PFA-100®: Globaltest der primären Hämostase?

PFA-100®: Global Test for Primary Haemostasis?

C. M. Schambeck

Zusammenfassung: Der PFA-100® (platelet function analyzer) simuliert die primäre Hämostase. Seine Stärke ist die einfache Bedienbarkeit. Zweifelslos übertrifft der PFA-100® die *in-vivo*-Blutungszeit an Sensitivität und Spezifität. Er könnte als Suchtest für das von Willebrand-Jürgens-Syndrom in Betracht kommen. Die Gabe von DDAVP kann mit Hilfe der Verschlusszeiten überwacht werden. Thrombozytäre Störungen werden weniger sensitiv erkannt. Neuere Studien legten die Nützlichkeit des Geräts zum Monitoring einer Aspirinprophylaxe dar. Da aber der von Willebrand-Faktor in hohem Maße die Verschlusszeit beeinflusst, kann noch nicht entschieden werden, ob der PFA-100® ein geeignetes Mittel darstellt, eine Aspirin-Resistenz zu erfassen. Weiterer Untersuchungen bedarf die Frage, ob der PFA-100® das perioperative Blutungsrisiko voraussagen kann.

Schlüsselwörter: PFA-100®; von Willebrand-Jürgens-Erkrankung; Plättchenstörungen; Aspirinresistenz.

Summary: The PFA-100® (platelet function analyzer) simulates primary haemostasis. Its strength is simplicity in use. Without doubt, PFA-100® surpasses bleeding time in sensitivity and specificity. It could be considered as a screening tool for investigating possible von Willebrand disease. DDAVP administration can be monitored by closure times. Platelet disorders are recorded less sensitively. Recent studies have shown its utility in monitoring aspirin prophylaxis. Since von Willebrand factor strongly influences closure time, it has yet to be confirmed whether PFA-100® reveals aspirin resistance appropriately. Its value to predict perioperative bleeding risk needs further investigation.

Keywords: PFA-100®; von Willebrand disease; platelet disorder; aspirin resistance.

Die Thromboplastinzeit nach Quick und die (aktivierte) partielle Thromboplastinzeit gelten als Globalteste der sekundären Hämostase. Die *in-vivo*-Blutungszeit in ihren verschiedenen Varianten wurde lange Zeit als Globaltest der primären Hämostase postuliert. Doch die *in-vivo*-Blutungszeit war kaum zu standardisieren, oft wenig reproduzierbar. Dem Labor steht nun ein Gerät zur Verfügung, das die Vorgänge der primären Hämostase zu simulieren versucht und eine Alternative zur *in-vivo*-Blutungszeit sein will.

Institut für Klinische Biochemie und Pathobiochemie – Zentrallabor, Universität Würzburg, Deutschland.
Korrespondenz: Dr. med. Christian M. Schambeck, Institut für Klinische Biochemie und Pathobiochemie – Zentrallabor, Universität Würzburg, Josef-Schneider-Str. 2, 97080 Würzburg, Deutschland.
Fax: +49 931 20 13 67 93
E-mail: c.schambeck@medizin.uni-wuerzburg.de

Hintergrund

Das Testprinzip des Plättchenfunktionsanalyzer (PFA-100®) ist so einfach wie überzeugend [1]. *In vivo* haften auf der freigelegten Fläche eines verletzten Blutgefässes, dem Subendothel, Plättchen an. Der von Willebrand-Faktor bildet unter hohen Druck- und Scherkräften eine Brücke von Plättchen zu Subendothel, aber auch von Plättchen zu Plättchen. Vorbeifließende Thrombozyten werden aktiviert und aggregieren. Die Gefäßläsion wird verschlossen. In der Messzelle des PFA-100® ersetzt eine Kollagen-Beschichtung das Subendothel. Inmitten der Membran wurde eine winzige Öffnung (150 µm) angebracht, wodurch hohe Scherkräfte auftreten. Die Membran ist mit Substanzen beschichtet, die für die Aktivierung der Thrombozyten sorgen. Nachdem Citratvollblut des Patienten eingebracht wurde, strömen die Blutplättchen zur Membran, werden dort aktiviert und aggregieren. Der Plättchenpfropf verschließt letztlich die Öffnung (Abb. 1). Gemessen wird die Zeit, bis die Apertur verschlossen ist. Es existieren zwei Cartridges (CEPI und CADP), die sich durch die Art des Aktivators unterscheiden (Collagen-Epinephrin bzw. Collagen-ADP (Adenosin-5-diphosphat)).

Präanalytische Variablen

Essentiell für verwertbare Verschlusszeiten ist bereits die korrekt durchgeführte Blutentnahme: Es sollte kurz nur zum Zwecke der Punktion gestaut werden. Entstaut wird das Blut, (bei Spritzensystemen) sanft aspirierend, entnommen. Das gefüllte Röhrchen, nur mäßig schwenkend, durchmischt. Die Vollblutprobe sollte frühestens nach 30 Minuten, spätestens nach 2 Stunden der Messung zugeführt werden. Bei der Beurteilung der Verschlusszeiten gilt es Stör- und Einflußgrößen

© 2002 Blackwell Verlag, Berlin

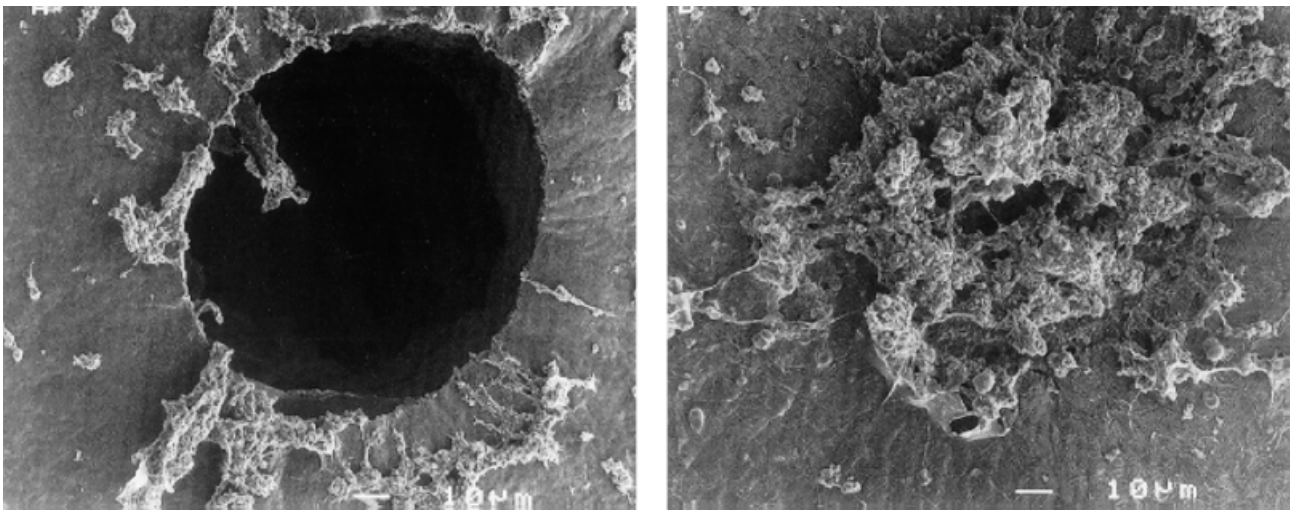

Abbildung 1 Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigen, wie sich zu Beginn des Tests kleine Plättchenthrombi um die Apertur bilden (links) und schließlich ein stabiler Plättchenpfropf die Öffnung verschließt (rechts). Entnommen aus Sem Thromb Hemost 1995; 21 suppl 2; mit freundlicher Genehmigung des Thieme Verlags Stuttgart.

(Tabelle 1) zu beachten. Es leuchtet ein, dass eine Thrombozytopenie die Verschlusszeiten verlängern kann. Es wird deshalb empfohlen, nur Vollblutproben mit einer Thrombozytenzahl >100000 µl zu analysieren. Auch der Hämatokrit kann in das Messergebnis eingehen. So sollten Proben mit einem Hämatokrit < 30 % nicht untersucht werden [2–4]. Es wurden Versuche unternommen, diese Einflussgrößen durch eine Modifikation des Meßsystems zu eliminieren [5]. Der Citratanteil kann sich auf die Verschlusszeiten auswirken [6, 7]. Aus diesem Grunde sollte der Referenzbereich in Abhängigkeit vom verwendeten Citratanteil angegeben werden. Da die Messung im 106 mmol/l ungepufferten Citratblut durch Mikrothromben verhindert werden kann, ist der Gebrauch von gepuffertem 129 mmol/l Citrat anzuraten [6]. Darüber hinaus ist ein höherer Citratanteil von Vorteil, werden Proben von Patienten, die Acetylsalicylsäure einnahmen, untersucht [7]. Die Verschlusszeiten zeigen eine diurnale Abhängigkeit. So sind die Zeiten unter Verwendung der CEPI-Cartridge 30 % länger, wenn statt um 8.30 Uhr früh Blut um 5 Uhr nachmittags entnommen wurde [8]. Raucher weisen nicht-signifikant längere Verschlusszeiten (CEPI-Cartridge) auf als Nicht-Raucher. Geschlecht und die Einnahme oraler Kontrazeptiva nehmen keinen Einfluss auf die Messung [9]. Bei Neugeborenen und älteren Männer ist mit kürzeren Verschlusszeiten zu rechnen [3, 10–12]. Heparin scheint, vielleicht von sehr hohen Konzentrationen abgesehen, ohne Bedeutung zu sein [13]. Es existiert eine Vielzahl an Arzneien und Nahrungsmitteln – hier sei nicht die Rede von Medikamenten, deren aggregationshemmende Wirkung erwünscht ist –, die die Thrombozytenfunktionen beeinträchtigen. In dieser Hinsicht bleibt noch etliches zu tun, den Einfluß dieser Mittel auf die Verschlusszeiten zu analysieren.

Tabelle 1 Stör- und Einflußgrößen des PFA-100 [45]

Thrombozytopenie
Hämatokrit
Citratanteil
Alter
Tageszeit
Schwangerschaft
Blutgruppe *(via von Willebrand-Faktor)*
Hohe Kollagen-Rezeptor-Expression
Nikotinabusus (?)
Kontrastmittel
Hydroxyethylstärke
Kakaopulver

Ersatz für die *in-vivo*-Blutungszeit?

Oftmals wird der PFA-100® als „*in-vitro*-Blutungszeit" bezeichnet und der „*in-vivo*-Blutungszeit" gegenübergestellt. Beide Testverfahren verfolgen das gleiche Ziel, die Funktionstüchtigkeit der primären Hämostase zu testen. Es zeigte sich wiederholt, dass bei einem Vergleich der PFA-100® besser abschneidet. Die „*in-vitro*-Blutungszeit" ist sowohl sensitiver als auch spezifischer als ihr Pendant [14–18].

Klinische Aussagekraft

Von-Willebrand-Jürgens-Syndrom

Da dem von Willebrand-Faktor eine große Rolle in der primären Hämostase zukommt, verwundert es nicht, dass die Plasmakonzentration dieses Proteins mit den Verschlusszeiten negativ korreliert. Es existiert eine nicht-lineare, logarithmische Beziehung zwischen beiden Größen [15, 17, 19, 20]. Die Frage stellt sich deshalb, ob der PFA-100® ein geeignetes Instrument ist, Patienten mit einem von-Willebrand-Jürgens-Syndrom zu screenen. Es kann nicht erwartet werden, dass der Typ 2N erkannt wird. Die Konzentration des von-Willebrand-Faktor entspricht in diesem Fall meist der Norm. In der Literatur werden 33 Patienten mit einem Typ 2A, 12 mit einem Typ 2 M und 31 mit einem Typ 3 vorgestellt, die allesamt durch eine verlängerte Verschlusszeiten auffielen. Der Typ 2B scheint nicht ganz zu 100 % (33/36) erkannt zu werden [21]. Am häufigsten hat man es aber mit dem Typ 1 zu tun. In der Praxis sind solche Patienten oft nur schwer zu diagnostizieren. Die Definition des Typ 1 ist zudem uneinheitlich. Tabelle 2 vermittelt das Sensitivitäts-Spezifitäts-Profil des PFA-100® für die von-Willebrand-Erkrankung. In die Definition des von-Willebrand-Jürgens-Syndrom gehen nicht nur Laborkriterien ein, entscheidend sind auch Eigen- und Familienanamnese. Selbst wenn man eng gefasste „in-house"-Kriterien, wie das die Autoren um Dean taten [18], oder die Vorschläge des ISTH subcommittee, wie in der Arbeit von Battle und Mitautoren geschehen [22], anlegt, ändert sich die hohe Effizienz des Tests kaum. Zielt man nur auf Patienten mit niedriger von Willebrand-Faktor-Konzentration ab, so scheint dies mit 98 %-Sensitivität zu gelingen.

DDAVP wird bei vielen von Willebrand-Patienten eingesetzt, um bei kleineren Eingriffen oder Zahnextraktionen eine suffiziente Blutungsprophylaxe zu garantieren. Endogene von-Willebrand-Faktor-Reserven werden dabei mobilisiert. Von-Willebrand-Faktor-haltige Faktor-VIII-Präparate werden in der Regel nur bei größeren Eingriffen oder bestimmten Typen dieser Erkrankung eingesetzt. Die DDAVP-Gabe kann mit Hilfe des PFA-100 ausreichend gemonitort werden. Responder lassen sich von Non-Respondern unterscheiden. Wurde aber ein Faktor-VIII-Konzentrat z. B. Typ-3-Patienten verabreicht, verkürzten sich die Verschlusszeiten nicht, obwohl Ristocetin-Cofaktor und von Willebrand-Faktor-Konzentration adäquat anstiegen [17, 19, 20, 24]. Die Collagenbindungsaktivität sprach in diesen Fällen ebenso nicht an. Es scheint so, dass die Verschlusszeiten eng mit der Collagenbindungsaktivität korrelieren. Die Collagenbindungsaktivität wiederum erfasst insbesondere die großen Multimere, an denen es den Faktor VIII-Konzentraten meist mangelt [19].

Thrombozytopathien

Die Leistungsfähigkeit des Geräts wurde weitaus mehr an Patienten mit einem von-Willebrand-Jürgens-Syndrom erprobt als an Patienten mit thrombozytären Störungen. Dem PFA-100® gelingt es mühelos, schwere thrombozytäre Störungen wie den M. Glanzmann oder das Bernard-Soulier-Syndrom zu erfassen: Beide Erkrankungen werden mit jeweils beiden Cartridges zu 100 % erkannt [14, 15, 25, 26]. Mildere Thrombozytopathien wie storage-pool-disease oder das Hermansky-Pudlak-Syndrom geben sich mit Hilfe des PFA-100® nicht immer zu erkennen: Die Sensitivität, gemessen mit CEPI-Cartridge, beträgt 75 % bzw. 91 %, gemessen mit CADP-Cartridge weniger als 40 %. In der Literatur wurden pro Erkrankung insgesamt nicht einmal 20 Patienten beschrieben [15, 25–27]. Cattaneo *et al*. fanden mit Hilfe der CEPI-Cartridge bei 4 von 9 Patienten mit einer primären Sekretionsstörung verlängerte Verschlusszeiten [27].

Monitoring von Thrombozytenaggregationshemmer

Acetylsalicylsäure wird erfolgreich zur Therapie und Prophylaxe kardio- und zerebrovaskulärer Ischämien

Tabelle 2 PFA-100: Sensitivität und Spezifität für das von Willebrand-Jürgens-Syndrom Typ 1. Es wurden nur Studien mit >20 Typ-1-Patienten berücksichtigt.

Erstautor/Jahr	n	Spezifität (%)	Sensitivität (%)	
			Collagen/Epinephrin	Collagen/ADP
Fressinaud 1998 [15]	36	96	94	
		99		100
Battle 1999 [22]	38	100	93	
		84		100
Fressinaud 1999 [20]	23	96	100	
		99		100
Dean 2000 [18]	24	95	79	83
Schlammadinger 2000 [23]	22	97	86	
		100		63

eingesetzt. Auf die Gabe von Acetylsalicylsäure spricht der PFA-100® rasch an. Charakteristischerweise verlängert sich die Verschlusszeit der CEPI-Cartridge [28]. Nach Absetzen einer Dauerprophylaxe mit 100 mg Aspirin kann die Wirkung noch bei 82 % bzw. 55 % der Patienten nach 1–2 bzw. 3–4 Tagen nachgewiesen werden (CEPI bei 0,129 M Citratanteil) [7]. Der PFA-100® scheint zuverlässig die Aspirin-Wirkung anzuzeigen. Aus diesem Grunde wurde der Gebrauch des PFA-100® zur Überprüfung der Compliance oder einer möglichen Aspirin-Resistenz vorgeschlagen.

Die Aspirin-Resistenz ist schwierig zu definieren. Sie dürfte aber nicht nur ein Laborphänomen darstellen, sondern tatsächlich von klinischer Bedeutung sein [29]. In einer Studie war eine Reokklusion nur bei AVK-Patienten zu beobachten, die – es wurde die Plättchenaggregation nach Stimulation mit ADP und Kollagen untersucht – nicht auf Aspirin ansprachen [30]. Dass sich die Aspirin-Resistenz auf das kardiovaskuläre Risiko auswirkt, wurde kürzlich gezeigt. Gemessen wurden die Urinspiegel von 11-dehydro-Thromboxan B2, einem stabilen Metaboliten des Thromboxan A2, von 488 Patienten, die unter Aspirin ein kardio- oder zerebrovaskuläres Ereignis zu beklagen hatten. Letztlich hatten Patienten mit hohem 11-dehydro-Thromboxan B2-Spiegel mit einem höheren Herzinfarktrisiko zu rechnen oder verstarben eher [31]. Wenn aber tatsächlich dieses Phänomen von klinischer Tragweite ist, wäre es wünschenswert, Aspirin-resistente Patienten zu erkennen und die medikamentöse Prophylaxe zu wechseln.

Mit bis zu 30 % Non-Respondern ist zu rechnen [32, 33]. Der PFA-100® scheint einer Studie zufolge nur bei ca. 10 % von 325 stabilen kardiovaskulären Patienten eine Aspirin-Resistenz zu entdecken, obwohl die eingesetzte Aspirin-Dosis sich nicht wesentlich von der anderer Studien unterschied [34]. Unwesentlich wich hiervon die Prävalenz bei allerdings nur 37 stabilen Patienten nach zerebraler Ischämie ab: ca. 15 % wiesen hier eine Aspirin-Resistenz auf, wobei ein höherer cutoff für die Verschlusszeit gewählt wurde [35]. Verschlusszeiten sind sehr von der von-Willebrand-Faktor-Konzentration abhängig. Von daher ist es denkbar, dass hohe Konzentrationen dieses Gerinnungsproteins, ein im übrigen wohl unabhängiger kardiovaskulärer Risikofaktor [36], eine mögliche Aspirin-Resistenz maskieren könnten [37]. Untermauert wird diese Vermutung durch die Beobachtung, dass nach Endotoxingabe die von-Willebrand-Faktor-Konzentration Gesunder um 85 % (also auf das Niveau von Risikopatienten) anstieg, sich gleichzeitig aber die Verschlusszeit der CEPI-Cartridge halbierte [38]. Vielleicht läge eine größere Aussagekraft nicht so sehr in der absoluten Verschlusszeit, sondern vielmehr in der Ratio aus den Verschlusszeiten nach und vor Aspirineinnahme.

Neben Acetylsalicylsäure werden Thienopyridine (Ticlopidin, Clopidogrel) oder Glycoprotein IIb/IIIa-Antagonisten zur Thrombozytenaggregationshemmung verwendet. Unter Thienopyridinen können meist keine verlängerten Verschlusszeiten erwartet werden. Der PFA-100® reagiert hingegen sensitiv auf Glycoprotein IIb/IIIa-Antagonisten. Waren 75 % der Glycoprotein IIb/IIIa-Rezeptoren nach Abciximab-Gabe blockiert, war die CADP-Verschlußzeit stets verlängert [13, 39, 40].

Blutungsrisiko. Die Frage stellt sich, ob der PFA-100® im Vorfeld eines Eingriffes das Blutungsrisiko abschätzen hilft. Bei entsprechender Blutungsanamnese können verlängerte Verschlusszeiten auf angeborene Plättchendefekte oder ein von-Willebrand-Jürgens-Syndrom, also Erkrankungen mit erhöhtem perioperativen Blutungsrisiko, hinweisen. Wie nützlich ist der PFA-100® aber, auch das Blutungsrisiko von Patienten, die zuvor nie durch eine Blutungsneigung auffielen, vorauszusagen? Die verfügbaren Daten zur prognostischen Aussagekraft verlängerter Verschlusszeiten sind spärlich. Es existieren Berichte, die eine gewisse Beziehung zwischen präoperativer Verschlusszeit und Blutverlust darlegen. So waren unter 90 Patienten nach Herzklappenersatz 6 Patienten mit einer CADP-Verschlusszeit > 300 sec. 3 dieser Patienten bluteten exzessiv [41]. Andere Autoren beschreiben eine mäßige Korrelation von Verschlusszeit und Blutverlust ($r = 0.41$) für Patienten, die einer Operation am offenen Herzen unterzogen wurden [42]. Zwei anderen Studien zufolge, die den Blutverlust unter koronarer Bypass-Op zum Gegenstand hatten, scheinen verlängerte Verschlusszeiten einen drohenden Blutverlust nicht ausreichend veraussagen zu können [43, 44]. Es sind zu diesem wichtigen Thema dringend umfangreiche prospektive Studien notwendig.

Abschließende Bemerkungen

Zweifelslos übertrifft der PFA-100® die *in-vivo*-Blutungszeit an diagnostischer Schärfe. Doch sollte sich der PFA-100® nicht an der *in-vivo*-Blutungszeit messen lassen. Die *in-vivo*-Blutungszeit hat sich schon vor Jahren als gänzlich untaugliches Instrument herausgestellt [46, 47]. Ist nun der PFA-100® ein Globaltest, der empfindlich auf Störungen der primären Hämostase reagiert? Als Suchtest für das von-Willebrand-Jürgens-Syndrom kann er zur Anwendung kommen. Aber der PFA-100® erkennt nur einen Teil der thrombozytären Dysfunktionen. Noch kann nicht entschieden werden, ob das Gerät zur Abschätzung einer Aspirin-Resistenz eingesetzt werden könnte. Unbekannt ist, welchen prädiktiven Wert Verschlusszeiten haben. Das Gerät ist einfach handzuhaben und verdient Aufmerksamkeit. Studien werden die offenbleibenden Fragen zu beantworten wissen. Auch unter ökonomischen Gesichtspunkten muß geklärt werden, wo der PFA-100® seinen Platz im Routinelabor finden wird.

Literatur

1. Kundu SK, Heilmann EJ, Sio R, Garcia C, Ostgaard RA. Characterization of an in vitro platelet function analyzer, PFA-100™. Clin Appl Thromb Hemost 1996;2:241–9.

2. Harrison P, Robinson MSC, Mackie IJ, Joseph J, McDonald SJ, Liesner R, Savidge GF, Pasi J, Machin SJ. Performance of the platelet function analyser PFA-100 in testing abnormalities of primary haemostasis. Blood Coagulation Fibrinol 1999;10:25–31.

3. Sestito A, Sciahbasi A, Landolfi R, Maseri A, Lanza GA, Andreotti F. A simple assay for platelet-mediated hemostasis in flowing whole blood (PFA-100): reproducibility and effects of sex and age. Cardiologia 1999;44:661–5.

4. Harrison P. Progress in the assessment of platelet function. Br J Haematol 2000; 111:733–44.

5. Kretschmer V, Bade S, Weippert-Kretschmer M, Kratzer MA. Measurement of primary haemostasis using a pressure clamp technique. Platelets 2001;12:462–70.

6. Heilmann EJ, Kundu SK, Sio R, Garcia C, Gomez R, Christie DJ. Comparison of four commercial citrate blood collection systems for platelet function analysis by the PFA-100 system. Thromb Res 1997;87:159–64.

7. Von Pape K, Aland E, Bohner J. Platelet function analysis with PFA-100® in patients medicated with acetylsalicylic acid strongly depends on concentration of sodium citrate used for anticoagulation of blood sample. Thromb Res 2000;98:295–9.

8. Dalby MCD, Davidson RM, Burman JF, Davies SW. Diurnal variation in platelet aggregation with the PFA-100 platelet function analyser. Platelets 2000;11:320–4.

9. Böck M, De Haan J, Beck KH, Gutensohn K, Hertfelder HJ, Karger R et al. Standardization of the PFA-100 platelet function test in 105 mmol/L buffered citrate: effect of gender, smoking, and oral contraceptives. Br J Haematol 1999;106:898–904.

10. Carcao MD, Blanchette VS, Dean JA, He L, Kern MA, Stain Am et al. The platelet function analyzer (PFA-100): a novel in vitro system for evaluation of primary haemostasis in children. Br J Haematol 1998;101:70–3.

11. Borzini P, Lazzaro A, Mazzucco L, Papili F. The in vitro bleeding time for the screening of platelet function in the newborn: assessment of a normal reference range. Eur J Pediatr 2001;160: 199–200.

12. Knöfler R, Weissbach G, Kuhlisch E. Platelet function tests in childhood. Measuring aggregation and release reaction in whole blood. Sem Thromb Hemost 1998;24:513–21.

13. Hezard N, Metz D, Nazeyrollas P, Droulle C, Elaerts J, Potron G et al. Use of the PFA-100 apparatus to assess platelet function in patients undergoing PTCA during and after infusion of c7E3 Fab in the presence of other antiplatelet agents. Thromb Haemost 2000; 83:540–4.

14. Mammen EF, Comp PC, Gosselin R, Greenberg C, Keith Hoots W, Kessler CM, Larkin EC, Liles D, Nugent DJ. PFA-100™System: A new method for assessment of platelet dysfunction. Sem Thromb Hemost 1998;24:195–202.

15. Fressinaud E, Veyradier A, Truchaud F, Martin I, Boyer-Neumann C, Trossaert M, Meyer D. Screening for von Willebrand disease with a new analyzer using high shear stress: a study of 60 cases. Blood 1998;91:1325–31.

16. Francis J, Francis D, Larson L, Helms E, Garcia C. Can the platelet function analyzer (PFA)-100 test substitute for the template bleeding time in routine clinical practice? Platelets 1999;10:132–6.

17. Cattaneo M, Federici AB, Lecchi A, Agati B, Lombardi R, Stabile F, Bucciarelli P. Evaluation of the PFA-100® system in the diagnosis and therapeutic monitoring of patients with von Willebrand disease. Thromb Haemost 1999;82:35–9.

18. Dean JA, Blanchette VS, Carcao MD, Stain AM, Sparling CR, Siekmann J, Turecek PL, Lillicrap D, Rand ML. Von Willebrand disease in a pediatric-based population – comparison of type 1 diagnostic criteria and use of the PFA-100 and a von Willebrand factor/collagen-binding assay. Thromb Haemost 2000;84:401–9.

19. Favaloro EJ, Kershaw G, Bukuya M, Hertzberg M, Koutts J. Laboratory diagnosis of von Willebrand disorder (vWD) and monitoring of DDAVP therapy: efficacy of the PFA-100 and VWF CBA as combindes diagnostic strategies. Haemophilia 2001;7: 180–9.

20. Fressinaud E, Veyradier A, Sigaud M, Boyer-Neumann C. Therapeutic monitoring of von Willebrand disease: interest and limits of a platelet function analyser at high shear stress. Br J Haematol 1999;106:777–83.

21. Favaloro EJ. Utility of the PFA-100® for assessing bleeding disorders and monitoring therapy: a review of analytical variables, benefits and limitations. Haemophilia 2001;7:170–9.

22. Battle J, Loures E, Esmoris MJ, Couselo MS, Vale A, Lopez Fernandez MF. Platelet function analysis (PFA-100) in the screening of type 1 von Willebrand diesease (vWD). Thromb Haemost 1999;82 suppl:132–3.

23. Schlammadinger A, Kerenyi A, Muszbek L, Boda Z. Comparison of the O'Brien filter test and the PFA-100 platelet analyzer in the laboratory diagnosis of von Willebrand's disease. Thromb Haemost 2000;84:88–92.

24. Meskal A, Vertessen F; van der Planken M, Berneman ZN. The platelet function analyzer (PFA-100) may not be suitable for monitoring the therapeutic efficiency of von Willebrand concentrate in type III von Willebrand disease. Ann Hematol 1999; 78:426–30.

25. Harrison P, Robinson MS, Mackie IJ et al. Performance of the platelet function analyser PFA-100 in testing abnormalities of primary haemostasis. Blood Coagul Fibrinolysis 1999;10:25–31.

26. Kerenyi A, Schlammadinger A, Ajzner E et al. Comparison of PFA-100 closure time and template bleeding time of patientes with inherited disorders causing defective platelet function. Thromb Res 1999;96:487–92.

27. Cattaneo M, Lecchi A, Agati B, Lombardi R, Zighetti ML. Evaluation of platelet function with the PFA-100 system in patients with congenital defects of platelet secretion. Thromb Res 1999; 96:213–7.

28. Homoncik M, Jilma B, Hergovich N, Stohlawetz P, Panzer S, Speiser W. Monitoring of aspirin (ASA) pharmodynamics with the platelet function analyzer PFA-100. Thromb Haemost 2000;83:316–21.

29. Smout J, Stansby G. Aspirin resistance. Br J Surg 2002;89:4–5.

30. Mueller MR, Salat A, Stangl P, Murabito M, Pulaki S, Boehm D et al. Variable platelet response to low-dose ASA and the risk of limb deterioration in patients submitted to peripheral arterial angioplasty. Thromb Haemost 1997;78:1003–7.

31. Eikelboom JW, Hirsch J, Weitz JI, Johnston M, Yi Q, Yusuf S. Aspirin-resistant thromboxane biosynthesis and the risk of myocardial infarction, stroke, or cardiovascular death in patients at high risk for cardiovascular events. Circulation 2002;105:1650–5.

32. Helgason CM, Bolin KM, Hoff JA, Winkler SR, Mangat A, Tortorice KL et al. Development of aspirin resistance in persons with previous ischaemic stroke. Stroke 1994;25:2331–6.

33. Tarjan J, Salamon A, Jager R, Poor F, Barczi V, Dinnyes J et al. The rate of acetylsalicylic acid non-respondents among patients hospitalised for acute coronary disease, previously undergoing secondary salicylic acid prophylaxis. Orv Hetil 1999; 140:2339–43.

34. Gum PA, Kottke-Marchant K, Poggio ED, Gurm H, Welsh PA, Brooks L, Sapp SK, Topol EJ. Profile and prevalence of aspirin resistance in patients with cardiovascular disease. Am J Cardiol 2001;88:230–5.

35. Hanswillemenke R, Weber H, Krauseneck P. Analysis of platelet hemostatic capacity in patients with cerebral ischemia before and under ASS-medication using the PFA-100. Ann Haematol 2002; 81,suppl1:A26–7.

36. Thompson SG, Kienast J, Pyke SD, Haverkate F, van de Loo JC. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris: European concerted action on thrombosis and disabilities angina pectoris study group. N Engl J Med 1995;332:635–41.

37. Jilma B, Fuchs I. Detecting aspirin resistance with the platelet function analyzer (PFA-100). Am J Cardiol 2001;88:1348–9.
38. Homoncik M, Blann AD, Hollenstein U, Pernerstorfer T, Eichler HG, Jilma B. Systemic inflammation increases shear stress-induced platelet plug formation measured by the PFA-100. Br J Haematol 2000;111:1250–2.
39. Kottke-Marchant K, Powers JB, Brooks L, Kundu S, Christie DJ. The effect of antiplatelet drugs, heparin, and preanalytical variables on platelet function detected by the platelet function analyzer (PFA-100). Clin Appl Thromb Hemost 1999;5:122–30.
40. Madan M, Berkowitz SD, Christie DJ, Jennings LK, Smit AC, Sigmon KN et al. Rapid assessment of glycoprotein IIb/IIIa blockade with the platelet function analyzer (PFA-100) during percutaneous coronary intervention. Am Heart J 2001;141:226–33.
41. Francis JL. Platelet dysfunction detected at high shear in patients with heart valve disease. Platelets 2000;11:133–6.
42. Wahba A, Sander S, Birnbaum DE. Are in vitro platelet function tests useful in predicting blood loss following open heart surgery? Thorac Cardiovasc Surg 1998; 46:228–31.
43. Dietrich GV, Schueck R, Menges T, Kiesenbauer NP, Fruehauf AC; Marquardt I. Comparison of four methods for the determination of platelet function in whole blood in cardiac surgery. Thromb Res 1998;89:295–301.
44. Lasne D, Fiemeyer A, Chatellier G, Chammas C, Baron JF, Aiach M. A study of platelet functions with a new analyzer using high shear stress (PFA-100) in patients undergoing coronary artery bypass graft. Thromb Haemost 2000;84:794–9.
45. Jilma B. Platelet function analyzer (PA-100): a tool to quantify congenital or acquired platelet dysfunction. J Lab Clin Med 2001; 138:152–63.
46. Rodgers RP, Levin J. A critical reappraisal of the bleeding time. Semin Thromb Hemost 1990; 16:1–20.
47. De Caterina R, Lanza M, Manca G et al. Bleeding time and bleeding: an analysis of the relationship of the bleeding time test with parameters of surgical bleeding. Blood 1994;84:3363–70.