

Thrombelastometrie – interne und externe Qualitätssicherung

Thrombelastometry – internal and external quality control

Abstract

Patient near diagnostics ensure the monitoring of the individual hemostatic capacity of surgery and intensive care patients. Therefore thrombelastometry provides a series of standard measurements. The challenge for such a bedside diagnostic method is that it can be performed by “laboratory-unexperienced” staff, and special attention has to be paid to result validation. External quality controls with External Quality Assessment Schemes (EQAS) provide an appropriate instrument, which was established for the thrombelastometry. The increasing number of participants and good pass rates show the relevance of this topic. Here we present a summary of the results and experiences of four consecutive EQAS. With average inter laboratory coefficients of variation (CVs) of <20% the results are within the range of typical physiological plasma clotting methods.

Keywords: EQAS, ROTEM, external quality control, InTEM, ExTEM

Zusammenfassung

Patientennahe Diagnostik sichert die Überwachung der individuellen Hämostasekapazität von Patienten der Operativen und der Intensivmedizin. Die Thrombelastometrie bildet hierfür ein standardisiertes Spektrum von Messgrößen an. Die Herausforderung dieser schnellen diagnostischen Methode, die von „laborunerfahrenem“ Personal durchgeführt werden kann, bedeutet andererseits, dass ein besonderes Augenmerk auf valide Ergebnisse gelegt werden muss. Die externe Qualitätssicherung über Ringversuche stellt dafür ein probates Mittel dar, die für die Thrombelastometrie etabliert wurde. Die steigenden Teilnehmerzahlen und guten Bestehensquoten zeigen die hohe Relevanz dieser Thematik. Wir präsentieren hier eine Zusammenfassung der Ergebnisse und Erfahrungen aus vier konsekutiven Ringversuchen. Mit mittleren Interlaborationskoeffizienten (VKs) von <20% bewegen sich die Ergebnisse im Bereich der gerinnungsphysiologischen Plasmamethoden.

Schlüsselwörter: Ringversuche, ROTEM, externe Qualitätskontrolle, InTEM, ExTEM

Einleitung

In der Intensivmedizin und bei Notfalleingriffen sind patientennahe diagnostische Methoden zur Überwachung der aktuellen Hämostasekapazität wichtig. Auf diese Weise kann schneller die Differentialtherapie mit gerinnungswirksamen Medikamenten oder Blutprodukten eingeleitet werden. Allerdings müssen diese Methoden präzise, validierte und standardisierte Ergebnisse liefern, damit sie eine tatsächliche Hilfe für die Diagnosestellung und Therapieführung sind [1]. Die Thrombelastometrie ermöglicht eine globale Erfassung der Hämostasekapazität

im Vollblut und erzeugt ein kontinuierliches Dynamikprofil sowohl der Koagulations- als auch Fibrinolysevorgänge. Es erfasst dynamische Parameter der plasmatischen und zellulären Gerinnung, die Gerinnselbildung, -stabilität und -auflösung anzeigen [2].

Eingeführt vor 50 Jahren gewinnt die Thrombelastometrie in der klinischen Beurteilung von Blutungsbedingungen aufgrund der patientennahen Nutzung und der standardisierten Testbedingungen aktuell an Bedeutung. Zudem erwies sich unter entsprechender Steuerung in prospektiven Untersuchungen im Trauma- und perioperativen Hämostasemanagement eine kosteneffektivere Nutzung

Thorsten Kragh¹
Andreas Giebl²
Andrea Dick³
Mareen Kutsch³
Michael Spannagl^{1,3}

1 Instand e.V., Düsseldorf, Deutschland

2 Institut für Transfusionsmedizin und Hämostaseologie, Klinikum Augsburg, Deutschland

3 Abteilung für Transfusionsmedizin, Zelltherapeutika und Hämostaseologie, Klinikum der Universität München, Deutschland

der Hämotherapie. Das ROTEM-System erleichtert vor allem die Differenzierung zwischen hämostaseologischer und chirurgischer Blutung und ermöglicht damit die Einsparung von Blutprodukten und Gerinnungsfaktorkonzentraten.

Ferner kann ein in-vitro Vollblutgerinnungsmodell helfen, die Dosierung neuer Hämostatika in einer frühen Entwicklungsphase zu validieren und zu optimieren und verschiedene Wirkprinzipien hinsichtlich äquieffektiver Dosierung zu vergleichen. Es ermöglicht auch Vorhersagen bzw. ein Therapiemonitoring für eine individualisierte Dosierung von Hämotherapeutika bei der Behandlung von Patienten. Eine Reihe von Testkonzepten, die verschiedene Gerinnungs-, Thrombozyten- und Fibrinolyseaktivatoren bzw. Inhibitoren verwenden, wurde entwickelt [3].

Eine komplexe biologische Diagnostik im patientennahen Einsatz weist auch Nachteile auf. Da die Methode nicht der klinischen chemischen Bioanalytik entstammt, sondern von „laborunerfahrenen“ Mitarbeitern betrieben wird, kommen Anwenderthemen wie Schulung, Qualitätssicherung sowie Konsistenz und Validität der Ergebnisse in Diskussion. Die Qualitätssicherung in der Thrombelastographie wurde bisher in nur wenigen Berichten thematisiert [4]. Einige EQA Organisationen bieten Ringversuche für viskoelastische Verfahren an. Von den Herstellern wird Material für interne QCs in unterschiedlichen Messbereichen bereitgestellt. Um die Qualität der Patientenversorgung zu verbessern, müssen nicht zuletzt auch prä- und post-analytische Fehler diskutiert werden [5].

Wir berichten von der Einführung regelmäßiger Ringversuche (EQA) bei der Referenzinstitution INSTAND e.V. Dafür sollte auf der einen Seite das Testmaterial dem tatsächlichen Probenmaterial vom Patienten so ähnlich wie möglich sein, während auf der anderen Seite das Material für Transport und Lagerung stabilisiert werden muss. Das im bed-side Test verwendete Vollblut kann daher im Ringversuch nicht eingesetzt werden, da es den Stabilitätsanforderungen über den Testzeitraum nicht genügt. Zurzeit stellt lyophilisiertes Humanplasma den besten Kompromiss dar, um zuverlässige EQAs in der Thrombelastometrie durchzuführen. Wir präsentieren hier Daten von vier unabhängigen Ringversuchen und zeigen, dass die Thrombelastometrie einen wichtigen Schritt in Richtung der Qualitätssicherungsstandards in der medizinischen Laboratoriumsdiagnostik gemacht hat. Das verwendete Kontrollmaterial wurde charakterisiert und validiert und die Inter- und Intralaborleistung wurden dokumentiert und verbessert. Ziel der Studie war es, EQA für dieses Verfahren der patientennahen Hämostasediagnostik zu etablieren.

Material und Methoden

Die Messeinheit des Thrombelastometers (ROTEM) besteht im Wesentlichen aus einem zylindrischen Becher und einem Stift, der über ein Intervall von 10 s in einen Winkel von 4° 45' oszilliert. Die Übertragung des Drehmoments aufgrund der Probenviskosität wird kontinuier-

lich von einem Computer aufgezeichnet. Bei der Gerinnungsbildung entstehen nach Aktivierung in der Messeinheit Fibrinfasern zwischen Becher und Stift, die die Probenviskosität erhöhen. Nach maximaler Koagulation verringert die Fibrinolyse die Gerinnelstabilität wieder. Die Kinetik der Gerinnungsbildung und ihre physikalischen Eigenschaften (z.B. Rate der Gerinnungsbildung, Festigkeit und Stabilität des Gerinnsels, Zeitpunkt der Gerinnung-Lyse) hängen von der Wechselwirkung der Gerinnungsfaktoren, Blutzellen, Fibrinogen und des Aktivators ab.

Aus dem aufgezeichneten Graphen werden die Parameter berechnet (vgl. Abbildung 1). Von allen verfügbaren Parametern werden in den dargestellten EQA von Instand e.V. die im Folgenden fett gedruckten abgefragt:

- **CT: Gerinnungszeit [s]**
- CFT: Gerinnelbildungszeit [s]
- **A20: Amplitude 20 Min. nach CT**
- MCF: Maximale Gerinnelgestigkeit
- **Alpha-Winkel: Polymerisationsrate**

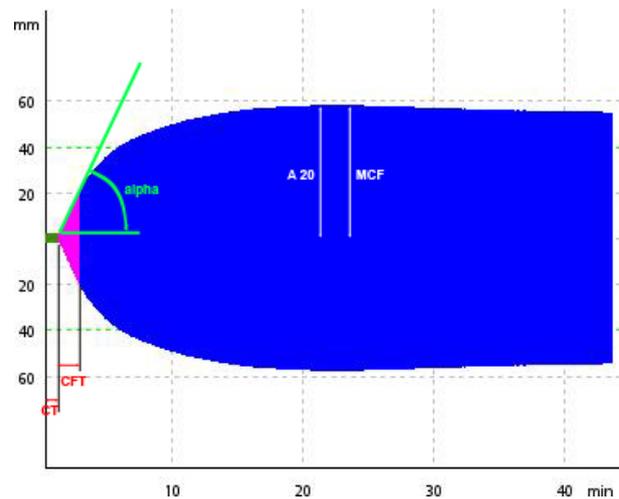


Abbildung 1: Graphische Auswertung eines Thrombelastogramms mit eingezeichneten Parametern

Nach dem erfolgreichen Pilotprojekt im Jahr 2009 wurden Ringversuche [6] für das Gerinnungsmanagement mit ROTEM Systemen für Labore, Kliniken und Praxen nach Instand eV Standard durchgeführt. Die Versuche beinhalten die Testung des intrinsischen (InTEM) und extrinsischen (ExTEM) Gerinnungswegs. Lyophilisierte Plasma-proben mit definierten Faktoren- und Fibrinogenkonzentrationen aus einem Spenderpool stellten sich als reliables Testmaterial heraus. Die Proben werden von den Teilnehmern mithilfe ihrer Routinelaborprotokolle analysiert. Die Probenstabilität wird durch eine regelmäßige Stabilitäts- und Homogenitätsprüfung überwacht.

Ergebnisse

A: Teilnehmerzahl

Es besteht ein großes Interesse daran die Qualität von Messungen mit patientennahen Testsystemen zu verbessern. Nach dem Ende unserer Pilotstudie 2009 zeigte

sich das in einer stetigen Zunahme von Laboren und Einrichtungen, die an den freiwilligen Ringversuchen teilnahmen (Abbildung 2). Innerhalb von fünf Jahren hat sich die durchschnittliche Teilnehmerzahl an den Ringversuchen für TEG-Parameter verdoppelt.

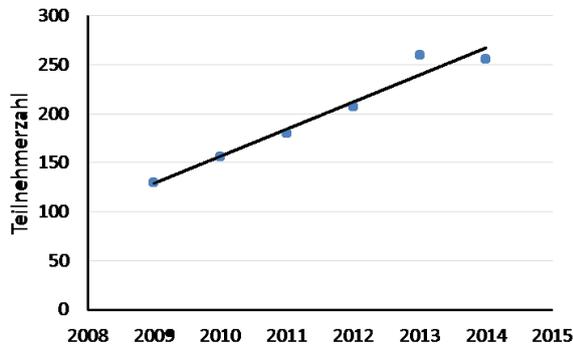


Abbildung 2: Teilnehmerzahl an Ringversuchen in den Jahren 2009 bis 2014

B: Fibrinogengehalt als limitierende Größe

Die Ringversuche müssen mit lyophilisiertem Plasma anstelle von Vollblut durchgeführt werden, da nur so die Probenstabilität über die Zeit des Ringversuchs und den Transport sichergestellt werden kann. Um eine enge Streuung der Ergebnisse zu erhalten, ist es wichtig, die Proben bei einer Fibrinogenkonzentration mit mindestens 200 µg/ml einzustellen. Am empfindlichsten auf niedrige Fibrinogenkonzentration reagieren die Alpha-Winkel und der A20-Wert sowohl für InTEM als auch für ExTEM (Abbildung 3). Bei niedrigem Fibrinogenspiegel muss eine deutliche Streuung dieser beiden Parameter in Kauf genommen werden.

C: Bewertung

In der Regel erfolgt die Auswertung gerinnungsphysiologischer Methoden nicht durch Vergleich der Teilnehmerergebnisse mit Referenzwerten sondern es werden die Reagenzien in einer Gruppe zusammengefasst, deren Zielwerte und Streuungen eng beieinander liegen (consensus based). Als Zielwert für alle Analyte wird der robuste Mittelwert (Algorithmus A nach DIN ISO 13528 [7]) eines Kollektivs verwendet.

Die Bewertungsbereiche für die ROTEM Messungen wurden als Konsenswert (Median) ± zweifache Standardabweichung festgelegt.

Zur besseren Einschätzung der eigenen Ergebnisse erhält jeder Teilnehmer einen individuellen Ergebnisausdruck, der die Messungen im Gesamtkollektiv einordnet. In einer Gesamtübersicht wird die Zusammenstellung aller Kollektive dargestellt. Hier können neben den Variationskoeffizienten auch die Bestehensquoten für die einzelne Probe und die Gesamtbestehensquote ablesen werden (Abbildung 4).

D: Unterschiede der verschiedenen TEG Parameter

In jedem der vier dargestellten Ringversuche wurden zwei Proben gemessen, die jeweils aus einem Normalplasma und einem pathologischen Plasma zusammengestellt waren. Das Normalplasma stammt von einem gesunden Spender, während die zweite Probe eine artifiziell pathologisch zusammengestellte Probe darstellt oder von einem oral antikoagulierten Spender stammt. Bei den Proben A, C, F und G handelt es sich um die Normalplasmen, Probe B ist artifiziell pathologisch und die Proben D, E sowie H aus Plasmapools oral antikoagulierter Patienten (Abbildung 5).

Deutlich höhere Messwerte zeigten sich bei den pathologischen Proben im Vergleich zu den Normalplasmen bei den CT-Messungen mit extrinsischer Aktivierung. Bei intrinsischer Aktivierung ergaben sich dagegen immer Werte über 150 s, so dass sich die höhere Streuung der Messwerte dennoch in einem verhältnismäßig niedrigen VK äußerte (Abbildung 6). A 20-Werte und Alpha-Winkel wurden unabhängig von Aktivierung und Probe am präzisesten von allen Teilnehmern bestimmt (niedrige VK-Werte).

Diskussion

Bei Erreichen des Zielbereichs der Ringversuche wird den Teilnehmern ein Zertifikat ausgestellt, auf dem all diejenigen Analyte aufgeführt sind, für die die Akzeptanzkriterien des Ringversuchs erfüllt sind. Eine Teilnahmebescheinigung wird für jeden Parameter erstellt, mit dem am Ringversuch teilgenommen wurde.

Seit der Einführung der Ringversuche für Thrombelastometrie bei Instand e.V. haben sich die Teilnehmerzahlen mehr als verdoppelt. Das zeigt das große Interesse, die allgemeinen Standards dieser Methode auf ein höheres Niveau zu heben und die damit verbundene Patientenversorgung zu verbessern. Interne und externe Qualitätssicherung stellen wichtige Meilensteine in diesem Prozess dar.

Die Ringversuchsproben stellen sich aus Spenderplasmapools und speziell modifizierten Mangelplasmaproben zusammen, um hohe und niedrige Messbereiche, wie sie im klinischen Alltag auftreten können, abzudecken. Lag der Fibrinogengehalt des Probenmaterials unter 200 µg/ml, streuten die Messergebnisse der Teilnehmer in den Parametern A20 und Alpha-Winkel erheblich stärker. Dagegen ergaben Proben mit höherer Fibrinogenkonzentration besonders bei den A20- und alpha-Grad-Werten stabilere Ergebnisse unter allen Teilnehmern. Im Longitudinalverlauf stellen sich die Messungen ebenfalls stabil dar. Die relativ hohe Variabilität der CT-Werte bleibt auch mit hohen Fibrinogenkonzentrationen bestehen. Auch die interne Qualitätskontrolle wird nach Herstellerangaben mit lyophilisiertem Plasma durchgeführt.

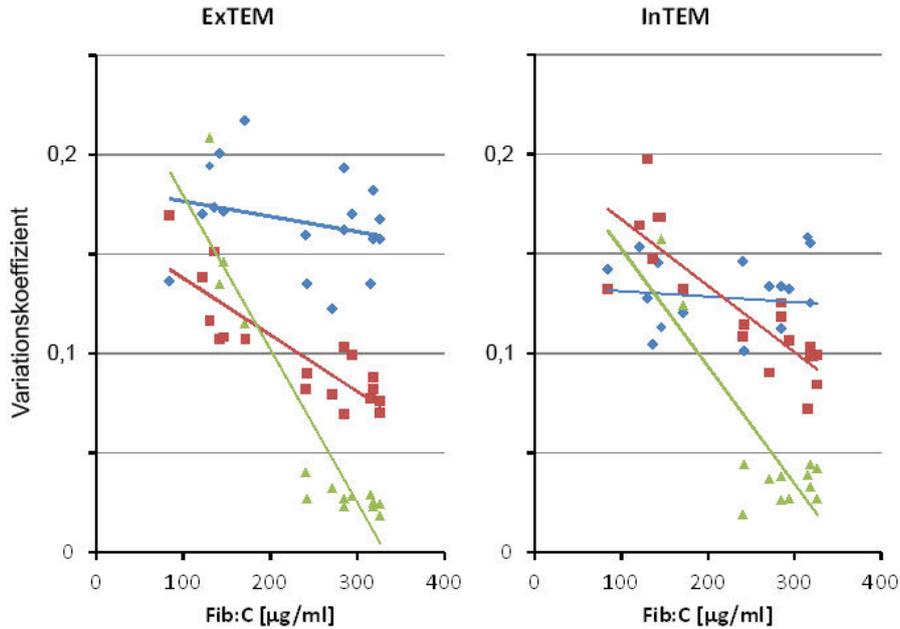


Abbildung 3: Fibrinogenkonzentration gegen Variationskoeffizient; blau: CT, rot: A20, grün: Alpha-Winkel



2014 6 - Oktober Rv 1400	242 Plasmaproteine (Cystatin C)	EXTEM CT[s]
2014 5 - August Rv 1405	280 Haemostaseologie 12	EXTEM A20
2014 4 - Juli Rv 1404	281 Haemostaseologie 13	EXTEM alpha
2014 3 - Mai Rv 1403	282 Haemostaseologie 14	INTEM CT[s]
2014 Nov., Infektionsserologie Rv 1436	283 Haemostaseologie 15	INTEM A20
2014 2 - März Rv 1402	285 Haemostaseologie 17	INTEM alpha
2014 1 - Januar Rv 1401	286 Haemostaseologie 18	
2014 Mai, Infektionsserologie Rv 1433	288 Haemostaseologie 20	
2013 [Jahr]	292 Tumormarker	
2013 6 - Oktober Rv 1306	293 Tumormarker	
2013 5 - August Rv 1305	294 Hormone - Schilddruese	
2013 4 - Juli Rv 1304	297 Hormone - Fertilitaet	
2013 3 - April Rv 1303	298 Nebenniere/Hypophys	

Legende: Methoden (329 Methoden) m0001 2-(4-Hydroxyphenyl)-benzoes?ure-(HA?BA)-Methode m0002 IFCC-Methode ohne Pyridoxalphosphat m0003 Amidoschwarz m0004 Amidoschwarz - Agarose-Gel m0005 Amidoschwarz - Celluloseacetatfolie m0006 Ammoniummolybdat-vanadat-Methode m0007 Ammonium-Phosphomolybdat UV-Methode m0008 Andere Farbstoffe m0009 Andere GOD- bzw. GOD/POD-Methoden m0011 AP (mit AMP-Puffer (ALP)) 37°C	Legende: Reagenz (327 Reagenzen) r0001 AID r0002 ABBOTT r0003 ABX DIAGNOSTICS r0004 AESKU DIAGNOSTICS r0005 ARGENE (BIOMERIEUX) r0006 AUTOIMMUN DIAGN. r0007 OMEGA DIAG. (Allergo Pharma) r0008 ANALYTICON r0009 ALBIO r0010 APPLIED BIOSYSTEMS r0011 ARTUS	Legende: Gerät (410 Geräte) g0002 Abbott AxSym g0003 Abbott Architect g0004 Abbott: Andere Ger?te g0005 Beckman Paragon Systeme g0006 Beckman Paragon CZE 2000 g0007 Beckman Array-Systeme g0008 Beckman Image-Systeme g0009 Beckman Synchron CX-Systeme g0010 Beckman Synchron LX-Systeme g0011 Beckman Unicel DX-System g0012 Beckman: Andere Ger?te
Legende: Testkit (172 Testkits) tk0001 Technoclone APC Resistance Kit tk0002 Coatest Resistance V tk0003 Hemoclot tk0004 HemosIL Factor V Leiden (APC Resist. V) tk0005 Pefakit APC-R. Factor V Leiden tk0006 Proc ACR tk0007 Proc Global tk0008 Actin tk0009 Actin-FS tk0010 Actin-FSL tk0011 aPTT SI		

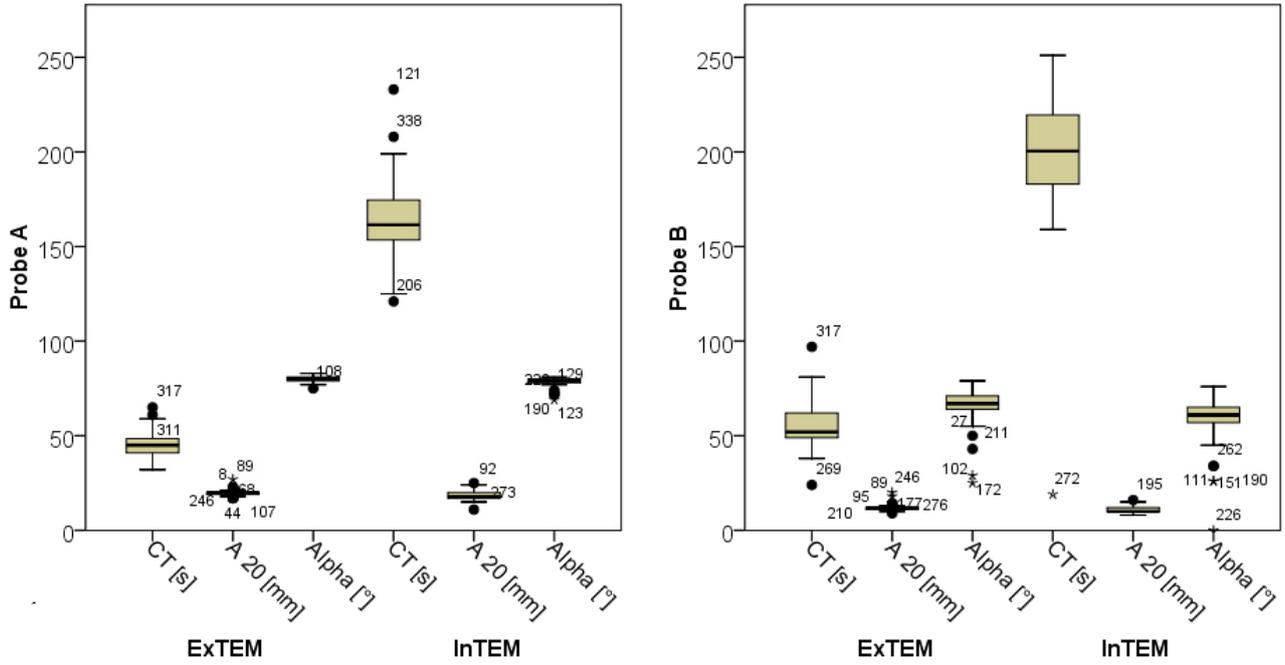
EXTEM CT[s] Sekunden

RV / Split	Prb	ZW	Bew. Bereich	MW	Vk	Anz	Quote (%)	ges. (%)
RV 2014 5 - August								
M.0-9999	51	121.00	69.30 - 173.00	121.00	21.4	52	96.2	94.2
	51	121.00	69.30 - 173.00	121.00	21.4	52	96.2	
	52	47.70	35.10 - 60.30	47.70	13.2	52	94.2	
	52	47.70	35.10 - 60.30	47.70	13.2	52	94.2	

Abbildung 4: Ringversuchsergebnisse auf der Homepage von Instand e.V.

Über die Dialogfenster (obere Reihe) kann zu den Parametern der einzelnen Ringversuche navigiert werden. Die Ergebnisse des herausgesuchten Parameters werden in der unteren Tabelle dargestellt. RV: Ringversuchsnummer; Prb: Probennummer; ZW: Zielwert; Bew. Bereich: maximal und minimal Werte aller Teilnehmer; MW: Mittelwert; Vk: Variationskoeffizient; Anz: in die Bewertung eingeschlossene Teilnehmerzahl; Quote: Bestehensquote.

Ringversuch 2014-I



Ringversuch 2014-II

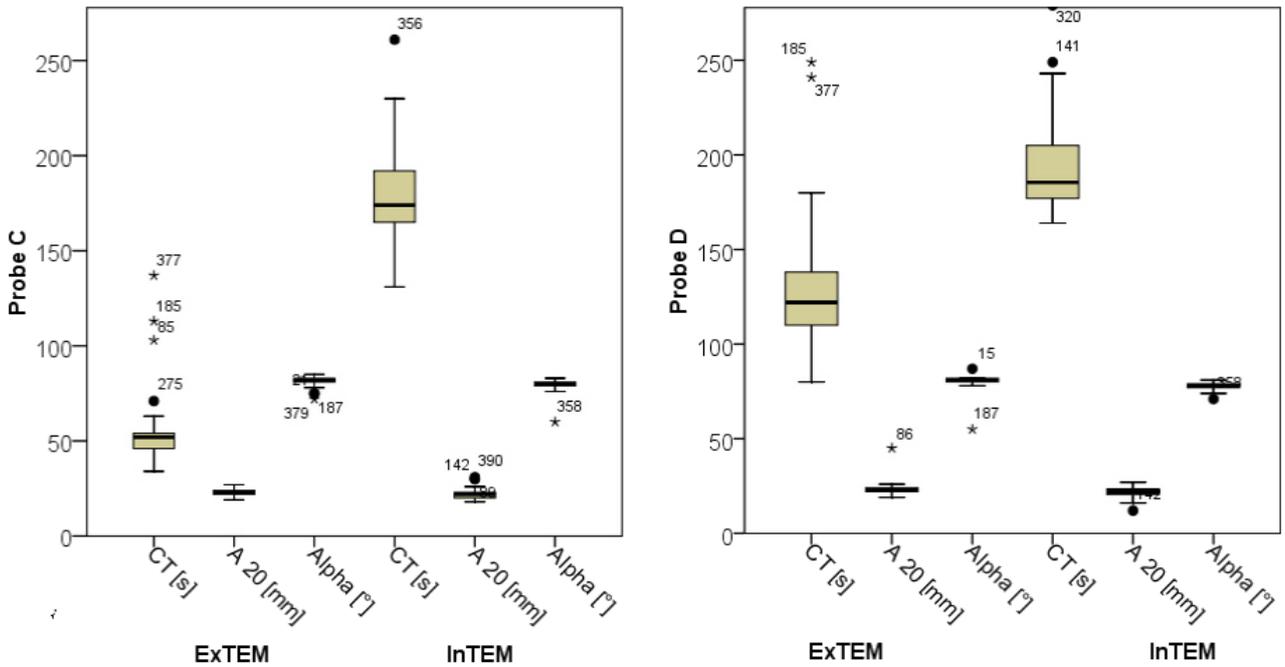
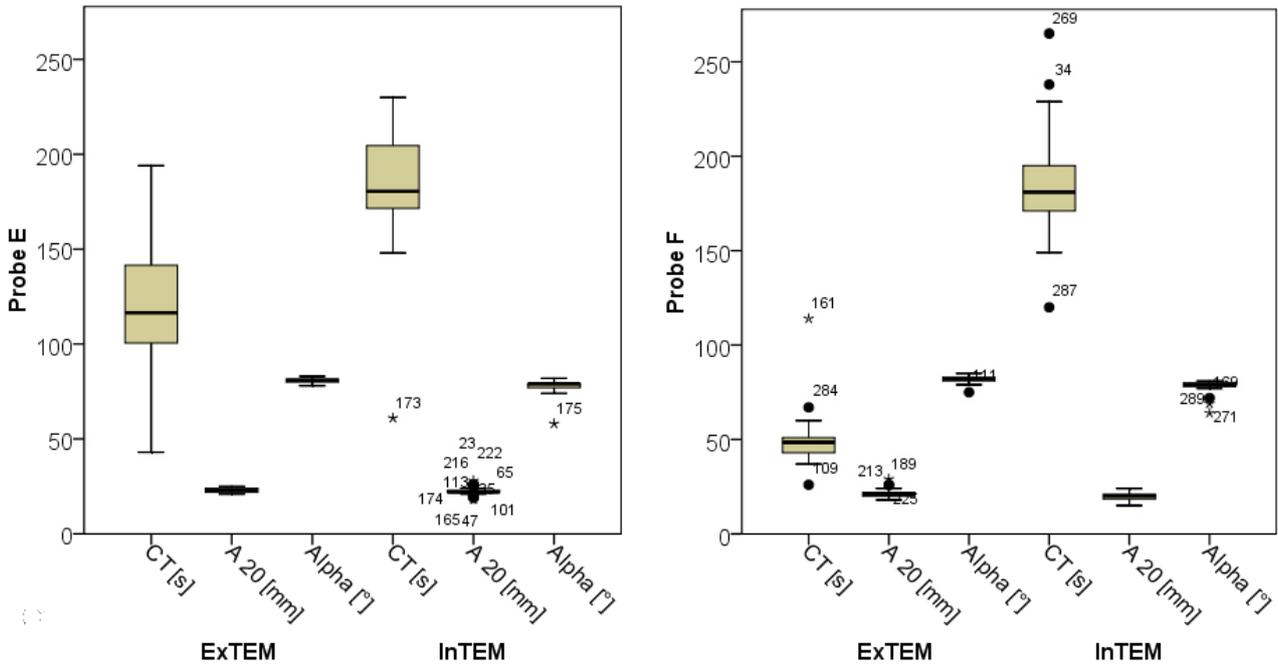
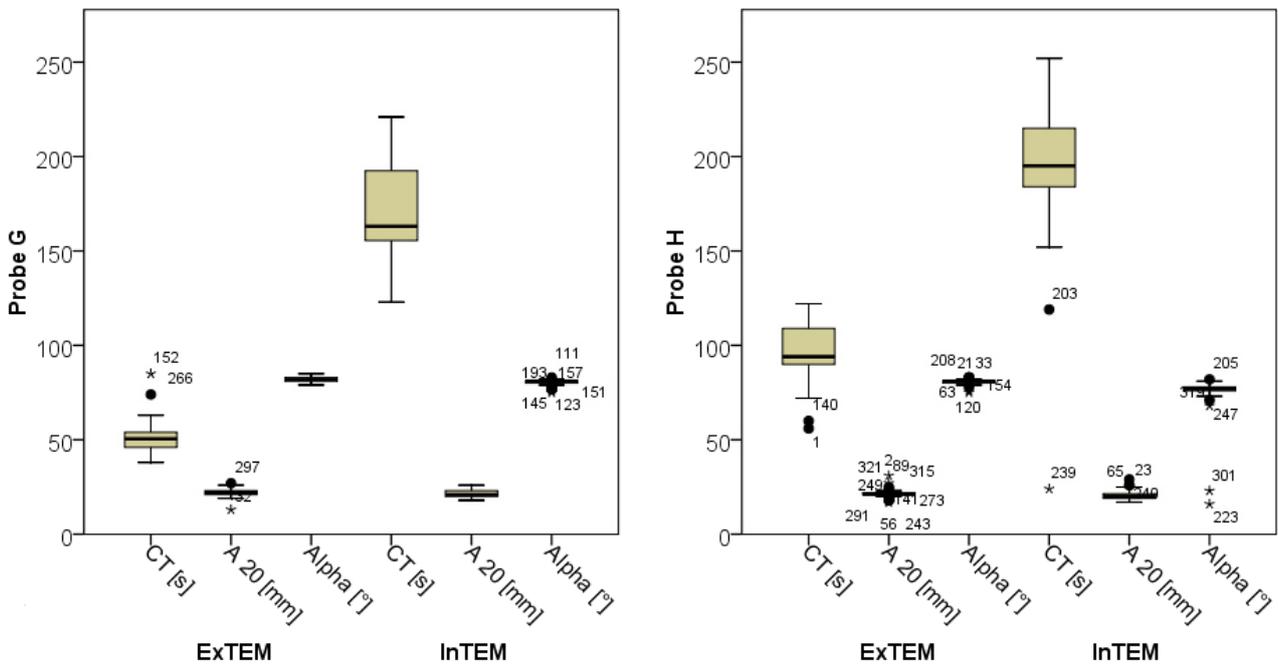


Abbildung 5: Messwerte der Ringversuche 2014 I-IV (A-D) mit jeweils zwei gemessenen Proben

Ringversuch 2014-III



Ringversuch 2014-IV



(Fortsetzung)

Abbildung 5: Messwerte der Ringversuche 2014 I-IV (A-D) mit jeweils zwei gemessenen Proben

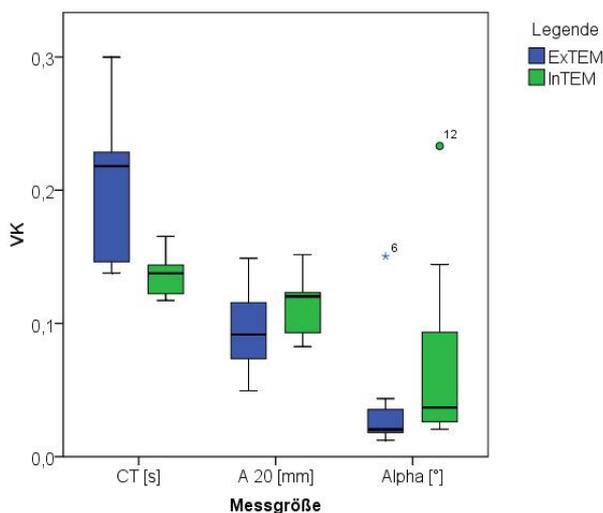


Abbildung 6: Vergleich der mittleren Variationskoeffizienten (VKs) von acht Proben aus vier Ringversuchen

Da die Gerinnselbildungszeit (CFT) vom Einfluss der Blutzellen mitbestimmt wird, ist sie als Kontrollparameter bei lyophilisierten Plasmaproben nicht geeignet und wird daher nicht bestimmt. Der A20-Wert (Gerinnselfestigkeit) des Kontrollmaterials ohne zelluläre Anteile ist in etwa vergleichbar mit der maximalen Gerinnselfestigkeit (MCF) einer Vollblutprobe. Eine verringerte Konzentration von Vitamin K abhängigen Einzelfaktoren, simuliert durch oral antikoaguliertes Spenderplasma, wirkt sich bei ausreichender Fibrinogenkonzentration lediglich auf die Gerinnungszeit aus. Die Festigkeit des Gerinnsels bleibt unbeeinträchtigt.

In der lyophilisierten Kontrollprobe sind keine zellulären Anteile enthalten. Damit ergibt sich ein wesentlicher Unterschied zwischen Kontrollmaterial und frischer Probe. Eine Besonderheit der Thrombelastometrie im klinischen Einsatz ist auch, dass in der Regel frische Proben eingesetzt werden. Dies kann sowohl im frischen als auch im citrierten Vollblut geschehen.

Lyophilisierte Plasmaproben in den EQCs bringen eine gute Vergleichbarkeit zu den vom Hersteller vorgesehenen internen Qualitätskontrollen. Die zusätzliche Verwendung einer Zitratvollblutprobe würde eine Annäherung an die „like-versus-like“ Anforderungen ermöglichen. Eine über einen ausreichenden Zeitraum stabile Herstellung ist bis jetzt nicht gelungen.

Fazit

Valide EQC sind mit lyophilisiertem Kontrollmaterial, das analog der internen Qualitätskontrollen eingesetzt wird, möglich. Das in der Routine eingesetzte Vollblutmaterial kann nicht vollständig in Ringversuchen abgebildet werden.

Anmerkung

Interessenkonflikte

Der Autoren erklärten, dass sie keine Interessenkonflikte in Zusammenhang mit diesem Artikel haben.

Literatur

1. Quarterman C, Shaw M, Johnson I, Agarwal S. Intra- and inter-centre standardisation of thromboelastography (TEG®). *Anaesthesia*. 2014 Aug;69(8):883-90. DOI: 10.1111/anae.12748
2. Weber CF, Zacharowski K. Perioperative point of care coagulation testing. *Dtsch Arztebl Int*. 2012 May;109(20):369-75. DOI: 10.3238/arztebl.2012.0369
3. Bolliger D, Seeberger MD, Tanaka KA. Principles and practice of thromboelastography in clinical coagulation management and transfusion practice. *Transfus Med Rev*. 2012 Jan;26(1):1-13. DOI: 10.1016/j.tmr.2011.07.005
4. Chitlur M, Sorensen B, Rivard GE, Young G, Ingerslev J, Othman M, Nugent D, Kenet G, Escobar M, Lusher J. Standardization of thromboelastography: a report from the TEG-ROTEM working group. *Haemophilia*. 2011 May;17(3):532-7. DOI: 10.1111/j.1365-2516.2010.02451.x
5. Hawkins R. Managing the pre- and post-analytical phases of the total testing process. *Ann Lab Med*. 2012 Jan;32(1):5-16. DOI: 10.3343/alm.2012.32.1.5
6. Dick A, Schwaiger M, Jámbor C. Evaluation von Ringversuchsproben zur externen Qualitätssicherung viskoelastischer Messungen - Eine Pilotstudie [Thromboelastography/-metry and external quality control. Results of a pilot study]. *Hamostaseologie*. 2010 May;30(2):91-5.
7. DIN ISO 13528:2009-01: Statistische Verfahren für Eignungsprüfungen durch Ringversuche. Berlin: Beuth; 2005.

Korrespondenzadresse:

Thorsten Kragh
Instand e.V., Düsseldorf, Ziemssenstr.1, 80336 München, Deutschland
thorsten.kragh@med.uni-muenchen.de

Bitte zitieren als

Kragh T, Giebl A, Dick A, Kutsch M, Spannagl M. Thrombelastometrie – interne und externe Qualitätssicherung. *GMS Z Forder Qualitatssich Med Lab*. 2016;7:Doc01. DOI: 10.3205/lab000021, URN: urn:nbn:de:0183-lab0000215

Artikel online frei zugänglich unter

<http://www.egms.de/en/journals/lab/2016-7/lab000021.shtml>

Veröffentlicht: 24.03.2016

Copyright

©2016 Kragh et al. Dieser Artikel ist ein Open-Access-Artikel und steht unter den Lizenzbedingungen der Creative Commons Attribution 4.0 License (Namensnennung). Lizenz-Angaben siehe <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.