

Evaluatie van de "point-of-care" TAS-analyser voor de bepaling van hirudine in plasma: vergelijking met een conventionele laboratoriummethode

J.J.M.L. HOFFMANN en W.C.M. JANSSEN

Hirudine is een eiwit, afkomstig uit het speeksel van de bloedzuiger *Hirudo medicinalis*, dat zeer krachtige anti-trombine werking bezit. Hirudine en diverse met recombinanttechnieken geproduceerde varianten van hirudine worden momenteel in klinische studies onderzocht voor toepassing als anti-trombotische middelen bij patiënten met een verhoogd risico op trombose. Net als bij intraveneus heparine moet de dosering van hirudine gecontroleerd worden om de patiënt te beschermen tegen bloedingen ten gevolge van overdosering. In principe kan men hirudine monitoren met een APTT of een andere methode die remming van trombine kan meten. Het heeft echter voordelen, hirudinetherapie te controleren met de ecarinetijd (ECT), want deze stollingstest is gebaseerd op het slangengif ecarine, dat wel door hirudine, maar niet door heparine wordt geremd. De ecarinetijd kan gemeten worden met de TAS-analyser, een eenvoudig te bedienen "point-of-care" apparaat waarmee men in volbloed diverse stollingsbepalingen kan uitvoeren. Het werkt met stollingsdetectie op basis van magnetiseerbare ijzerpartikels (1). Wij vergeleken de ECT op de TAS-analyser met de ECT, die met een conventionele stollingsautomaat werd gemeten (2).

MATERIALEN en METHODEN

De ECT op de TAS-analyser werd uitgevoerd in met citraat onstold volbloed met Thrombin Inhibitor Management (TIM) reagenskaartjes volgens instructies van de leverancier (Cardiovascular Diagnostics Inc.; Raleigh, NC, USA). Het kaartje bevat een mengsel van ecarine, calcium chloride, buffers en magnetiseerbare ijzerpartikels (1). Alle relevante informatie is opgeslagen in een barcode op het kaartje en kan uitgelezen worden door de TAS-analyser. Na verwijdering van een bescherm laag wordt het TIM-kaartje in de TAS-analyser gestoken. De ingebouwde software vraagt eerst om identificatiegegevens van de bediener en de patiënt. Vervolgens wordt een druppel onstold volbloed op het reagensveld van het kaartje gebracht en wordt de stollingsreactie gestart. Wanneer het eindpunt bereikt is, geeft het instrument het resultaat in seconden weer en wordt het kaartje verwij-

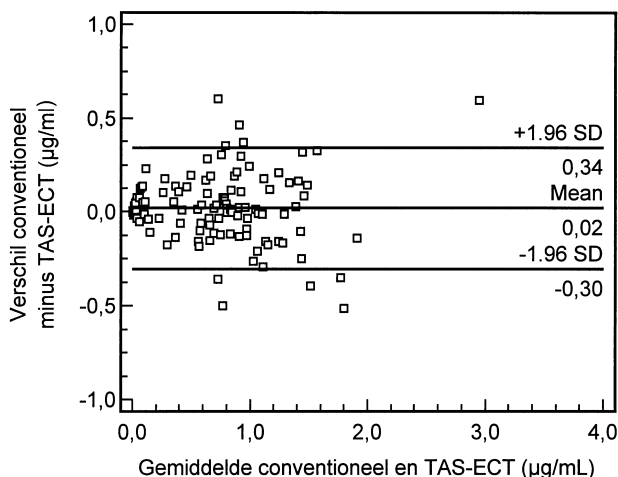
derd. Na een visuele inspectie van het reactieveld wordt het resultaat al of niet geaccepteerd. De gevonden stollingstijd kan vervolgens omgerekend worden, afhankelijk van de specifieke toepassing.

De conventionele ECT werd in plasma gemeten met gezuiverd ecarine (Pentapharm; Basel, CH) volgens de methode van Nowak en Bucha (2) op een STA-stollingsautomaat (Stago; Asnières, F). Voor de calibratie gebruikten wij hetzelfde PEG-hirudine, dat aan de patiënten werd toegediend (LU-87981, geproduceerd door Knoll AG; Ludwigshafen, D). Voor correlatiestudies werden monsters genomen van patiënten met onstabiele angina pectoris die deelnamen aan een klinische studie met dit nieuwe geneesmiddel. Deze studie, inclusief bloedafname voor meting van hirudine, was door de medisch-ethische commissie van het ziekenhuis goedgekeurd.

RESULTATEN en DISCUSSIE

De ECT gemeten in de TAS-analyser met een reeks normale monsters waaraan hirudine was toegevoegd, was evenredig met de concentratie hirudine tussen 0 en 3,0 µg/mL. Het verband tussen ECT en hirudine concentratie was volkomen lineair ($r = 0,9997$).

De intra-assay imprecisie ($n = 10$) van de ECT in bloed zonder hirudine (gemiddeld 50,0 sec, VC 8,2%) was hoger dan in bloed met hirudine (gemiddeld 172,0 sec, VC 4,3%;). Deze laatste werd echter groter na conversie naar hirudineconcentratie (gemiddeld 0,96 µg/ml, VC 6,4%). De overeenkomstige gegevens voor de con-



Figuur 1. Bland & Altman-diagram van de correlatie in hirudineconcentratie tussen de conventionele en de TAS-ecarinetijdmethoden.

Algemeen Klinisch Laboratorium, Catharina Ziekenhuis, Eindhoven

Correspondentie: dr. J.J.M.L. Hoffmann, Alg. Klin. Lab., Catharina Ziekenhuis, Postbus 1350, 5602 ZA Eindhoven.

Poster gepresenteerd op 54ste NVKC-Congres in Lunteren, op 11.04.01.

ventionele ECT waren respectievelijk 2,7% bij 86,7 sec (zonder hirudine) en 0,8% bij 120,6 sec (monster met hirudine). Omgerekend naar hirudineconcentratie bedroeg de VC 3,0% (gemiddeld 0,57 µg/mL).

De inter-assay imprecisie (n=10) van de bepaling op de TAS-analyser in bloed zonder en met hirudine was geheel vergelijkbaar (VC 7,1% en 7,1% bij gemiddeld 50,1 sec respectievelijk 151,3 sec). Ook hier werd de imprecisie groter na omrekenen tot hirudineconcentratie (VC 11,1% bij 0,79 µg/mL). De inter-assay imprecisie van de conventionele ECT was beduidend beter met een VC van respectievelijk 1,8 en 2,4% (ECT in seconden) en 9,2% (gemeten als hirudineconcentratie).

In 144 monsters met hirudineconcentraties tussen 0,0 en 2,65 µg/mL vonden wij een uitstekende correlatie tussen de TAS-ECT en de conventionele ECT (Fig. 1). De correlatiecoëfficiënt bedroeg 0,956 (95% betrouwbaarheidsinterval tussen 0,939 en 0,968).

Een belangrijke factor die de keuze van techniek voor de ECT kan beïnvloeden is de prijs van de reagentia. De kosten van de reagentia voor de conventionele bepaling bedragen minder dan € 0,30, terwijl een TIM-kaartje al snel enkele euro's kost.

Onze bevindingen zijn in goede overeenstemming met resultaten die door anderen zijn gepubliceerd (3-5). Wel dient in ogenschouw genomen te worden, dat de TAS analyser in ons onderzoek in een laboratorium werd bediend door ervaren analisten. De prestaties in een bedside omgeving waar analytisch ongeschoold personeel het apparaat bedient behoeven niet noodzakelijkerwijze gelijk te zijn aan wat wij gevonden hebben.

CONCLUSIE

De precisie van de ECT in de TAS-analyser is minder goed is dan die van de conventionele ECT, maar voor het beschreven doel lijkt de TAS-analyser toch wel acceptabel. Indien het laboratorium in staat is voldoende snelle service te bieden voor het monitoren van hirudinetherapie, verdient de conventionele ECT naar onze mening, ook al om financiële redenen, echter de voorkeur.

Literatuur

1. Oberhardt BJ, Dermott SC, Taylor M, Alkadi ZY, Abruzzini AF, Gresalfi NJ. Dry reagent technology for rapid, convenient measurements of blood coagulation and fibrinolysis. *Clin Chem* 1991; 37: 520-526.
2. Nowak G, Bucha E. Quantitative determination of hirudin in blood and body fluids. *Semin Thromb Hemost* 1996; 22: 197-202.
3. Oberhardt BJ, Mize PD, Pritchard CG. Point-of-care fibrinolytic tests: the other side of blood coagulation. *Clin Chem* 1997; 43: 1697-1702.
4. Mize PD, Rübsamen K. Dry-chemistry ecarin clotting time for ex vivo monitoring of thrombin inhibitors. *Thromb Haemost* 1997; 77 (suppl.): 436 (abstract)
5. Oster A, Hansen R, Grauhan O, Hausmann H, Bauer M, Hetzer R, Kuppe H, Mertzluft F. Hirudin monitoring using the TAS ecarin clotting time in patients with heparin-induced thrombocytopenia type II. *J Cardiothor Vasc Anesth* 2000; 14: 2