

# Laboratoryjne aspekty rozpoznawania nabytej hemofilii A

Edyta Odnoczko 

Pracownia Genetyki Hemostazy i Porfirii, Zakład Hemostazy i Chorób Metabolicznych  
 Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Artykuł jest tłumaczeniem pracy:

Odnoczko E. Laboratory work-up of acquired hemophilia A. *J Trans Med* 2022; 15 (1): 38–42. DOI: 10.5603/JTM.2022.0001.

Należy cytować wersję pierwotną.

## Streszczenie

*W niniejszej pracy przedstawiono najważniejsze aspekty laboratoryjnego rozpoznawania nabytej hemofilii A (AHA) wraz z omówieniem trudności diagnostycznych napotykanych w procesie wykrywania tej koagulopatii. Opisano zasady i interpretację wykorzystywanych testów laboratoryjnych i zaprezentowano aktualny algorytm postępowania diagnostycznego w rozpoznawaniu AHA.*

**Słowa kluczowe:** nabyta hemofilia A, AHA, diagnostyka laboratoryjna, nabyte zaburzenia hemostazy, hemostaza

*J. Transf. Med.* 2022; 15: 43–48

## Wstęp

Hemofilia A (HA, *hemophilia A*) jest wrodzoną bądź nabytą osoczną skazą krwotoczną, którą charakteryzuje nadmierna skłonność do krwawień. Tendencja do krwawień w HA jest następstwem całkowitego lub częściowego braku osocznego czynnika krzepnięcia VIII (FVIII, *factor VIII*). Jednak w odróżnieniu od dość dobrze znanej HA, która jest uwarunkowana genetycznie, nabyta hemofilia A (AHA, *acquired hemophilia A*) ma podłoże autoimmunologiczne, spowodowane wytworzeniem autoprzeciwciał neutralizujących aktywność FVIII w krwiobiegu. Ponadto, w przeciwieństwie do wrodzonej hemofilii A, na którą chorują mężczyźni (mutacja w genie *F8* znajdującym się na chromosomie płciowym X), skaza krwotoczna w AHA może się manifestować zarówno u mężczyzn, jak i u kobiet.

Za wystąpienie AHA odpowiedzialne są przeciwciała anty-FVIII określane mianem „inhibitora”, które znoszą koagulacyjną aktywność FVIII (tzw. przeciwciała neutralizujące). Działanie autoprzeciwciał w AHA, będących immunoglobulinami

klasy IgG, polega na ich reagowaniu z domeną C2 cząsteczki FVIII — upośledzając jej oddziaływanie z fosfolipidami (przeciwciała anty-C2), lub domeną A2 — zaburzając tworzenie kompleksu tenazy (przeciwciała anty-A2), bądź też blokowaniu wiązania FVIII z czynnikiem von Willebranda. Kinetyka oddziaływań FVIII z autoprzeciwciałami jest odmienna od kinetyki obserwowanej we wrodzonej HA powikłanej alloprzeciwciałami, ponieważ o ile we wrodzonej HA alloprzeciwciała całkowicie znoszą aktywność FVIII w osoczu, o tyle w AHA, nawet przy dużym mianie autoprzeciwciał, w osoczu chorego wykrywa się resztkową aktywność FVIII [1].

Najważniejszym problemem w diagnostyce i leczeniu AHA jest opóźnienie w rozpoznawaniu tego schorzenia i wdrożeniu odpowiedniej terapii. Wynika to między innymi z niedostatecznej świadomości personelu medycznego odnośnie zasad rozpoznawania AHA (w tym personelu laboratorium), ponieważ pacjenci zazwyczaj zgłaszają się w trybie nagłym do ośrodków/lekarzy niewyspecjalizowanych w rozpoznawaniu zaburzeń krzep-

**Adres do korespondencji:** dr n. med. Edyta Odnoczko, Pracownia Genetyki Hemostazy i Porfirii, Zakład Hemostazy i Chorób Metabolicznych Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie, ul. I. Gandhi 14, 02-776 Warszawa, e-mail: [ednoczko@ihit.waw.pl](mailto:ednoczko@ihit.waw.pl)

nięcia krwi. Z danych zebranych w Europejskim Rejestrze Nabytej Hemofilii A (*European Acquired Hemophilia Registry*, EACH2) wynika, że opóźnienie diagnostyczne AHA wynoszące co najmniej 1 tydzień dotyczy aż 34% pacjentów [2].

Co więcej, AHA jest schorzeniem rzadkim, którego roczną zapadalność szacuje się na około 1,48 osoby/1 mln, choć aktualne dane wskazują, że może być ona zwiększona nawet do 5–6 osób/1 mln [3]. Ponadto zapadalność na AHA proporcjonalnie wzrasta z wiekiem, i tak wśród dzieci poniżej 16. roku życia wynosi zaledwie 0,045 osoby/1 mln mieszkańców, podczas gdy wśród osób powyżej 85. roku życia wynosi 14,7 osoby/1 mln [4]. Przez to mediana wieku w chwili rozpoznania AHA wynosi blisko 74 lata, a większa częstość występowania chorób współistniejących i związanego z tym różnorodnego leczenia niejednokrotnie komplikuje diagnostykę. Wyraźnie wyróżnia się dwie populacje, w których AHA zdarza się istotnie częściej, są to: 1) młode kobiety w wieku 20–40 lat (co wiąże się z okresem ciąży i okresem do 12 miesięcy po porodzie) oraz 2) osoby starsze, przy czym częściej AHA dotyka mężczyzn. Szacuje się, że niemal 40% przypadków AHA towarzyszy współistnienie innych chorób (tj. schorzeń autoimmunologicznych, nowotworów litych lub hematologicznych, chorób alergicznych) bądź są one powikłaniem stosowanej farmakoterapii, natomiast w około 50% przypadków nie wykrywa się żadnej choroby współistniejącej (tzw. postać idiopatyczna).

Nabyta hemofilia A to choroba charakteryzująca się nagłym wystąpieniem krwawienia u pacjentów, którzy dotychczas nie wykazywali takiej skłonności w wywiadzie. W większości przypadków obserwuje się ciężką skazę krwotoczną, która w ciągu kilku tygodni może prowadzić do zgonu pacjenta [3]. Objawy kliniczne AHA to typowe rozległe podskórne wylewy krwi, krwawienia śluzówkowe z przewodu pokarmowego, dróg rodnych lub moczowych, krwawienia z ran po operacjach chirurgicznych, krwawienia po zabiegach ekstrakcji zębów, mogą wystąpić krwawienia śródczaszkowe, przy czym bardzo rzadko występują krwawienia do stawów. Jak wspomniano, większość pacjentów zgłasza się z ciężkimi krwawieniami, co wymaga bezwzględnego wdrożenia leczenia hemostatycznego mającego na celu hamowanie i profilaktykę krwawień, najczęściej z zastosowaniem leków omijających inhibitor FVIII [rekombinowanego czynnika VII (rFVIIa, *recombinant activated factor VII*), aktywowanych czynników zespołu protrombiny (aPCC, *activated prothrombin complex concentrate*)] lub koncentratu rekombino-

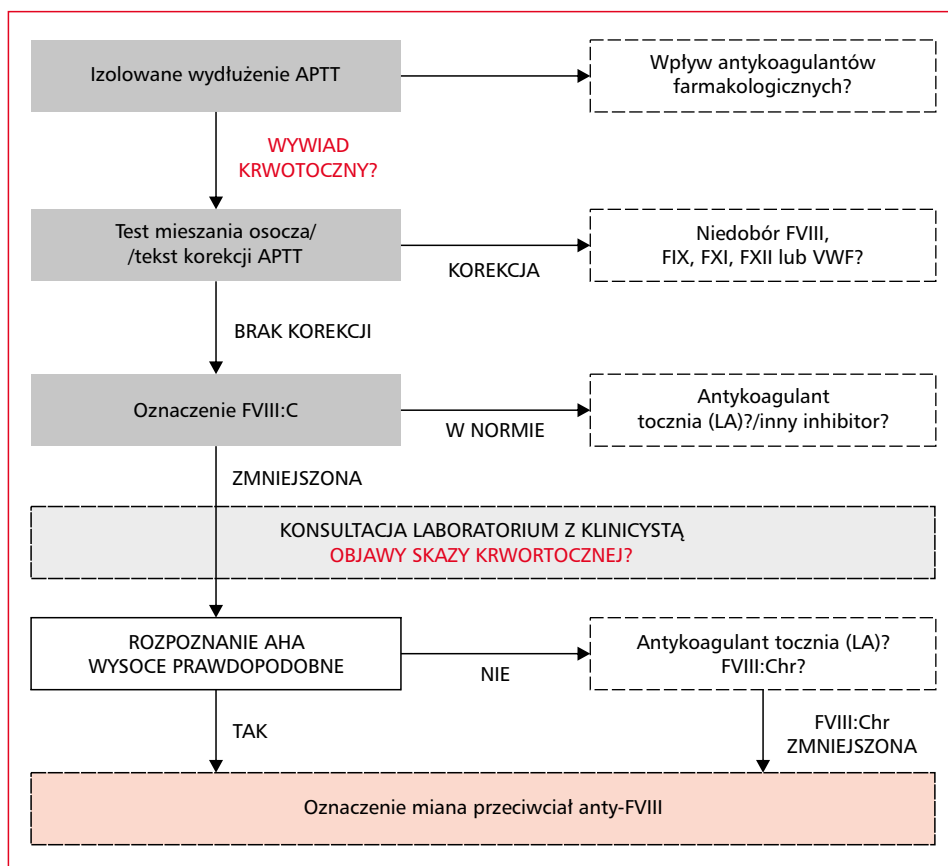
wanego FVIII o sekwencji wieprzowej, dlatego niezwykle istotne jest sprawne i rzetelne rozpoznanie tej skazy krwotocznej.

Z punktu widzenia diagnostyki laboratoryjnego dodatkową trudnością w rozpoznawaniu AHA jest to, że dotyka ona osób, które są często w podeszłym wieku i mają szerokie spektrum chorób współistniejących, którym nierzadko towarzyszy leczenie wywierające wpływ na układ krzepnięcia krwi (np. z zastosowaniem leków przeciwzakrzepowych). Leczenie to może istotnie interferować w obraz laboratoryjny AHA i wymagać zindywidualizowanego podejścia diagnostycznego z zastosowaniem specjalistycznych testów.

### Zasady laboratoryjnego rozpoznawania AHA

Materiałem przeznaczonym do wykonania testów laboratoryjnych w AHA jest obwodowa krew żylna (w objętości ok. 10–15 ml) pobierana na antykoagulant (cytrynian sodu; Sodium Citrate;  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \times 2\text{H}_2\text{O}$ ) w proporcji 9:1, z której rutynowo wykonuje się testy krzepnięcia krwi. Badania laboratoryjne (pomiar czasów krzepnięcia, pomiar aktywności czynników krzepnięcia oraz pomiar stężenia inhibitorów czynników krzepnięcia) prowadzi się w cytrynianowym osoczu ubogopłytkowym, otrzymanym w wyniku odwirowania próbek krwi w temperaturze pokojowej przez 10–15 minut/1500 g [5, 6]. Co ważne, krew do badań powinna być pobrana przed podaniem leków omijających inhibitor, ponieważ mogą one powodować skrócenie czasu częściowej tromboplastyny po aktywacji (APTT, *activated partial thromboplastin time*) i zafalszowanie wyników prowadzonych testów. Z praktycznego punktu widzenia, w przypadku gdy w laboratorium lokalnym niemożliwe jest wykonanie kompletu testów potwierdzających AHA, z pobranej krwi można przygotować próbki osocza ubogopłytkowego i zamrozić je w temperaturze mniejszej lub równej  $-20^\circ\text{C}$  do dalszej diagnostyki. Potrzebne testy, zgodnie z dobrą praktyką, celem jednoznacznej interpretacji uzyskanych wyników najlepiej wykonać w tej samej partii próbek pobranego materiału.

Rozpoznanie AHA w laboratorium opiera się przede wszystkim na wykazaniu w osoczu pacjenta: izolowanego wydłużenia APTT, obecności krążącego antykoagulantu w teście mieszania (teście korekcji) APTT, zmniejszonej aktywności FVIII, obecności inhibitora wobec FVIII, przy równoczesnym wykluczeniu innych pokrewnych skaz krwotocznych, obecności antykoagulantu toczniowego (LA, *lupus anticoagulant*) lub inhibi-



**Rycina 1.** Algorytm postępowania diagnostycznego w rozpoznawaniu nabytej hemofilii A (AHA, *acquired hemophilia A*) (zmodyfikowano za [8]). APTT (*activated partial thromboplastin time*) — czas częściowej tromboplastyny po aktywacji; FVIII:C (*factor VIII:C*) — czynnik VIII/ test koagulacyjny jednostopniowy; FVIII:Chr (*factor VIII:Chr*) — czynnik VIII/ test chromogenny; FIX (*factor IX*) — czynnik IX; FXI (*factor XI*) — czynnik XI; FXII (*factor XII*) — czynnik XII; VWF (*von Willebrand factor*) — czynnik von Willebranda; LA (*lupus anticoagulant*) — antykoagulant toczniowy

torów farmakologicznych. Algorytm postępowania diagnostycznego w rozpoznawaniu AHA przedstawiono na rycinie 1.

Testy przesiewowe (podstawowe, skriningowe) hemostazy to rutynowo zlecane badania laboratoryjne, które dostarczają klinicystom istotnych wskazówek diagnostyczno-terapeutycznych. Wśród nich szczególne znaczenie w rozpoznawaniu AHA ma pomiar APTT, wydłużenie tego czasu krzepnięcia stanowi bowiem pierwszą wskazówkę laboratoryjną w rozpoznawaniu tej choroby. Test ten polega na poddaniu inkubacji 3–5 minut/37°C mieszaniny osocza ubogopłytkowego, aktywatora wewnątrzprochodnego szlaku krzepnięcia, fosfolipidów z chlorkiem wapnia i pomiarze czasu do powstania włókien fibryny, co prawidłowo trwa około 27–35 sekund [5]. Składowe stosowanego w laboratorium systemu pomiarowego, takie jak kompozycja odczynnika APTT (rodzaj aktywatora i mieszaniny fosfolipidów) oraz analizator

koagulologiczny, warunkują czułość i swoistość testu [6]. Do wydłużenia APTT dochodzi w przypadku niedoboru czynników XII, XI, IX, VIII oraz w mniejszym stopniu II, V, X i fibrynogenu. W przypadku AHA stwierdza się zwykle 2–3-krotne wydłużenie APTT, przy prawidłowych wartościach czasów protrombinowego (PT, *prothrombin time*), trombinowego (TT, *thrombin time*), okluzji (CT, *closure time*) w PFA-100/-200® (*platelet function analyzer*, analizator funkcji płytek krwi) oraz przy prawidłowej liczbie płytek krwi i stężeniu fibrynogenu [7]. Izolowane wydłużenie APTT stwierdza się w obecności inhibitora wobec FVIII (AHA, wrodzona HA), ale także w: niedoborze FVIII [chorob von Willebranda (VWD, *von Willebrand disease*), wrodzona HA), FIX (hemofilia B), FXI (hemofilia C), FXII (tzw. anomalii Hagemana), wielkocząsteczkowego kininogenu (HMWK, *high molecular weight kininogen*) lub prekalikreiny (PK, *prekallikrein*) lub w obecności LA, leków

przeciwwkrzepliwych [heparyny, antagonistów witaminy K (VKA, *vitamin K antagonists*), bezpośrednich doustnych antykoagulantów (DOAC, *direct oral anticoagulants*)] czy inhibitora wobec innego czynnika krzepnięcia. Przy czym wydłużeniu APTT w obecności heparyny niefrakcjonowanej zwykle towarzyszy istotne wydłużenie TT. Szczególnie istotne w różnicowaniu AHA z innymi wymienionymi zaburzeniami układu hemostazy jest różnicowanie z obecnością LA, który nie jest skierowany przeciwko czynnikowi krzepnięcia, lecz przeciwko fosfolipidom i nie wywołuje skłonności do krwawień, lecz predysponuje do zakrzepów, co wymaga dokładnej analizy obrazu klinicznego i osobistego pacjenta oraz wyników badań laboratoryjnych [6].

Obecność krążącego antykoagulantu w osoczu jest weryfikowana w teście mieszania APTT (teście korekcji APTT). To przesiewowy test jakościowy, bardzo przydatny w różnicowaniu przyczyny wydłużonego APTT, to jest obecności krążącego antykoagulantu od prostego niedoboru czynnika/czynników krzepnięcia. Badanie to polega na wykonaniu powtórnego oznaczenia APTT w mieszaninie równych objętości (1:1) osocza pacjenta z osoczem prawidłowym, które poddane zostało inkubacji przez 1 godzinę w 37°C [5, 6]. Co istotne, wyniki testu korekcji mogą być właściwie interpretowane jedynie wówczas, gdy wyjściowe APTT osocza pacjenta jest wydłużone o co najmniej 8–10 sekund powyżej górnej granicy zakresu wartości referencyjnych, przy czym laboratorium może ustalić własne wartości odcięcia w zależności od stosowanego systemu pomiarowego [6]. Z definicji o prawidłowej korekcji APTT należy wnioskować, gdy różnica między APTT osocza badanego i mieszaniny jest większa niż 50% różnicy między APTT osocza badanego i kontrolnego. Uzyskanie korekcji (tj. normalizacji lub znacznego skrócenia APTT mieszaniny w porównaniu z wyjściowym APTT osocza pacjenta) wskazuje na niedobór czynnika krzepnięcia. Z kolei brak normalizacji lub istotnego skrócenia APTT mieszaniny (brak korekcji) sugeruje obecność krążącego antykoagulantu [6]. Dodatni wynik testu na obecność krążącego antykoagulantu uzyskuje się zarówno w przypadku inhibitora FVIII (AHA), jak i LA czy inhibitora skierowanego wobec innych czynników krzepnięcia niż FVIII. Z praktycznego punktu widzenia test korekcji APTT może być wykonany w każdym laboratorium wykonującym oznaczenie APTT, jednak mimo to dostępność tego testu w laboratoriach wieloprofilowych jest nadal ograniczona.

Celem wykazania niedoboru FVIII, wynikającego z obecności przeciwciał anti-FVIII, należy oznaczyć aktywność FVIII w osoczu. Rutynowo pomiar ten przeprowadza się metodą koagulacyjną jednostopniową (FVIII:C), rzadziej — testem chromogennym (FVIII:Chr). Oznaczanie FVIII:C jest oparte na pomiarze APTT, w którym rozcieńczone osocze badane mieszane jest z osoczem deficytowym bez FVIII, odczynnikami APTT i chlorkiem wapnia, a czas krzepnięcia tej mieszaniny jest proporcjonalny do aktywności FVIII w układzie testowym [6]. Na test FVIII:Chr składają się dwa etapy, pierwszy polega na wytworzeniu FXa, drugi zaś na reakcji hydrolizy specyficznego substratu chromogennego. Intensywność powstałego zabarwienia jest wprost proporcjonalna do ilości FXa w osoczu badanym, która z kolei jest wprost proporcjonalna do aktywności FVIII [5]. U zdrowych osób aktywność FVIII mieści się w przedziale 50–150 j.m./dl, pacjentów z AHA wynosi zaś 0–20 j.m./dl, przy czym u blisko 75% z nich ma aktywność FVIII poniżej 5 j.m./dl [5, 8]. Co ciekawe, w przeciwieństwie do wrodzonej HA stopień nasilenia objawów skazy krwotocznej nie jest zależny od stężenia FVIII w osoczu. Szczególnie ważne w praktyce laboratorium, przy podejrzeniu AHA i zmniejszonej aktywności FVIII:C w teście rutynowym, jest wykonanie ponownego pomiaru w próbkach rozcieńczonego osocza pacjenta (np. 10×) celem wyłączenia interferencji ze strony LA lub innych antykoagulantów. Dobrą praktyką jest również stosowanie w metodzie koagulacyjnej jednostopniowej do oznaczania FVIII:C odczynników APTT o zwiększonej zawartości fosfolipidów, przez to niewrażliwych na obecność LA.

Nadrzędnym celem diagnostyki AHA jest wykazanie obecności przeciwciał neutralizujących FVIII (inhibitora), którą ilościowo można wykryć w teście Bethesda (BA, *Bethesda assay*), będącym podstawową metodą laboratoryjną służącą wykrywaniu przeciwciał neutralizujących opartą na badaniu funkcjonalnym [9]. Obecnie modyfikacja NBA polega na zastosowaniu osocza deficytowego pozbawionego FVIII (zamiast buforu weronalowego lub imidazolowego) do przygotowania seryjnych rozcieńczeń osocza pacjenta lub próbki kontrolnej oraz buforowaniu standardowego ludzkiego osocza zawierającego naturalny FVIII (SHP, *standard human plasma*) [5]. Udowodniono, że znacznie poprawia to stabilność stężenia białka i pH analizowanych próbek podczas inkubacji, wpływając na poprawę czułości i dokładności testu [10]. W teście zapewniono również warunki sprzyjające procesowi neutralizacji FVIII poprzez 2-godziną inkubację

mieszanin w temperaturze 37°C. Po inkubacji we wszystkich badanych próbkach oznaczana jest aktywność FVIII, którą porównuje się do aktywności FVIII mieszanin kontrolnych, określając w nich tak zwaną aktywność resztkową FVIII (RA, *residual activity*) [9–12]. Z definicji testu wiadomo, że jedna jednostka Bethesda (j.B./BU, *Bethesda unit*) jest taką ilością inhibitora, która neutralizuje 50% FVIII w mieszaninie z SHP [5, 11]. W celu określenia stężenia inhibitora zaleca się analizowanie próbek, w których RA mieści się w zakresie od 25% do 75% i wybór rozcieńczenia, dla którego RA jest zbliżone do 50% [9]. Za wynik dodatni uważa się wartość stężenia inhibitora  $\geq 0,5$  j.B./ml, przy czym niektóre laboratoria przyjmują wartość  $\geq 0,6$  j.B./ml [10]. Test Bethesda został opracowany w celu wykrywania i ilościowego określania wszystkich przeciwciał FVIII w HA, które wykazują liniową kinetykę typu 1. Jest on również przydatny w wykrywaniu inhibitorów FVIII w AHA, ale często wykazują one złożoną i nieliniową kinetykę typu 2 i dlatego niejednokrotnie trudniej oszacować stężenie tych autoprzeciwciał. Wstępna inaktywacja cieplna osocza badanego (56°C/30 min), prowadzona w celu pozbycia się zbyt wysokiej resztkowej aktywności FVIII, może poprawić dokładność/czułość testu [9]. Dostępność w laboratoriach oznaczeń miana inhibitora FVIII testem Bethesda jest ograniczona z uwagi na złożoność procedury badawczej, przez co test ten wykonywany jest jedynie w specjalistycznych laboratoriach referencyjnych ośrodków hematologicznych (m.in. ośrodkach leczenia hemofilii).

Wykazano, że komercyjnie dostępne testy ELISA do oznaczania przeciwciał anti-FVIII są czułe i specyficzne w diagnostyce AHA [8]. Jednak na uwagę zasługuje fakt, że w zależności od zestawu wykrywają one zarówno neutralizujące, jak i nieneutralizujące przeciwciała wobec FVIII. Testy ELISA mogą być szczególnie pomocne w przypadku współistnienia i różnicowania przeciwciał anti-FVIII i LA. Ponadto określenie izotypu przeciwciał anti-FVIII może mieć implikacje prognostyczne, jak wykazano w przypadku anti-FVIII IgA [8].

Należy podkreślić, że szczególnie ważnym i dość trudnym zadaniem laboratorium w diagnostyce AHA jest zróżnicowanie rodzaju wykrytego w teście korekcji APTT „krążącego antykoagulantu”, to jest inhibitora wobec FVIII od obecności LA, zwłaszcza w sytuacji, gdy objawy kliniczne AHA nie są wyraźnie zaznaczone. Obecność LA można wykluczyć w teście z zastosowaniem rozcieńczonego jadu żmii Russela (dRVVT, *dilute Russel's viper venom time*) [8]. Ponadto w rzadkich przypadkach

możliwe jest współistnienie AHA i LA, co znacznie komplikuje diagnostykę, ponieważ przyczynia się do uzyskania fałszywie pozytywnych wyników testów koagulacyjnych [13, 14]. Dotyczy to także stosowania przez pacjentów z AHA terapii wywierających wpływ na układ krzepnięcia krwi, to jest VKA, heparyny lub innych leków przeciwzakrzepowych. Wówczas niezbędne jest zastosowanie do oznaczenia aktywności FVIII oraz miana inhibitora FVIII testu chromogennego, który w odróżnieniu od rutynowo stosowanego testu koagulacyjnego jest niewrażliwy na obecność LA czy antykoagulantów farmakologicznych [13, 14]. Jeżeli test dRVVT nie jest dostępny, prostym testem pomocniczym w różnicowaniu inhibitora od obecności LA może być także wykonanie oznaczenia APTT z wykorzystaniem odczynnika niewrażliwego na LA (tj. o zwiększonej zawartości fosfolipidów) [6, 8].

Podsumowując, w rozpoznawaniu AHA ważne jest powiązanie interpretacji uzyskanych wyników testów laboratoryjnych z wywiadem oraz obrazem klinicznym, w tym z informacją o ewentualnym stosowaniu leków mających wpływ na układ krzepnięcia krwi. Obecnie w celu optymalizacji tego procesu wielu ekspertów wskazuje na nieodzowną konieczność ścisłej współpracy zespołu lekarskiego i zespołu laboratorium. Ważnym elementem takiej współpracy jest dobra i sprawna komunikacja, dzięki której maksymalnie ograniczone będzie ryzyko wstąpienia opóźnienia diagnostycznego AHA.

**Konflikt interesów:** nie zgłoszono

## Piśmiennictwo

1. Buczman A, Windyga J. Nabyta hemofilia. *Pol. Arch. Med. Wew.* 2007; 5-6: 241–245, indexed in Pubmed: [18030874](#).
2. Knoebl P, Marco P, Baudo F, et al. EACH2 Registry Contributors. Demographic and clinical data in acquired hemophilia A: results from the European Acquired Haemophilia Registry (EACH2). *J Thromb Haemost.* 2012; 10(4): 622–631, doi: [10.1111/j.1538-7836.2012.04654.x](#), indexed in Pubmed: [22321904](#).
3. Tiede A, Wahler S. The rising incidence of acquired haemophilia A in Germany. *Haemophilia.* 2021; 27(4): e466–e468, doi: [10.1111/hae.14149](#), indexed in Pubmed: [32937680](#).
4. Windyga J, Baran B, Odnoczek E, et al. Wytyczne postępowania w nabytej hemofilii A. *Gin Perinat Prak.* 2018; 3(4): 175–188.
5. Practical-Haemostasis: A practical guide to haemostasis; <https://www.practical-haemostasis.com>.
6. Odnoczek E, Baran B, Windyga J. Z hemostazą na TY. *Wyd. Bioksel Grudziądz;* 2016: 1–192.
7. Windyga J, Baran B, Odnoczek E, et al. Treatment guidelines for acquired hemophilia A. *Ginek Pol.* 2019; 90(6): 353–364, doi: [10.5603/GP2019.0063](#), indexed in Pubmed: [31276188](#).
8. Tiede A, Collins P, Knoebl P, et al. International recommendations on the diagnosis and treatment of acquired hemophilia A.

- Haematologica. 2020; 105(7): 1791–1801, doi: [10.3324/haematol.2019.230771](https://doi.org/10.3324/haematol.2019.230771), indexed in Pubmed: [32381574](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32381574/).
9. Tiede A, Alberio L. The Art of Detecting Antibodies against Factor VIII. *Hamostaseologie*. 2020; 40(4): 485–490, doi: [10.1055/a-1223-3353](https://doi.org/10.1055/a-1223-3353), indexed in Pubmed: [32961576](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32961576/).
  10. Miller CH. Laboratory testing for factor VIII and IX inhibitors in haemophilia: A review. *Haemophilia*. 2018; 24(2): 186–197, doi: [10.1111/hae.13424](https://doi.org/10.1111/hae.13424), indexed in Pubmed: [29446525](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29446525/).
  11. Windyga J, Chojnowski K, Klukowska A, et al. w imieniu Grupy Roboczej ds. Hemostazy Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów. Polskie zalecenia postępowania w nabytej hemofilii A. *Med Prakt*. 2011; 10: 1–8.
  12. Windyga J. Diagnostyka laboratoryjna zaburzeń hemostazy. W: *Badania laboratoryjne w hematologii. Podręcznik dla słuchaczy studiów medycznych* (red. Mariańska B, Fabijańska-Mitek J). Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 2003: 192–225.
  13. Tiede A, Werwitzke S, Scharf RE. Laboratory diagnosis of acquired hemophilia A: limitations, consequences, and challenges. *Semin Thromb Hemost*. 2014; 40(7): 803–811, doi: [10.1055/s-0034-1390004](https://doi.org/10.1055/s-0034-1390004), indexed in Pubmed: [25299927](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25299927/).
  14. Bolton-Maggs PHB, Favaloro EJ, Hillarp A, et al. Difficulties and pitfalls in the laboratory diagnosis of bleeding disorders. *Haemophilia*. 2012; 18 Suppl 4: 66–72, doi: [10.1111/j.1365-2516.2012.02830.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2012.02830.x), indexed in Pubmed: [22726086](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22726086/).