

Evaluatie van analytische variatie en het effect van buizenpost transport op ROTEM® analyses

D.M. ROTTEVEEL-de GROOT¹, T. FRENZEL², J. NOORLAND¹, J. KULK¹, A.H. LOOF¹, E.C.M. van PAMPUS¹, M. van ZWAM¹, en J.D. OOSTING¹

Met behulp van rotatie tromboelastometrie (ROTEM®) kan bij patiënten met acute bloeding snel een indruk van de stollingstoestand verkregen worden. Voor een snelle analyse is transport van het bloedmonster met een buizenpost transport systeem naar het centrale laboratorium in ons ziekenhuis cruciaal. In deze studie is de analytische variatie van de ROTEM® parameters INTEM, EXTEM, FIBTEM en HEPTEM bepaald, en zijn mogelijke effecten van buizenpost transport op ROTEM® parameters van bloedmonsters van cardiothoracale chirurgie (CTC) patiënten van de afdeling Intensive Care (IC) geanalyseerd. Uit de resultaten blijkt dat de binnen-run en tussen-run analytische variatie van de ROTEM® parameters die onderdeel uitmaken van het klinisch behandelprotocol (EXTEM CT, EXTEM A10 en FIBTEM A10) minder dan 5% was met uitzondering van de EXTEM CT (maximaal 8%). Na buizenpost transport hebben deze parameters een bias van minder dan 5%. Concluderend, het buizenpost systeem in ons ziekenhuis kan gebruikt worden voor het versturen van bloedmonsters van de afdeling IC ten behoeve van ROTEM® analyses op het centrale klinisch chemisch laboratorium. Dit biedt de toekomstige mogelijkheid voor verschillende afdelingen binnen ons ziekenhuis om ROTEM® analyses in te zetten bij de behandeling van acuut bloedverlies. Vervolgonderzoek moet uitwijzen of zo'n nieuw behandelprotocol winst oplevert.

Rotatie tromboelastometrie (ROTEM®) is een techniek waarmee snel een indruk van de hemostatische capaciteit in volbloed van patiënten verkregen kan worden. De techniek is gebaseerd op meting van de visco-elasticiteit van het monster vanaf het begin van stolselvorming tot en met fibrinolyse. Afhankelijk van de gebruikte activator (tissue factor in EXTEM en contact activator in INTEM) en remmers van respectievelijk bloedplaatjes (FIBTEM), fibrinolyse (APTEM) of heparine (HEPTEM) zijn er verschillende testen mogelijk met de ROTEM® (1).

Vanwege de relatieve snelheid waarmee ROTEM® een inzicht kan geven in de stollingstoestand van een

patiënt, vindt het apparaat met name zijn toepassing bij de behandeling van (acute) bloedingen, zoals kan voorkomen tijdens en na cardiothoracale chirurgie (CTC), trauma of post partum fluxus (2-4). Recente literatuur laat ondermeer zien dat behandeling van bloeding bij CTC patiënten volgens een protocol waarin ROTEM® analyses zijn opgenomen leidt tot een daling van het aantal toegediende bloedproducten bij deze patiënten (5-7). Dit is klinisch relevant omdat onnodige bloedtransfusies bij CTC patiënten een onafhankelijke risico factor vormen voor verhoogde morbiditeit en mortaliteit (8-10).

Snelheid van bepalen is essentieel voor een optimaal gebruik van ROTEM® bij de behandeling van acuut bloedverlies. ROTEM® metingen kunnen point-of-care (POCT) worden uitgevoerd of in het centrale klinisch laboratorium waarbij er met behulp van specifieke vierer software op de afdeling door de aanvrager live kan worden meegekeken met de metingen (11-13). Centrale uitvoering van ROTEM® metingen heeft in een academisch ziekenhuis met veel verschillende medewerkers als voordelen dat er betere kwaliteitsbewaking van de analyses kan plaatsvinden, een grotere nauwkeurigheid in uitslagen verkregen wordt doordat de metingen worden uitgevoerd door een relatief kleine groep goed getrainde analisten, en dat meerdere afdelingen van het ziekenhuis bediend kunnen worden met minder analysers. Bij uitvoering van ROTEM® analyses in het centrale laboratorium is een voorwaarde dat monsters snel naar het laboratorium vervoerd kunnen worden zoals met behulp van een buizenpost transport systeem.

Transport via buizenpost systemen is een pre-analytische factor die mogelijk effect kan hebben op laboratoriumuitslagen (14-17). Met betrekking tot ROTEM® suggereren eerdere studies dat buizenpost transport over het algemeen geen of klinisch niet relevant geachte effecten lijkt te hebben op ROTEM® parameter uitslagen (12, 13, 18-20). Verschillende buizenpost systemen zijn echter niet zondermeer met elkaar vergelijkbaar. Er kunnen aanzienlijke verschillen bestaan in uitgeoefende krachten op bloedmonsters tijdens transport door verschillende systemen, door ondermeer variaties in afstand, maximum snelheid en aantal overzetstations. Daarom wordt aangeraden dat ieder ziekenhuis de effecten van zijn eigen buizenpost systeem evalueert (13).

In deze studie hebben wij in de eerste plaats de analytische variatie van de ROTEM® parameters INTEM, EXTEM, FIBTEM en HEPTEM in het centrale laboratorium bepaald. Daarnaast hebben we mogelijke

Radboudumc, afdeling Laboratoriumgeneeskunde¹ en afdeling Intensive Care², Nijmegen

Correspondentie: D.M. Rotteveel-de Groot, Radboudumc, Afdeling Laboratoriumgeneeskunde, onderdeel LKC, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen (huispost 441)
E-mail: Dorien.Rotteveel-deGroot@radboudumc.nl

effecten van transport via ons buizenpost systeem op ROTEM® uitslagen geanalyseerd.

Materiaal en methoden

Van 20 patiënten die CTC hebben ondergaan zijn na aankomst op de afdeling Intensive Care (IC) twee 3,8% citraatbuizen (BD Vacutainer®, Plymouth, Engeland) afgenomen. Eén bloedbuis is direct met de buizenpost naar het laboratorium verstuurd. Het tweede monster is via lopend transport naar het laboratorium gebracht. In het laboratorium zijn beide monsters gemeten met het ROTEM® apparaat (Tem International GmbH, München, Duitsland), waarbij de INTEM, EXTEM, FIBTEM en HEPTEM bepalingen zijn uitgevoerd (allen single shot reagentia). Er is minimaal 30 minuten gemeten, waarbij de CT, CFT, A5, A10 en alfa hoek parameters zijn gebruikt voor de vergelijking.

Voor een schatting van de binnen-run analytische variatie werden er van 10 additionele patiënten monsters in totaal 30 (EXTEM) en 23 (INTEM) duplo metingen verricht. Voor een schatting van de tussen-run analytische variatie van de EXTEM en INTEM parameters zijn 39 ROTROL N en 33 ROTROL P controle (Tem International GmbH, München, Duitsland) metingen gebruikt, die tijdens en na deze validatie eenmaal per week werden gemeten. Deze metingen zijn uitgevoerd met 2 (ROTROL P) of 4 (ROTROL N) verschillende lotnummers.

Buizenpost systeem

Het buizenpost systeem dat in ons ziekenhuis gebruikt wordt betreft een 110 mm systeem van Swisslog Ergotrans BV (Apeldoorn, Nederland). De transport snelheid bedraagt 3,5 tot 4 m/s. De totale afstand van de buizenpost van de afdeling IC naar het centrale laboratorium bedraagt circa 700 meter. Binnen dit traject bevinden zich twee overzetcentrales.

Interpretatie

De binnen-run analytische variatie van de EXTEM en INTEM parameters is berekend met behulp van Excel door van alle duplo metingen die zijn uitgevoerd tijdens het validatie experiment de variatiecoëfficiënt

te bepalen. De tussen-run analytische variatie van de EXTEM en INTEM parameters is berekend door de gemiddelde variatiecoëfficiënt te bepalen van alle ROTROL N en ROTROL P controle metingen die tijdens en na deze evaluatie studie wekelijks zijn uitgevoerd.

De resultaten van de vergelijking tussen lopend en buizenpost transport zijn geanalyseerd met behulp van EP Evaluator™ software (David G. Rhoads Associates Inc. Consultants; release 9) met het 'alternate method comparison protocol' en Graphpad Prism software. De gepaarde t-test of Wilcoxon signed rank test zijn gebruikt voor statistische analyse, waarbij een p-waarde van < 0,05 en een bias > 10% zijn beschouwd als significant afwijkend.

Resultaten

Analytische variatie

Met het ROTEM® apparaat in het centrale laboratorium zijn metingen verricht om een indruk te krijgen van de binnen-run en tussen-run analytische variatie van de apparatuur. De resultaten zijn weergegeven in tabel 1 (binnen-run analytische variatie) en tabel 2 (tussen-run analytische variatie). De binnen-run en tussen-run analytische variatie bedraagt <5% voor vrijwel alle parameters, met uitzondering van de EXTEM CT (respectievelijk 8% en 7%), en EXTEM en INTEM CFT (respectievelijk 5% en 6%, en 20% en 17%).

Vergelijking lopend en buizenpost transport

Voor een vergelijking van ROTEM® parameters in monsters die via lopend of buizenpost transport naar het centraal laboratorium werden gestuurd, werd in totaal bij 30 patiënten twee buizen bloed afgenomen. Eén bus werd direct via het buizenpost systeem naar het laboratorium gestuurd, terwijl de tweede bus lopend naar het laboratorium werd gebracht. Beide monsters zijn vervolgens in het centrale laboratorium gebruikt voor INTEM, EXTEM, FIBTEM en HEPTEM bepalingen.

Een vergelijking van de resultaten na buizenpost of lopend transport is weergegeven in tabel 3. Hieruit blijkt

Tabel 1. Gemeten en door fabrikant gerapporteerde maximaal toelaatbare within-run precisie van EXTEM en INTEM parameters (%CV). n.s. = niet gespecificeerd.

	EXTEM Waardes opgegeven door fabrikant (TEM)		INTEM Waardes opgegeven door fabrikant (TEM)	
A5 (mm)	2,7	n.s.	2,3	n.s.
A10 (mm)	1,6	n.s. (A20 <5)	1,9	n.s. (A20 <5)
CT (s)	8,3	<10	3,3	<10
CFT (s)	5,0	<20	6,0	<20
α (°)	2,5	<5	3,4	<5

Tabel 2. Gemeten en door fabrikant gerapporteerde maximaal toelaatbare tussen-run precisie van EXTEM en INTEM parameters (%CV). n.s. = niet gespecificeerd.

	EXTEM Waardes opgegeven door fabrikant (TEM)		INTEM Waardes opgegeven door fabrikant (TEM)	
A5 (mm)	4,5	n.s.	4,6	n.s.
A10 (mm)	4,6	n.s. (A20 <5)	4,2	n.s. (A20 <5)
CT (s)	6,9	<15	4,9	<15
CFT (s)	20,4	n.s.	17,0	n.s.
α (°)	1,0	<5	1,9	<5

dat na buizenpost transport de A5, A10 en alfa hoek parameters van de EXTEM, INTEM en HEPTEM assays licht verhoogd zijn, met een maximale bias van 7%. De CFT parameter van de EXTEM en INTEM assays is verlaagd met een maximale bias tot 11%. Er worden geen significante verschillen gemeten tussen lopend en buizenpost transport voor de FIBTEM assay parameters.

Discussie

Deze evaluatie is uitgevoerd om te onderzoeken of er mogelijk effect is van buizenpost transport in ons ziekenhuis op de uitslag van ROTEM® analyses uitgevoerd in het centraal klinisch chemisch laboratorium. In de eerste plaats is de analytische performance van het ROTEM® apparaat in het laboratorium gecontroleerd. De binnen-run en tussen-run analytische variatie was <5% met uitzondering van de EXTEM CT (maximaal 8%) en EXTEM en INTEM CFT

Tabel 3. Vergelijking van ROTEM® parameters gemeten in het laboratorium na lopend transport of buizenpost transport (n=20). Voor de vergelijking van de EXTEM CT parameter zijn 30 patiëntenmonsters met elkaar vergeleken. De gemeten resultaten zijn weergegeven als het gemiddelde ± SD. De p-waarde is berekend met behulp van de gepaarde t-test of Wilcoxon signed rank test.

ROTEM® parameter	Lopend	Buizenpost	p-waarde	Bias (%)
EXTEM				
A5 (mm)	34 ± 4,7	35 ± 4,5	< 0,001	4,1
A10 (mm)	46 ± 5,3	47 ± 4,9	0,002	3,5
CT (s)	73 ± 11,7	76 ± 9,3	0,013	4,7
CFT (s)	158 ± 29,3	149 ± 25,7	0,008	-5,3
α (°)	61 ± 5,5	62 ± 4,5	0,046	1,8
FIBTEM				
A5 (mm)	6,8 ± 2,2	6,9 ± 1,9	0,841	1,4
A10 (mm)	7,5 ± 2,5	7,8 ± 2,1	0,367	4,0
MCF (mm)	8,4 ± 2,6	8,6 ± 2,2	0,361	2,4
INTEM				
A5 (mm)	35 ± 4,3	37 ± 4,9	< 0,001	7,1
A10 (mm)	45 ± 4,7	48 ± 5,1	< 0,001	5,3
CT (s)	199 ± 19,6	200 ± 17,2	0,854	0,3
CFT (s)	134 ± 23,4	119 ± 22,9	< 0,001	-11
α (°)	64 ± 3,5	67 ± 3,7	< 0,001	3,6
HEPTEM				
A5 (mm)	34 ± 4,5	36 ± 4,9	0,002	6,2
A10 (mm)	44 ± 5,2	46 ± 5,2	0,003	4,5
CT (s)	201 ± 24,1	202 ± 23,9	0,898	0,2
CFT (s)	134 ± 24,3	125 ± 28,3	0,063	-6,9
α (°)	65 ± 3,6	66 ± 4,4	0,032	2,3

(respectievelijk maximaal 20% en 17%), en komt overeen met de specificaties zoals opgegeven door de fabrikant en eerder gepubliceerde resultaten (21). De gevonden variatie in EXTEM en INTEM CFT uitslagen is relatief hoog, maar deze parameters maken geen onderdeel uit van het protocol dat in onze kliniek wordt gebruikt.

De resultaten van de vergelijking tussen lopend of buizenpost transport zijn in overeenstemming met eerdere studies die laten zien dat buizenpost transport leidt tot geen of klinisch niet relevant geachte verschillen in ROTEM® parameter uitslagen (12, 13, 18-20). Wat bij deze vergelijking wel opvalt is dat de kleine significante verschillen die gevonden worden in de verschillende studies niet altijd dezelfde parameters betreffen. Onze resultaten laten zien dat met name de A5, A10 en alfa hoek parameters van de EXTEM, INTEM en HEPTEM assays licht verhoogd zijn, terwijl de CFT parameter van de EXTEM en INTEM assays verlaagd is. Deze resultaten impliceren dat er door buizenpost transport een lichte activering van stolling optreedt, waardoor na inzetten van de ROTEM® assays de stolselvorming sneller optreedt. Een alternatieve verklaring voor de gevonden verschillen zou kunnen liggen in het feit dat in deze studie de buizenpost en lopend transport monsters om logistieke redenen niet gelijktijdig zijn gemeten met het ROTEM® apparaat. De buizenpost monsters zijn in principe als eerste gemeten (gemiddeld 15 minuten na bloedafname), gevolgd door de monsters die lopend naar het laboratorium zijn gebracht (gemiddeld 100 minuten na bloedafname). Echter, een stabiliteits-experiment (resultaten niet getoond) en gegevens uit de literatuur laten zien dat ROTEM® parameters stabiel gemeten kunnen worden tot minstens 2 uur na bloedafname (22).

Op basis van literatuur (23-25) is er in samenwerking met cardioanesthesisten, intensivisten, transfusiespecialisten en klinisch chemici, een protocol opgesteld voor de behandeling van acute bloeding bij CTC patiënten. In dit protocol zijn voornamelijk de ROTEM® parameters EXTEM CT, FIBTEM A10 en EXTEM A10 opgenomen. In deze buizenpost evaluatie is de gemeten bias van de EXTEM CT, EXTEM A10 en FIBTEM A10 parameters minder dan 5%, en wordt als klinisch niet relevant beschouwd. Toekomstig onderzoek zal moeten uitwijzen wat de effecten zijn van het gebruik van dit protocol op de behandeling van bloedingen bij CTC patiënten.

Concluderend, het buizenpost systeem in ons ziekenhuis kan gebruikt worden voor het versturen van bloedmonsters ten behoeve van ROTEM® analyses in het centrale klinisch chemisch laboratorium. Dit biedt in de toekomst de mogelijkheid voor verschillende afdelingen binnen ons ziekenhuis, zoals Intensive Care, Gynaecologie, OK en de Spoedeisende hulp om ROTEM® analyses in te zetten bij de behandeling van patiënten met groot bloedverlies. Vervolgonderzoek moet uitwijzen of een nieuw behandelprotocol met ROTEM® analyses winst oplevert.

Referenties

1. Whiting D, DiNardo JA. TEG and ROTEM: technology and clinical applications. *Am J Hematol.* 2014; 89: 228-232.
2. Theusinger OM, Spahn DR, Ganter MT. Transfusion in trauma: why and how should we change our current practice? *Curr Opin Anaesthesiol.* 2009; 22: 305-312.
3. Spahn DR, et al. Management of bleeding and coagulopathy following major trauma: an updated European guideline. *Crit Care.* 2013; 17: R76.
4. de Lange NM, et al. Peri-partum reference ranges for ROTEM(R) thromboelastometry. *Br J Anaesth.* 2014; 112: 852-859.
5. Gorlinger K, et al. First-line therapy with coagulation factor concentrates combined with point-of-care coagulation testing is associated with decreased allogeneic blood transfusion in cardiovascular surgery: a retrospective, single-center cohort study. *Anesthesiology.* 2011; 115: 1179-1191.
6. Gorlinger K, et al. Reduction of fresh frozen plasma requirements by perioperative point-of-care coagulation management with early calculated goal-directed therapy. *Transfus Med Hemother.* 2012; 39: 104-113.
7. Weber CF, et al. Point-of-care testing: a prospective, randomized clinical trial of efficacy in coagulopathic cardiac surgery patients. *Anesthesiology.* 2012; 117: 531-547.
8. van Straten AH, et al. Transfusion of red blood cells: the impact on short-term and long-term survival after coronary artery bypass grafting, a ten-year follow-up. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2010; 10: 37-42.
9. Kuduvali M, et al. Effect of peri-operative red blood cell transfusion on 30-day and 1-year mortality following coronary artery bypass surgery. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2005; 27: 592-598.
10. Kilic A, Whitman GJ. Blood transfusions in cardiac surgery: indications, risks, and conservation strategies. *Ann Thorac Surg.* 2014; 97: 726-734.
11. Haas T, et al. Reproducibility of thromboelastometry (ROTEM(R)): point-of-care versus hospital laboratory performance. *Scand J Clin Lab Invest.* 2012; 72: 313-317.
12. Martin J, et al. Alterations in rotation thromboelastometry (ROTEM(R)) parameters: point-of-care testing vs analysis after pneumatic tube system transport. *Br J Anaesth.* 2012; 109: 540-545.
13. Colucci G, et al. Laboratory-based ROTEM((R)) analysis: implementing pneumatic tube transport and real-time graphic transmission. *Int J Lab Hematol.* 2011; 33: 441-446.
14. Sodi R, Darn SM, Stott A. Pneumatic tube system induced haemolysis: assessing sample type susceptibility to haemolysis. *Ann Clin Biochem.* 2004; 41(Pt 3): 237-240.
15. Collinson PO, et al. Changes in blood gas samples produced by a pneumatic tube system. *J Clin Pathol.* 2002; 55: 105-107.
16. Bolliger D, et al. Pre-analytical effects of pneumatic tube transport on impedance platelet aggregometry. *Platelets.* 2009; 20: 458-465.
17. Wallin O, et al. Preanalytical effects of pneumatic tube transport on routine haematology, coagulation parameters, platelet function and global coagulation. *Clin Chem Lab Med.* 2008; 46: 1443-1449.
18. Amann G, et al. Effect of acceleration forces during transport through a pneumatic tube system on ROTEM(R) analysis. *Clin Chem Lab Med.* 2012; 50: 1335-1342.
19. Lance MD, et al. The effects of pneumatic tube system transport on ROTEM analysis and contact activation assessed by thrombin generation test. *Thromb Res.* 2012; 13: e147-150.
20. Glas M, et al. Sample transport by pneumatic tube system alters results of multiple electrode aggregometry but not rotational thromboelastometry. *Platelets.* 2013; 24: 454-461.
21. Henskens, Y.M., Implementatie van de tromboelastografie (ROTEM) in het MUMC: (On)mogelijkheden van laboratoriumtesten bij bloedverlies en verworven hemostase afwijkingen. *Tijdschrift voor bloedtransfusie.* 2012; 5.
22. Theusinger OM, et al. Rotation thromboelastometry (ROTEM) stability and reproducibility over time. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2010; 37: 677-683.
23. Lier H, et al. Thromboelastometry guided therapy of severe bleeding. Essener Runde algorithm. *Hamostaseologie.* 2013; 33: 51-61.
24. Bolliger D, Seeberger MD, Tanaka KA. Principles and practice of thromboelastography in clinical coagulation management and transfusion practice. *Transfus Med Rev.* 2012; 26: 1-13.
25. Schochl H, et al. Early and individualized goal-directed therapy for trauma-induced coagulopathy. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med.* 2012; 20: 15.

Summary

Rotteveel-de Groot DM, Frenzel T, Noorland J, Kulk J, Loof AH, van Pampus ECM, van Zwam M, Oosting JD. Evaluation of effects of pneumatic tube transport on ROTEM® analyses. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2015; 40: 201-204.

Rotational thromboelastometry (ROTEM®) can be used for monitoring of the blood coagulation status of patients in emergency situations. For a rapid analysis the blood samples can be transported to the central laboratory in our hospital via a pneumatic tube system. This study has been performed to determine the analytical variation of the ROTEM® parameters INTEM, EXTEM, FIBTEM and HEPTTEM, and to evaluate possible effects of pneumatic tube transport on ROTEM® parameters in blood samples of cardiothoracic surgery patients of the Intensive Care Unit. Our results show that the ROTEM parameters used in a newly defined ROTEM based protocol for hemostatic therapy (EXTEM CT, EXTEM A10 and FIBTEM A10) have a within-run and between-run analytical variation of less than 5% with the exception of EXTEM CT (maximum of 8%), which is in accordance with the manufacturer's specifications. Following pneumatic tube transport, these parameters have a bias of less than 5%. In conclusion, the pneumatic tube system in our hospital can be used to transport blood samples to the central laboratory for ROTEM® analyses. In the future, this provides the possibility for various other departments in our hospital to include ROTEM® analyses in their treatment protocols. Future studies will have to elucidate whether such treatment protocol will be beneficial.