

PFA Col/Epi; -Col/ADP

Bezeichnung:

Col/Epi-,Col/ADP-Verschlusszeiten am PFA-20

Synonym:

In vitro Blutungszeit

Handelsname:

PFA-200®

LOINC: entfällt

Pathophysiologie:

Der PFA-200® simuliert in seinem Messsystem die Verhältnisse in einem verletzten Gefäß. Das zugegebene Vollblut wird mittels einer Vakuumpumpe aus einem Reservoir durch die Kapillare und die Öffnung der zuvor mit Systemflüssigkeit angefeuchteter Membran gefördert, wodurch hohe Scherkräfte entstehen. Es herrscht dabei ein Unterdruck von ca. – 40 mbar. Die Kollagenbeschichtung der Membran dient analog den physiologischen Verhältnissen in Verbindung mit dem in der Probe normalerweise vorhandenen von Willebrand-Faktor als initiale Matrix für die Thrombozytenadhäsion. Die dann zusätzlich erfolgende direkte Bindung der Thrombozyten mit dem Kollagen führt im Weiteren zur Aktivierung der Blutplättchen. Die zusätzlich in der Membran vorhandenen Agonisten, das Epinephrin bzw. das ADP, lösen bei Kontakt mit den adhärennten Thrombozyten deren Degranulation aus. Dies führt zur weiteren Aktivierung von vorbeiströmenden Thrombozyten und zur Aggregation dieser mit den bereits adhärennten Blutplättchen. Die Aktivierung der Blutplättchen führt zur Freisetzung von ADP, Epinephrin, Serotonin aus den „Dense Granula“. ADP bindet an zwei Rezeptoren der Plättchenoberfläche: Den hochaffinen P2Y1-Rezeptor und den niedrig affinen P2Y12-Rezeptor. Durch die sich ausbildenden Thrombozytenaggregate kommt es im Zeitverlauf zum allmählichen Verschluss der Membranöffnung. Dieses wird über die im Vakuumsystem vorhandenen Drucksensoren detektiert. Als Messwert wird dann die Zeit zwischen Beginn der Messung und dem vollständigen Verschluss der Membranöffnung als sogenannte Verschlusszeit ausgegeben.

Die Col/Epinephrinmembran ist sehr empfindlich auf alle Thrombozytenstörungen und von Willebrand-Faktor-Mangel, während die Col/ADP-Membran wenig empfindlich auf den Einfluss von Acetylsalicylsäure (Aspirin) ist. Epinephrin braucht zur Aktivierung der Plättchen das durch Aspirin gehemmte Thromboxan A₂, während die Aktivierung durch ADP thromboxanunabhängig abläuft.

Eine weitere spezifische Membran (INNOVANCE PFA P2Y) erlaubt die Erfassung des Thienopyridin/Clopidogrel-Effektes (Antagonisierung des P2Y12-Rezeptors). Clopidogrel, wie alle Thienopyridine (Prasugrel, Ticlopidin) antagonisiert den Effekt von ADP auf den P2Y12-Rezeptor und hemmt somit die Aktivierung des GPIIb/IIIa-Rezeptor und damit indirekt die Bindung von Fibrinogen an den GPIIb/IIIa-Rezeptor. PGE1 hemmt die Aggregation über die Produktion von AMP, wodurch die Calciummobilisation innerhalb der Thrombozyten gehemmt wird, dieses entspricht einer Antagonisierung der ADP-Wirkung auf den P2Y1-Rezeptor. Durch die Kombination von PGE1 mit ADP und Calcium in der Messzelle ist die Aggregation nur noch von der Hemmung des ADP-Rezeptors durch Clopidogrel abhängig.

Obwohl der PFA nicht die kapilläre Komponente der primären Hämostase erfasst, gilt er für die primäre Hämostase als die Alternative der schlecht standardisierten Blutungszeit und wird auch als „In Vitro-Blutungszeit“ bezeichnet. Das System ahmt gut die in vivo-Bedingungen der Thrombozyten-Aggregation im arteriellen Blutsystem unter hohem Scherstress nach. Besonders der Verlust der großen vWF-Multimere führt zu einer Verlängerung der Verschlusszeit.

Indikation:

Verdacht auf Thrombozytenfunktionsstörungen im Rahmen von Menorrhagien bzw. präoperativ bei Patienten mit Blutungsanamnese und dem Verdacht auf:

Schwere bis mittlere vWS-Typ1, vWS Typ-3, die meisten vWS vom Typ-2 (2A/2B/2M).

Aortenklappenstenosen führen zu einem Verbrauch der großen vWF-Multimere und somit zu einer besonderen Form des vWF-Mangels (Heyde-Syndrom). Eine Normalisierung der PFA nach Aortenklappenstenosen-OP (TAVI) gilt als Erfolgskriterium.

Der PFA gilt als schnellste und verlässlichste Screeningmethode für eine vWF-Erkrankung. Aspirin- und Thienopyridin-Einnahme.

Monitoring der Behandlung DDAVP (Desmopressin Azetat = Minirin) bei Patienten mit vWS Typ1. Die Bestimmungen des PFA sind nicht geeignet zum generellen präoperativen Screening; der PFA erkennt nicht leichte vWS vom Typ1 und den vWS vom Typ 2N.

Präanalytik:

Probentransport und Abnahme:

Siehe hierzu die [Informationen](#) auf der Homepage der Zentralen Einrichtung Klinische Chemie.

Die Probe muss möglichst atraumatisch, möglichst durch Erfahrene, gewonnen werden und sofort in das Labor gebracht werden. Angeronnene Proben, besonders Mikrogerinnsel, führen zu fehlerhaften Ergebnissen.

Die Untersuchung sollte zwischen frühestens 10 Minuten und spätestens 4 Stunden nach der Abnahme erfolgen. Die Lagerung erfolgt bei Raumtemperatur, nicht im Kühlschrank, nicht eingefrorenen. Während des Transport sollte die Temperatur nicht unter 15 Grad Celsius fallen.

PFA-Proben die mit der Rohrpost verschickt wurden, werden nicht bearbeitet, da die Ergebnisse, durch frühzeitige Aktivierung der Thrombozyten, falsch erniedrigt sein können!

Einflussfaktoren:

Obwohl kein geschlechtsspezifischer Referenzbereich angegeben wird haben Frauen eine längere Verschlusszeit. Raucher haben ebenfalls eine leicht verlängerte Verschlusszeit.

Es werden keine altersspezifischen Referenzbereiche angegeben obwohl bei Neugeborenen und Älteren kürzere Verschlusszeiten beobachtet werden. Bei Schwangeren sind die Verschlusszeiten ebenfalls verkürzt.

AB0-0-Blutgruppe zeigen im Vergleich zu nicht AB-0-Blutgruppenträgern verlängerte Verschlusszeiten (Verminderter Aktivität/Konzentration an vWF bei der Blutgruppe 0).

Störfaktoren:

Die Ergebnisse sind nur oberhalb folgender Hämatokrit- und Thrombozyten-Grenzwerte valide:
Epi/ADP: HK >0,35 l/l, Thrombozyten >150 G/l

Bei der Mehrfachbestimmung pathologischer Proben mit grenzwertiger Thrombozytenfunktion, verursacht durch z.B. Aspirin, kann die Variabilität der Ergebnisse stark erhöht sein. Medikation, erworbene (Urämie) oder angeborene Thrombozytenfunktionsstörungen.

Die folgende Tabelle fasst Substanzen zusammen, die bei der angegebenen und höheren Konzentrationen einen signifikanten Einfluss auf die Verschlusszeit der Kol/EPI- und/oder Kol/ADP-Messzellen haben (gemäß einer internen Studie der Firma Siemens):

| Medikamenten-kategorie | Substanz | Konzentration | Konzentration (S.I. Einheiten) | Einfluss auf die Verschlusszeit | |
|------------------------|---------------|---------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------|
| | | | | KOL/EPI | KOL/ADP |
| Antibiotikum | Penicillin G | 10000 IU/mL | 10 ⁷ IU/L | Verlängerung | kein Einfluss |
| Analgetikum | Ibuprofen | 5 µg/mL | 24,2 µmol/L | Verlängerung | kein Einfluss |
| Thrombolytikum | Streptokinase | 100 IU/mL | 100000 IU/L | Verlängerung | Verlängerung |
| Thrombozyten-hemmer | Cilostazol | 5 µg/mL | 13,5 µmol/L | Verlängerung | kein Einfluss |
| | Tirofiban | 0,1 µg/mL | 0,2 µmol/L | Verlängerung | Verlängerung |

Quelle: Packungsbeilage

Weitere Medikamente, deren Einfluss auf die Verschlusszeiten der Kol/EPI- und/oder Kol/ADP Messzellen in der Literatur beschrieben wurde, sind in der nachfolgenden Tabelle aufgelistet:

| Medikamenten- kategorie | Substanz | Einfluss auf die Verschlusszeit | |
|----------------------------|-------------------------------------|---------------------------------|-------------------|
| | | KOL/EPI | KOL/ADP |
| Anästhetikum | Propofol ^b | Verlängerung | kein Einfluss |
| | Ropivacainhydrochlorid ^c | Verlängerung | Verlängerung |
| Antihämorrhagikum | Desmopressin (DDAVP) ^d | Verkürzung | Verkürzung |
| Analgetika | Diclofenac ^d | Verlängerung | n.b. ^e |
| | Ketorolac ^d | Verlängerung | n.b. ^e |
| | Indometacin ^d | Verlängerung | n.b. ^e |
| | Meloxicam ^d | Verlängerung | n.b. ^e |
| | Nabumeton ^d | Verlängerung | n.b. ^e |
| Plasmaexpander | Hydroxyethyl-Stärke | Verlängerung | Verlängerung |
| Thrombozytenhemmer | Abciximab ^d | Verlängerung | Verlängerung |
| | Eptifibatid ^d | Verlängerung | Verlängerung |

| Medikamenten- kategorie | Substanz | Einfluss auf die Verschlusszeit | |
|----------------------------|---------------------------|---------------------------------|--------------|
| | | KOL/EPI | KOL/ADP |
| Vasodilator | Prostacyclin ^d | Verlängerung | Verlängerung |
| | Iloprost ^d | Verlängerung | Verlängerung |

- ^b Plasmakonzentration: 20 µg/mL
- ^c Plasmakonzentration: 1,88 mg/mL
- ^d Ex vivo Messung nach Verabreichung therapeutischer Dosierungen.
- ^e nicht bestimmt

Quelle: Packungsbeilage

Die folgenden Substanzen und Medikamente haben keinen Einfluss auf die Verschlusszeit der Kol/EPI- und Kol/ADP-Messzellen, wenn sie im Plasma in den angegebenen Konzentrationen enthalten sind, wie in einer internen Studie der Firma Siemens gezeigt wurde:

| Medikamentenkategorie | Substanz | Konzentration | Konzentration (S.I. Einheiten) |
|--------------------------------|---------------------------|---------------|--------------------------------|
| ACE-Inhibitor | Captopril | 25 µg/mL | 115,1 µmol/L |
| Alkohol | Ethanol | 5 µL/mL | 85,7 mmol/L |
| Analgetikum | Acetaminophen | 25 µg/mL | 165,4 µmol/L |
| Antiarrhythmikum | Lidocaine | 25 µg/mL | 106,7 µmol/L |
| Antikoagulans | niedermolekulares Heparin | 1,5 IU/mL | 1500 IU/L |
| Antidepressivum | Fluoxetine | 25 µg/mL | 80,8 µmol/L |
| Antioxidans | Catechin | 25 µg/mL | 86,2 µmol/L |
| | α-Tocopherol | 25 µg/mL | 58,0 µmol/L |
| Beta-Blocker | Propranolol | 25 µg/mL | 96,4 µmol/L |
| Bronchodilator | Theophyllin | 25 µg/mL | 138,8 µmol/L |
| Diuretikum | Hydrochlorothiazid | 25 µg/mL | 84,0 µmol/L |
| Entzündungshemmer | 5-Aminosalicylic acid | 50 µmol/L | 50,0 µmol/L |
| Glucocorticoid | Betamethason | 25 µg/mL | 63,7 µmol/L |
| Kalziumkanalblocker | Diltiazem | 25 µg/mL | 60,3 µmol/L |
| Koronarer Vasodilator | Nitroglycerin | 0,1 µg/mL | 0,4 µmol/L |
| Phosphodiesterase - Inhibitor | Koffein | 20 µg/mL | 103,0 µmol/L |
| | Dipyridamol | 10 µg/mL | 19,8 µmol/L |
| Phosphodiesterase V- Inhibitor | Sildenafil | 5 µg/mL | 10,5 µmol/L |
| Statin | Pravastatin | 25 µg/mL | 58,9 µmol/L |
| Schilddrüsenhormon | L-Thyroxin | 0,4 µg/mL | 0,5 µmol/L |

Quelle: Packungsbeilage

Einheit:

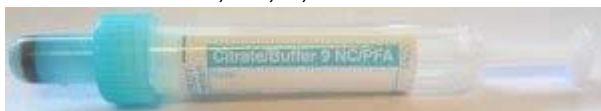
Die Messwertausgabe erfolgt in Sekunden.

Umrechnung:

entfällt

Probenmaterial:

Citrat-Plasma 3,8%, 3,8 ml entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen:



Die Probe muss vollständig gefüllt sein!

Referenzbereiche:

Es handelt sich hierbei um die erwarteten Verschlusszeiten von Probanden ohne vWS, ohne medikamentöse Behandlung und ohne Plättchenerkrankung:

Collagen/Epinephrin: 84 - 160 Sek.

Collagen/ADP: 68 - 121 Sek.

Quelle: Siemens Packungsbeilage

Interpretation der Ergebnisse:

| | Normal | ASS | vWS | Kongenitale Plättchenerkrankungen* |
|---------------|--------|------------|------------|------------------------------------|
| Col/Epi-Zelle | Normal | Verlängert | Verlängert | Verlängert |
| Col/ADP-Zelle | Normal | Normal | Verlängert | Verlängert |

*z.B. Glanzmann, Hermansky-Pudlak, Storage Disease, Bernard-Soulier (inkonstant).

Methode/Messverfahren/Gerät:

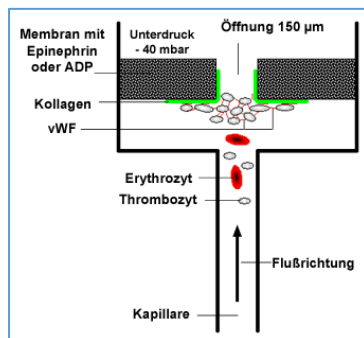
Seit dem 02.09.2014 wird die Bestimmung mittels P2Y12-Reagenzkassette nicht mehr durchgeführt.

Bitte weichen Sie für die Überwachung der Therapie von P2Y-Antagonisten (z.B. Prasugrel/Colpidogrel) auf das → [Multiplate](#) aus.

Die Bestimmung des PFA[®] ist nicht akkreditiert.

Messung der Verschlusszeiten der Col/Epi- bzw. Col/ADP- oder P2Y12-Reagenzkassette der Firma Siemens am Gerät PFA-200[®] (Bereichslabor Oberer Eselsberg) der Firma Siemens.

Citrat- (3,2%, 0,129 M) antikoaguliertes Vollblut wird mit ca. -40 mbar Druck durch eine mit den Thrombozytenaktivatoren Collagen/ADP bzw. Collagen/Epinephrin Membran mit einer Öffnung von 150µm gedrückt. Unter dem Einfluß der Aktivatoren auf der Membran verschließt der Gerinnungsprozess diese Öffnung, die Zeit bis zum Verschluss wird gemessen (Verschlusszeit).

**Kalibration/Rückführbarkeit:**

entfällt

Analysenfrequenz:

In der Regelarbeitszeit, die Proben müssen spätestens bis 15 Uhr 30 im Labor OE vorhanden sein.

Die Bestimmung erfolgt in der ZEKCh ab dem:

15.06.2011

Literatur/Quelle der Referenzbereiche

1. Gadisseur et al. Laboratory Diagnosis and Molecular Classification of von Willebrand Disease. Acta Haematol. 2009;121:71-84.
2. Favaloro EJ. Clinical Utility of the PFA-100, Semianr Thromb Hemost. 2008;34:707-733.
3. Lutze G, Kropf S. Blutungszeiten in vitro am PFA-100: Präanalytik bei der Blutentnahme. J Lab Med. 2004;28:463-469.
4. Koscielny J, et al. A practical concept for preoperative identification of patients with impaired primary hemostasis. Clin Appl Thromb Hemost. 2004;10(3):195-204.

5. Koscielny J, et al. Präoperative Identifikation von Patienten mit (primären) Hämostasestörungen. Hämostasiologie. 2007;27:177-184.
 6. Akin M, et al. An evaluation of the DDAVP infusion test with PFA-100 and vWF activity assays to distinguish vWD types in children. Clin Applied Thromb Hemost. 2011;17:441-448.
 7. Barthels D, von Depka M (2002). Das Gerinnungskompodium (S. 616-619). Stuttgart: Thieme.
 8. Van Belle E, et al. Von Willebrand factor multimers during transcatheter aortic-valve replacement. N Engl J Med. 2016;375:335-344.
-