

Peter Ridfeldt, docent, specialistläkare, avdelningen för klinisk kemi och farmakologi, Akademiska sjukhuset, Uppsala (vid tiden för studien vid koagulationsmottagningen, Karolinska sjukhuset, Stockholm)

Nils Egberg, universitetslektor, överläkare, avdelningen för klinisk kemi, Karolinska sjukhuset, Stockholm

Andreas Hillarp, docent, kemist, avdelningen för klinisk kemi, Universitetssjukhuset MAS, Malmö

Stefan Lethagen, docent, överläkare, koagulationsmottagningen, Universitetssjukhuset MAS, Malmö

Lilian Tengborn, docent, överläkare, Koagulationscentrum, Sahlgrenska Universitetssjukhuset, Göteborg

Ny in vitro-analys prövad:

Blödningstid fortfarande bästa metod för test av den primära hemostasen

II Mätning av trombocytfunktionen är av stor vikt för diagnos och behandling av patienter med ärftliga störningar i den primära hemostasen, men också för att värdera trombocytfunktionen hos patienter med trombocythämmande farmaka eller t ex njur- och leversjukdomar.

Det mest använda testet, blödningstid, är en invasiv metod som dras med en viss osäkerhet, bl a beroende av vem som utfört testet. Andra laboratorietest för bedömning av trombocytfunktionen är ej tillräckligt enkla, snabba, billiga eller reproducerbara, t ex aggregation enligt Born, adhesivitetmätningar och flödescytometri. Tromboelastografi används framför allt inom intensivvården, men är svårtolkad och har ej fått allmän spridning.

Därför är blödningstid (template bleeding time, ibland kallat blödningstid enligt Ivy) fortfarande det huvudsakliga screeningtestet av trombocytfunktionen, trots obehag för patienten, låg sensitivitet och brister i reproducerbarhet. Blödningstid kan dock ses som ett sammanfattande mått på funktionen hos trombocyter, övriga blodceller, plasmafaktorer, endotel och kärlvägg, medan in vitro-metoderna ej ger något mått på de vaskulära faktorerna.

Ny in vitro-metod

Nyligen har ett alternativ lanserats, mätinstrumentet PFA-100 (platelet function analyzer; Dade Behring, Liederbach, Tyskland). Systemet värderar trombocytfunktionen in vitro. Helblod aspireras genom ett mikroskopiskt hål i ett membran, som täckts med kollagen samt adrenalin eller adenosindifosfat (ADP). Trombocyterna adhererar och aggregerar, och tiden tills hålet har ockluderats mäts (OT=ocklusionstid).

Metoden är lätt att använda, icke-invasiv, snabb och automatiserad och utförs under höga skjuvningskrafter som efterliknar de flödesbetingelser som finns i ett litet eller stenoserat kärl. Testet görs på helblod taget i citratrör, det åtgår endast ca 400 µl blod, och det räcker att göra mätningen inom fyra tim-

SAMMANFATTAT

Behovet av en enkel, billig och lättillgänglig analys för att testa den primära hemostasen är stort, både vid en utredande mottagning och vid enheter som tar hand om akut sjuka eller operationskrävande patienter.

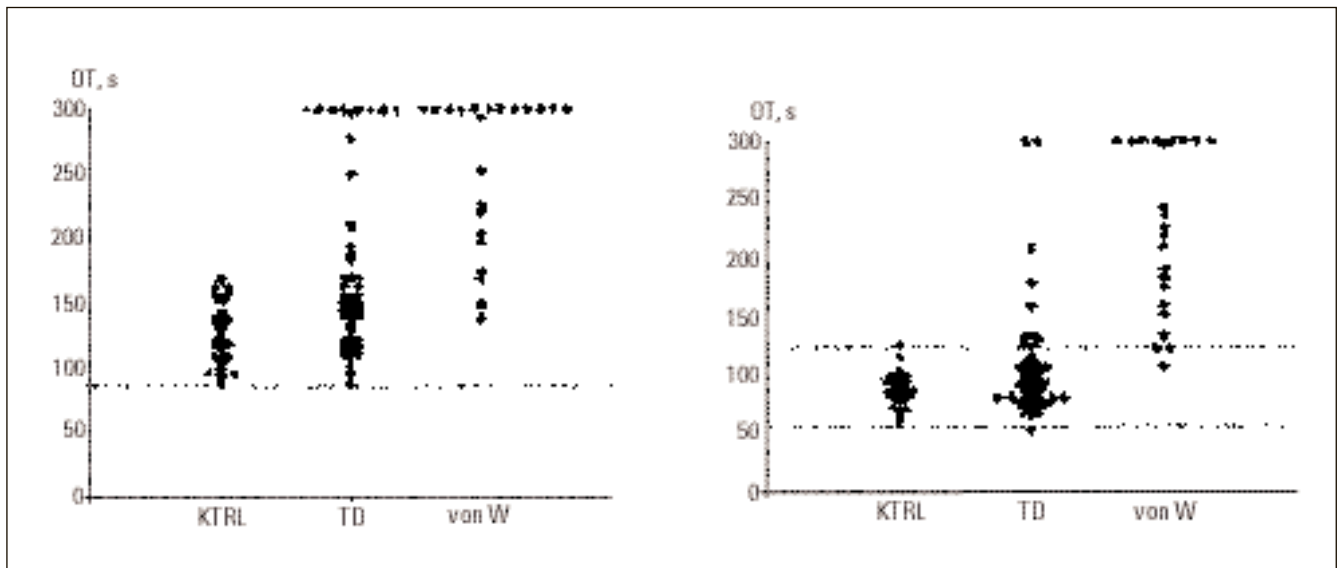
PFA-100 är ett nyligen lanserat mätinstrument för in vitro-mätning av trombocytfunktionen.

En sammanställning av erfarenheter från Stockholm, Göteborg och Malmö har visat att PFA-100 har god förmåga att identifiera patienter med von Willebrands sjukdom, men att sensitiviteten för ärftlig trombocytdysfunktion är mycket låg.

I sin nuvarande utformning kan därför denna nya metod ej ersätta blödningstid som screeningtest av den primära hemostasen.

mar efter provtagningen. PFA-100 har demonstrerats kunna påvisa trombocytdysfunktionen vid von Willebrands sjukdom och vid intag av acetylsalicylsyra [1-2], men utfallet vid here-ditär trombocytdysfunktion har varit varierande [3-4].

PFA-100 har testas vid koagulationslaboratoriet och koagulationsmottagningen på Karolinska sjukhuset, koagulationslaboratoriet på Universitetssjukhuset MAS samt koagulationsmottagningen på Sahlgrenska Universitetssjukhuset. Utifrån mätningar med PFA-100 på 39 friska försökspersoner har ett gemensamt referensintervall sammanställts (på grund av en skev distribution av värdena i adrenalingruppen bestämdes ett



Figur 1. Jämförelse mellan oklusionstider (OT) vid trombocytfunktionsanalys med PFA-100, vid stimulering med adrenalin (till vänster) respektive ADP (till höger), hos friska kontrollpersoner (KTRL), patienter med trombocytdysfunktion (TD) eller von Willebrands sjukdom (von W). Referensintervallen är inlagda som prickade linjer.

icke-parametriskt referensintervall, 2,5 och 97,5 procent percentiler). Dessutom har prov från patienter med blödningsbenägenhet, som utretts vid respektive koagulationsmottagning, testats med PFA-100.

Rutindiagnostiken varierar något mellan de tre sjukhusen, men blödningstid ingår som en väsentlig del på alla ställen. Vid MAS och Sahlgrenska utförs blödningstid med Simplate-II [5-6] och vid Karolinska används Surgicut, och referensvärdena skiljer sig mellan de tre centren. Dessutom används trombocyttaggregationen vid tillsats av ADP, adrenalin, kollagen, arakidonsyra och ristocetin i trombocytrik plasma. Trombocytadhesiviteten mäts i Adeplatsystem [7], och flödescytometri används i selekterade fall för detektion av trombocytreceptorer. Koagulationsfaktoranalyser, av bl a von Willebrands faktor och koagulationsfaktor VIII, ingår också i utredningarna.

Patienter med trombocytopeni, med känd lever- eller njursjukdom eller som behandlades med acetylsalicylsyra eller antiinflammatoriska medel av icke-steroid typ exkluderades.

Trombocytdysfunktion förelåg hos 69 patienter och von Willebrands sjukdom (typ 1 och 2) hos 25 patienter. Vid den statistiska analysen poolades alla mätvärden från patienter med trombocytdysfunktion respektive von Willebrands sjukdom utan hänsyn till undergrupper inom respektive diagnos.

Analysen med PFA-100 gjordes inom fyra timmar efter provtagningen. Analysen gjordes på helblod med 0,13 mol/l citrat.

Låg sensitivitet för trombocytdysfunktion

Vid mätningar med PFA-100 var referensintervallet ($n=39$) för de friska försökspersonerna 88–171 s för stimulering med adrenalin och 60–125 s för ADP.

Hos patienter med von Willebrands sjukdom hamnade OT ovan referensintervall hos 22 av 25 patienter vid stimulering med både adrenalin och ADP. Således uppvisar PFA-100 en god sensitivitet, 88 procent, för von Willebrands sjukdom. Detta är bättre än blödningstid, där sensitiviteten var 75 procent (18 av 24 patienter hade förlängd blödningstid).

Däremot gav analyser med PFA-100 föga information om patienter med trombocytdysfunktion, sensitiviteten var endast 24 procent (16 av 68 patienter ovanför referensinterval-

let) med adrenalin och 15 procent (10 av 68 patienter ovanför referensintervall) med ADP.

Detta skulle kunna bero på olika diagnostiska strategier mellan de olika sjukhusen. Emellertid var OT hos patienterna med trombocytdysfunktion ej signifikant olika vid de olika sjukhusen (Mann-Whitney U-test; $P>0,05$). Således fanns en god överensstämmelse mellan de tre sjukhusen beträffande de patienter som fått diagnosen trombocytdysfunktion, trots att detta är en heterogen grupp sjukdomar där diagnostiken varierar en del mellan sjukhusen.

PFA-100 särskiljer således bättre mellan friska personer och patienter med von Willebrands sjukdom än blödningstid. Däremot är diskrimineringen mellan friska och patienter med hereditär trombocytdysfunktion dålig vid analyser med PFA-100. För von Willebrands sjukdom finns dock andra metoder i diagnostiken, t ex mätningar av von Willebrands faktor, även om tillgängligheten varierar på jourtid. Analys med PFA-100 kan ej ersätta någon av de andra metoder som idag ingår i utredningen av patienter med misstanke om von Willebrands sjukdom.

Sammanfattningsvis tillför PFA-100 inget nytt till trombocytdysfunktionsdiagnostiken vid en utredande mottagning, och metoden kan i sin nuvarande utformning inte ersätta blödningstiden som screeningtest för att påvisa rubbningar i den primära hemostasen.

*

Undersökningarna har utförts med stöd av forskningsanslag från Region Skåne och Universitetssjukhuset MAS fonder.

Referenser

1. Cattaneo M, Federici AB, Lecchi A, Agati B, Lombardi R, Stabile F, et al. Evaluation of the PFA-100 system in the diagnosis and therapeutic monitoring of patients with von Willebrand disease. *Thromb Haemost* 1999;82:35-9.
2. Harrison P, Robinson MS, Mackie IJ, Joseph J, McDonald SJ, Liesner R, et al. Performance of the platelet function analyser PFA-100 in testing abnormalities of primary haemostasis. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1999;10:25-31.
3. Kerenyi A, Schlammadinger A, Ajzner E, Szegedi I, Kiss C, Pap Z, et al. Comparison of PFA-100 closure time and template bleeding

- time of patients with inherited disorders causing defective platelet function. *Thromb Res* 1999;96:487-92.
- Mammen EF, Comp PC, Gosselin R, Greenberg C, Hoots WK, Kessler CM, et al. PFA-100 system: a new method for assessment of platelet dysfunction. *Semin Thromb Hemost* 1998;24:195-202.
 - Lethagen S, Kling S. New bleeding devices with retractable blades evaluated in children, healthy volunteers and patients with prolonged bleeding time. *Thromb Haemost* 1993;70:595-7.
 - Nilsson L, Tengborn L, Nilsson IM. Ett nytt hjälpmedel för standardiserad blödningstidsbestämning. *Opuscula Medica* 1979;24:65-6.
 - Lethagen S, Nilsson IM. DDAVP induced enhancement of platelet retention. Its dependence on platelet-von Willebrand factor and the platelet receptor GPIIb/IIIa. *Eur J Haematol* 1992;49:7-13.

SUMMARY

New in vitro assay tested:
Bleeding time still best method
for evaluation of primary hemostasis

**Peter Ridefelt, Nils Egberg, Andreas Hillarp,
Stefan Lethagen, Lilian Tengborn**

Läkartidningen 2001;98:3922-4

The need is great for a simple, cheap and readily accessible method for the evaluation of primary hemostasis in work-ups at both out-patient clinics and units caring for surgical or intensive care patients. PFA-100 is a recently introduced instrument for in vitro testing of platelet function. We report experiences from Stockholm, Gothenburg and Malmö of PFA-100 measurements performed on samples from healthy controls and from patients with von Willebrand disease or platelet disorders. It is shown that the PFA-100 system has a high sensitivity for von Willebrand's disease, while the sensitivity for hereditary platelet dysfunction is low. In its present design this new device could not replace the template bleeding time as a screening test for primary hemostasis.

Correspondence: Peter Ridefelt, Dept of Clinical Chemistry and Pharmacology, University Hospital, SE-751 85, Uppsala, Sweden (peter.ridefelt@medsci.uu.se)

Särtryck

Läkartidningen

Kunskaperna om lungcancers biologi har ökat väsentligt på senare år, vilket innebär nya möjligheter för både prevention och behandling. Kombinationen av flera terapeutiska principer innebär bot, eller lindring, för fler patienter.

Sex artiklar ger överblick över möjligheter och begränsningar med dagens terapimetoder. De har nu samlats i ett 36-sidigt häfte som kan beställas med kupongen nedan.

Priset är 60 kronor.

Lungcancer



Beställer härmed ex
av "Lungcancer"

.....
namn

.....
adress

.....
postnummer

.....
postadress

Insändes till Läkartidningen
Box 5603
114 86 Stockholm

Faxnummer: 08-20 74 35

www.lakartidningen.se
under särtryck, böcker