopenia. *Journal of thrombosis and haemostasis*, 1: 1471–8.
30. Kelton JG, Warkentin TE. Drug induced thrombocytopenia (including heparin induced thrombocytopenia). In: Brain MC, ed. *Current therapy in hematologic Oncology*. 5th ed. New York, NY: Mosby. 1995; 149–152.
31. Kelton JG, Warkentin TE. Diagnosis of heparin induced thrombocytopenia: still a journey, not yet a destination. *Am J Clin Pathol*. 1995; 104: 611–3.
32. Warkentin TE, Kelton JG. Thrombocytopenia due to platelet destruction and hypersplenism. In: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, eds. *Hematology: Basic Principles and Practice*. 3rd ed. New York: Churchill Livingstone. 2000; 2138–54.
33. Chong BH. Heparin induced thrombocytopenia. *Aust N Z J Med* 1992; 22: 145–52.
34. Warkentin TE, Kelton JG. Heparin and platelets. *Hematol Oncol Clin North Am*. 1990; 4: 243–64.
35. Fahey VA. Heparin induced thrombocytopenia. *J Vasc Nurs*. 1995; 13: 112–6.
36. Warkentin TE, Kelton JG. A 14-year study of heparin induced thrombocytopenia. *Am J Med*. 1996; 101: 502–7.
37. King DJ, Kelton JG. Heparin associated thrombocytopenia. *Ann Intern Med*. 1984; 100: 535–40.
38. Warkentin TE, Kelton JG. Interaction of heparin with platelets, including heparin induced thrombocytopenia. In: Bounnameaux H, ed. *Low Molecular Weight Heparins in Prophylaxis and Therapy of Thromboembolic diseases*. New York, NY: Marcel Dekker. 1994; 75–127.
39. Eichler P, Raschke R, Lubenow N. The ID-heparin PF 4 antibody test for rapid detection of heparin induced antibodies in comparison with functional and antigenic assays. *British journal of haematology*, 2002; 116: 887–91.
40. Kibbe MR, Rhee RY. Heparin induced thrombocytopenia: Pathophysiology. *Semin Vasc Surgery*. 1996; 9: 284–91.
41. Tazzari PL, Ricci F, Vitale M. Heparin induced thrombocytopenia: detection of antiheparin/PF 4 antibodies by means of heparin/ PF 4 coated beads and flow cytometry.
42. Warkentin TE, Levine MN, Hirsh J. Heparin induced thrombocytopenia in patients treated with low molecular weight heparin or unfractionated heparin. *N Engl J Med*. 1995; 332: 1330–5.