Prinzipien der ACT-Messung

Holger Zorn, freier Fachjournalist, Halle (Saale)

Liebe Leserinnen und Leser,

in der Rubrik Fortbildung stellen wir Ihnen ausgewählte Funktions- oder Messprinzipien von Medizinprodukten aus der Herzchirurgie vor. Für die Vermittlung dieser technischen Basics wenden wir uns an Entwickler und Herstellerfirmen, um Ihnen die Kenntnisse aus erster Hand zu liefern.

Der Redaktion ist es ein großes Anliegen, die Rubrik weiterhin neutral und weitestgehend werbefrei zu gestalten. Aus diesem Grund dürfen Sie erwarten, dass wir Ihnen über den gesamten Zeitraum ein abwechslungsreiches Autorenspektrum bieten und zu den jeweiligen Beiträgen auch Produkte anderer Anbieter erwähnen. Gerne nimmt die Redaktion der KARDIOTECHNIK auch Anregungen und Vorschläge für Beiträge dieser Rubrik entgegen.

Die Redaktion

Unfraktioniertes Heparin ist, von Ausnahmen abgesehen, essenziell für eine erfolgreiche extrakorporale Zirkulation. Ebenso essenziell ist die engmaschige Kontrolle der gerinnungshemmenden Wirkung. Dieser Beitrag führt heute gebräuchliche Geräte zur ACT-Messung auf ihren Ursprung zurück und beschreibt die angewandten Technologien.

Heparin

1880 veröffentlichte Schmidt-Mülheim seine Leipziger Forschungen „Über Peptone und ihre physiologischen Funktionen“. Er hatte eine Methode zur quantitativen Bestimmung des Peptons – eines Gemischs aus Peptiden und Aminosäuren – in Blut, Harn und Lymphe entwickelt und dabei erkannt, dass Hundeblut nach der Injektion von 0,3–0,4 g Peptonlösung pro kg Körpergewicht ungerinnbar wurde. Schmidt-Mülheim wechselte an die Tierärztliche Hochschule nach Hannover, konnte dort seine Leipziger Arbeiten nicht fortsetzen, und so kam es, dass Heparin von McLean 1916 in Baltimore (wieder-)entdeckt wurde und von Howell und Holt 1918 seinen Namen bekam. Die Hynson, Westscott and Dunning Company brachte 1922 am gleichen Ort ein erstes Handelspräparat für tierexperimentelle Zwecke auf den Markt, und 1935 schließlich stellte Jorpes in Stockholm Heparin in hinreichender Reinheit her, so dass Craaford sich entschloss, das neue Medikament systematisch klinisch einzusetzen – zur postoperativen Thromboseprophylaxe.

Die Kaolin Clotting Time

Ebenso alt wie die ersten Anwendungen von Heparin sind auch die Versuche, dessen Wirkung in vitro zu bestimmen: 1936 beschrieb Wilander ein in der Gruppe um Jorpes entwickeltes „Gerät zur Bestimmung der Gerinnungszeit des Blutes“, ehe dann Margolis in Oxford 1957 Glaspartikel als Aktivator der Blutgerinnung nutzte und 1958 die Kaolin-Gerinnungszeit als „schnelle Ein-Schritt-Methode zur Bestimmung von Gerinnungsdefekten“ vorstellte: Zwei Röhrchen aus Glas von 2½ Zoll Länge und 3/8 Zoll Durchmesser werden befüllt mit 0,05 ml Kochsalzlösung, 0,1 ml Blutplasma und 0,05 ml Kaolin-Lösung, hergestellt aus 200 mg Kaolin in 5 ml Kochsalzlösung. „Die Röhrchen werden unter gelegentlichem Schütteln für 2 Minuten auf 37 °C inkubiert, das Gemisch anschließend mit 0,1 ml $CaCl_2$-Thrombozyten-Reagenz rekalzifiziert. Die Proben werden in Intervallen geschüttelt und auf Gerinnung inspiziert. Der Endpunkt ist scharf und wird durch das Ausflocken von Kaolin 2–5 Sekunden vor der Bildung eines festen Gerinnsels angekündigt …“ Es bedurfte weiterer Anstrengungen, die Methode wirklich schnell zu machen.

Die Activated Coagulation Time (ACT)

Hattersley entwickelte 1966 in Sacramento einen einfacheren Weg: Eine Vene wird gestaut und punktiert, 1 ml Blut in ein evakuiertes Röhrchen abgezogen und verworfen. Ein zweites Röhrchen, vorgewärmt und gefüllt mit 12 mg Kieselgur, wird angesetzt und, während es sich mit 2 ml Blut füllt, eine Stoppuhr gestartet. Das Röhrchen wird über einem Heizblock bei 37 °C so lange gehalten und dabei während der ersten Minute alle fünf Sekunden mit dem Finger angeschnippt, bis das Blut sichtbar gerinnt.

Die Methode wird später verfeinert, das Röhrchen zum Beispiel über eine 40-Watt-Lampe gehalten, dabei während der ersten 30 Sekunden einmal pro Sekunde in der

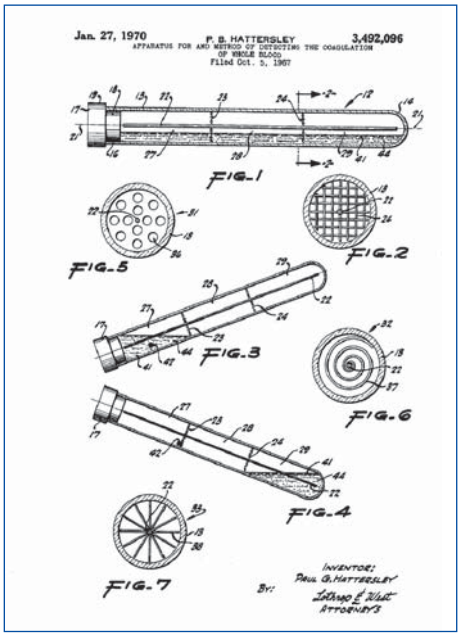

Abb. 1: Die Ur-ACT von Paul G. Hattersley. Quelle: US-Patent No. 3.492.096 vom 27. Januar 1970

Längsachse gekippt und anschließend so lange leicht geschüttelt, bis ein Gerinnsel mit bloßem Auge zu erkennen ist. Beide beschriebenen Verfahren kombinieren mechanische Methoden (Schnipsen, Schütteln, Kippen) mit chemischen Reaktionen, hervorgerufen durch Kaolin oder Kieselgur als Aktivatoren der plasmatischen Gerinnung. Die vollständige Aktivierung wird durch Bildung extensiver oder lokalisierter Gerinnsel angezeigt, wenn aktiviertes Thrombin Fibrinogen in Fibrin umwandelt. Diese Gerinnsel werden durch Sichtprüfung nachgewiesen. Beide Verfahren sind manuelle Verfahren und bedürfen, sollen sie breiten Einsatz finden, dringend der Automatisierung.

Hemochron

Dies gelingt, in einem ersten Schritt, 1972: Die International Technidyne Corp. in Edison meldet Hemochron als Gerät zur zeitlichen Bestimmung der Blutgerinnung zum Patent an. Das gefüllte Röhrchen wird jetzt in einen Schacht eingeführt, dort inkubiert und gleichmäßig gedreht. Außer Blut und Aktivator enthält es noch einen kleinen Stabmagneten. Im Gerät erzeugt eine Spule ein Magnetfeld, das diesen Magneten so lange festhält, bis ein sich bildendes, merkliches Gerinnsel den Magneten anhebt. Die bis hierhin verstrichene Zeit wird dann korrekt erkannt, wenn das Röhrchen

vorgewärmt und mit seinem Einführen der Startknopf gedrückt wurde.

Die Geräte der Hemochron-Serie verhelfen der ACT, die inzwischen häufig „Activated Clotting Time“ genannt wird, zum breiten Durchbruch in der Kardiochirurgie und später, mit Glaspartikeln als Aktivator im Röhrchen, auch in der Intensivmedizin und bei der Dialyse. Verschiedene Aktivatoren werden – einzeln oder kombiniert – erprobt und wieder verworfen, Nachahmerprodukte auf den Markt gebracht, die daran schon im Produktnamen zu erkennen sind.

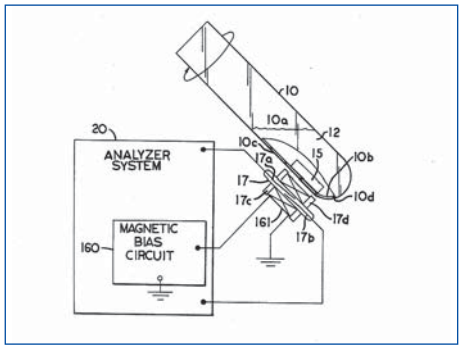

Abb. 2: Das Hemochron von ITC, Edison, NJ. Quelle: US-Patent No. 3.836.333 vom 17. September 1974

ACTimer

Der ACTimer von Quest Medical, der in der Dialyse einige Verbreitung gefunden hat, nutzt ebenfalls Kieselgur als Aktivator, verzichtet aber auf den Stabmagneten und misst stattdessen mit einem Fototransistor die Abschwächung des von einer LED emittierten Lichtes durch die allmählich gerinnende Blutprobe, während das Röhrchen in einem außerhalb des Gerätes angebrachten, rotierenden Heizschacht auf und ab bewegt wird.

Hepcon

Ein anderes Gerät, 1982 von der Hemotec Inc. in den USA zum Patent angemeldet, findet hingegen weite Verbreitung: das Hepcon, heute im Portfolio von Medtronic. Das Gerät nutzt ebenfalls die inzwischen hinreichend bekannten Aktivatoren Kieselgur (Celite) oder Kaolin, basiert dabei aber nicht auf der Ur-ACT von Hattersley oder der Kaolin-CT von Margolis, es wurzelt tiefer und findet seinen Ursprung in der Häkelmethode von Lee und White aus dem Jahr 1913, wo Blut in eine Uhrglasschale gegeben und eine Häkelnadel so lange hineingetaucht und wieder herausgezogen wurde, bis ein Fibrinfädchen gezogen werden konnte. Im Hepcon wird Blut in ein offenes Doppelprobengefäß eingefüllt und durch Anschnippen desselben mit dem Aktivator vermischt. Zwei dünne Stempel werden von einem Mechanismus periodisch in die zu untersuchende Blutprobe getaucht. Ist das sich bildende Gerinnsel zäh genug, den Stempel festzuhalten, wird er aus dem Mechanismus ausgeklinkt und die bis dahin verstrichene Zeit angezeigt. Die Ausführung als Tandemgefäß orientiert sich an den Standards der etablierten Laboratoriumsmedizin (Doppelmessung und Mittelwertbildung).

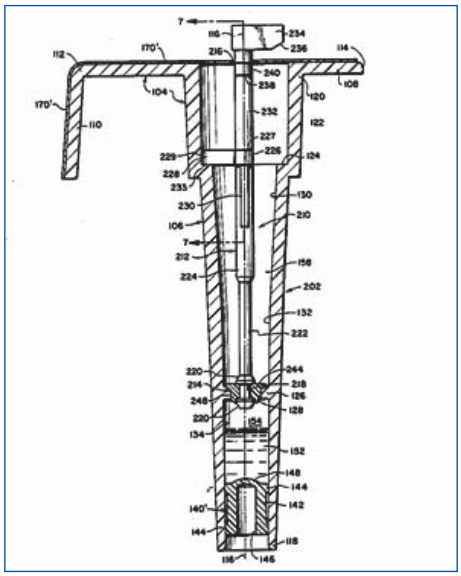

Abb. 3: Die Hepcon-Cartridge von Hemotec, Englewood, CO. Quelle: US-Patent No. 4.599.219 vom 8. Juli 1986

i-Stat

Der i-STAT Analyzer von Abbott wurde ursprünglich zur Messung von Blutgasen und -elektrolyten entwickelt und später um Gerinnungstests und kardiale Marker erweitert. Die ACT-Kartuschen sind neben den bekannten Aktivatoren mit einem elektrogenen Substrat „H-D-Phenylalanyl-Pipecolyl-Arginin-p-Amino-p-Methoxydiphenylamin“ befüllt. Dieses simuliert die von Thrombin gespaltene Amidbindung in Fibrinogen und liefert hierbei eine elektrisch aktive Verbindung, die amperometrisch erkannt und als Gerinnungszeit ausgegeben wird. Der ACTc-Test, der Kieselgur verwendet, wurde in seiner Korrelation auf vorgewärmte Röhrchen FTCA510 optimiert – die Celite-Röhrchen der ursprünglichen Hemochron-Serie.

Hemochron Jr. und Signature

Ebenfalls damit korrelieren die Kartuschen, welche von ITC seit den 1990er Jahren angeboten werden und nach dem Willen der Firma die Röhrchengeräte komplett verdrängen sollen. Diese Kartuschen arbeiten wieder rein mechanisch: Blut wird in einen Messkanal gesaugt, auf dessen Boden ein Aktivator aufgebracht ist, mit dem es sich vermischt und dann so lange über eine Verengung im Kanal hin und her bewegt wird, bis ein Gerinnsel diesen Weg verschließt und die inzwischen vergangene Zeit zur Anzeige gebracht wird. Die Geräte sind höher automatisiert, das Verfahren besser standardisiert. Die Ergebnisse sind vergleichbar, aber nicht gleich denen der ursprünglichen ACT: Schon das erste Fibrinfädchen verschließt den engen Messkanal und führt zur Anzeige der ACT, während bei den Röhrchen sehr viel mehr Fibrinogen in Fibrin umgewandelt werden musste, um den Magneten aus dem Bereich der Spule zu heben – was zu der kuriosen Situation führt, das 410 „neue“ Sekunden in etwa 480 „alten“ Sekunden entsprechen und jeder Leser klinischer Studien etwaige ACT-Werte getrost ignorieren kann, wenn nicht auch das benutzte Gerät, das verwendete Verfahren angegeben wurde.

Kontakt: kontakt@12silben.de

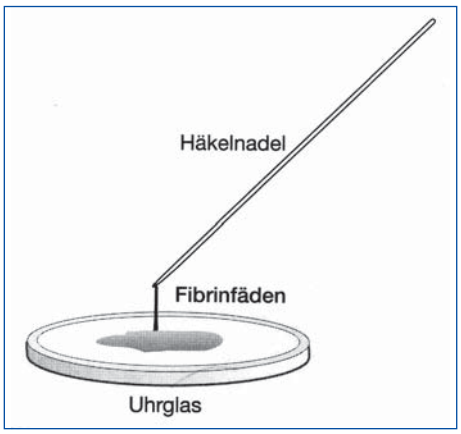

Abb. 4: Die Methode von Roger I. Lee und Paul D. White. Quelle: Fresenius AG, Dok.-Nr. 7306541/1D

LITERATUR
beim Verfasser

Weitere Anbieter von ACT-Geräten wie Helena Laboratories, Beaumont, TX, nutzen ebenfalls mechanische und magnetische Funktionsprinzipien in Kombination mit Aktivatoren der plasmatischen Gerinnung. Andere Methoden zur Kontrolle der systemischen Heparinisierung waren nicht Gegenstand dieses Beitrags. Ein Anspruch auf vollständige Nennung sämtlicher Anbieter und Funktionsprinzipien ist nicht gegeben!

Die Redaktion