

**Aus der Neurologischen Universitätsklinik Tübingen  
Abteilung für Neurologie mit Schwerpunkt Neurovaskuläre Erkrankungen**

**Anti-Faktor IIa-spezifische Point-of-Care  
Gerinnungstestung unter Behandlung mit Dabigatran  
und ihre Bedeutung für die  
klinische Schlaganfall-Akutversorgung**

**Inauguraldissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard Karls Universität  
zu Tübingen**

**vorgelegt von  
Florian Joachim Härtig**

**2021**

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Privatdozent Dr. S. Poli

2. Berichterstatter: Professor Dr. M. Haap

Tag der Disputation: 08.09.2021

**Für meine Tochter Emma und meine Frau Louise**

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>VI</b>
<b>1. Einleitung.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Die Bedeutung von Point-of-Care Gerinnungstestverfahren in der Schlaganfallbehandlung .....</b>	<b>1</b>
1.1.1. Sozioökonomische Bedeutung des Schlaganfalls .....	1
1.1.2. Prinzipien der Akutbehandlung des Schlaganfalls.....	1
1.1.3. Gerinnungsdiagnostik in der Schlaganfallakutversorgung.....	3
<b>1.2. Plasmatische Gerinnung und therapeutische Antikoagulation .....</b>	<b>5</b>
1.2.1. Die plasmatische Gerinnung.....	5
1.2.2. Antikoagulanzen .....	9
1.2.1. Klinische Anwendungsgebiete direkter Thrombininhibitoren .....	10
<b>1.3. Evaluation der plasmatischen Gerinnung.....</b>	<b>11</b>
<b>1.4. Bedeutung der Point-of-Care Gerinnungstestung unter DOAK-Behandlung für Neurologen und Notfallmediziner.....</b>	<b>13</b>
1.4.1. Behandlungsgrenzwerte für VKA und DOAK und deren Einhaltung .....	17
1.4.2. Die Ecarin-Gerinnungszeit.....	18
<b>1.5. Ziel und Hypothese der zugrundeliegenden Studie .....</b>	<b>20</b>
<b>2. Material und Methoden .....</b>	<b>22</b>
<b>2.1. Cascade® Abrazo .....</b>	<b>22</b>
<b>2.1. Direct Thrombin Monitoring - Gerinnungstestkarte .....</b>	<b>23</b>
<b>2.2. Studiendesign und Studienzentren .....</b>	<b>24</b>
2.1. Ein- und Ausschlusskriterien .....	25
2.2. Probengewinnung und Gerinnungsmessungen.....	26
<b>2.3. Verblindung.....</b>	<b>27</b>
<b>2.4. Kalibration und Nachweisgrenze .....</b>	<b>28</b>
<b>2.5. Inter-Assay Varianz, Interaktion mit Heparin und anderen DOAK (Faktor-Xa-Inhibitoren) und In-Vitro Antagonisierung des Dabigatran-Effekts durch Idarucizumab (Praxbind®) .....</b>	<b>29</b>
2.5.1. Inter-Assay Varianz .....	29
2.5.2. Interaktion mit Heparin und anderen DOAK (Faktor-Xa-Inhibitoren) .....	30
2.5.3. In-Vitro Antagonisierung des Dabigatran-Effekts durch Idarucizumab (Praxbind®).....	30
<b>2.6. Statistische Methoden.....</b>	<b>32</b>
<b>2.7. Finanzierung der Studie - Interessenkonflikte.....</b>	<b>34</b>

<b>3. Ergebnisse</b> .....	<b>35</b>
<b>3.1. Klinische Studie</b> .....	<b>35</b>
<b>3.2. Korrelation von POC-ECT und Labor-basierten Tests mit UPLC-MS/MS</b>	<b>38</b>
<b>3.3. Korrelation von globalen Gerinnungstests mit UPLC-MS/MS</b> .....	<b>41</b>
<b>3.4. Grenzwertoptimierung (Receiver Operating Characteristics)</b> .....	<b>44</b>
3.4.1. Flächen unter den ROC-Kurven .....	47
<b>3.5. Kalibration und Nachweisgrenze</b> .....	<b>49</b>
<b>3.6. Übereinstimmung der kalibrierten Messmethoden mit der UPLC-MS/MS</b> .	<b>50</b>
<b>3.7. Inter-Assay Varianz, Interaktion mit Heparin und anderen DOAK (Faktor Xa-Inhibitoren) und in-vitro Antagonisierung des Dabigatran-Effekts durch Idarucizumab</b> .....	<b>54</b>
3.7.1. Inter-Assay Varianz .....	54
3.7.2. Interaktion mit Heparin und anderen DOAK (Faktor-Xa-Inhibitoren) .....	55
3.7.3. In-Vitro Antagonisierung des Dabigatran-Effekts durch Idarucizumab (Praxbind®).....	56
<b>4. Diskussion</b> .....	<b>58</b>
<b>4.1. Methodische Stärken der Studie</b> .....	<b>60</b>
<b>4.2. Methodische Schwächen der Studie</b> .....	<b>62</b>
<b>5. Zusammenfassung</b> .....	<b>64</b>
<b>6. Literaturverzeichnis</b> .....	<b>65</b>
<b>7. Tabellenverzeichnis</b> .....	<b>75</b>
<b>8. Abbildungsverzeichnis</b> .....	<b>76</b>
<b>9. Erklärung zum Eigenanteil</b> .....	<b>78</b>
<b>10. Veröffentlichungen</b> .....	<b>79</b>

## Abkürzungsverzeichnis

ACT	activated clotting time
(a)PTT	(aktivierte) partielle Thromboplastinzeit
AUROC	<i>area under the receiver operating characteristics curve</i> (Fläche unter der ROC-Kurve)
BDTI	Biophen direkter Thrombininhibitortest
DOAK	direktes orales Antikoagulans / direkte orale Antikoagulanzen
DTM	direct thrombin monitoring
ECT	ecarin clotting time (Ecarin-Gerinnungszeit)
HIT	Heparin-induzierte Thrombozytopenie
INR	international normalized ratio
ISI	internationaler Sensitivitätsindex
MS	Massenspektrometrie
MW	Mittelwert
NMH	niedermolekulares Heparin / niedermolekulare Heparine
NPW	negativer prädiktiver Wert
POC	point-of-care
PPW	positiver prädiktiver Wert
PT	Prothrombinzeit
ROC	receiver operating characteristics
SA	Standardabweichung
UFH	unfraktioniertes Heparin
UPLC-MS/MS	ultra-performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry (Hochleistungs-Flüssigchromatographie/ Tandemmassenspektrometrie)

VKA

Vitamin K-Antagonist(en)

## 1. Einleitung

### 1.1. Die Bedeutung von Point-of-Care Gerinnungstestverfahren in der Schlaganfallbehandlung

#### 1.1.1. Sozioökonomische Bedeutung des Schlaganfalls

Der Schlaganfall stellt in Deutschland – wie in der gesamten industrialisierten Welt – ein sehr häufiges Krankheitsbild dar.<sup>1,2</sup> Nach Daten des populationsbasierten Erlanger Schlaganfallregisters ist die Neuerkrankungsrate (Inzidenz) in den letzten Jahrzehnten zwar gefallen, lag 2009/2010 aber immer noch bei 117,1/100.000 pro Jahr (für Frauen) bzw. 127,3/100.000 pro Jahr (für Männer).<sup>1</sup> Nach Daten von 2008 erleiden jährlich in Deutschland ca. 196.000 Menschen einen Schlaganfall. Hinzu kommen 66.000 Personen mit wiederholten Schlaganfällen; insgesamt also ca. 262.000.<sup>3</sup>

Aufgrund der häufig persistierenden neurologischen Ausfälle stellt der Schlaganfall weltweit die zweithäufigste Ursache für eine bleibende Behinderung dar, und ist – trotz sinkender Gesamtmortalität – mit ca. 63.000 Todesfällen pro Jahr in Deutschland die zweithäufigste Todesursache.<sup>3,4</sup>

Und auch der ökonomische Schaden der Erkrankung ist immens: Die Kosten der Behandlung eines Schlaganfallpatienten belaufen sich aufgrund der intensiven Akut- und Rehabilitationsbehandlung der betroffenen Patienten in Deutschland im Schnitt auf über 10.000€ pro Fall allein im ersten Jahr.<sup>5</sup>

#### 1.1.2. Prinzipien der Akutbehandlung des Schlaganfalls

Ein Schlaganfall ist charakterisiert durch plötzlich auftretende neurologische Ausfallerscheinungen. Ca. 80% aller Schlaganfälle sind ischämisch, das heißt



Folge des Verschlusses einer hirnversorgenden Arterie. Der Rest entfällt auf sogenannte hämorrhagische Schlaganfälle, also intrakranielle Blutungen (z.B. primär intrazerebrale oder subarachnoidale).<sup>1</sup>

Zum heutigen Zeitpunkt beruht die Akutbehandlung des akuten ischämischen Schlaganfalls auf einer raschen Rekanalisation des durch den Thrombus verlegten arteriellen Blutgefäßes. Erste individuelle Heilversuche in den 1980er Jahren verwendeten Streptokinase als Thrombolytikum, welches – intraarteriell appliziert – durch eine Aktivierung von endogenem Gewebsplasminogen ein arterielles Blutgerinnsel – die häufigste Ursache eines Gefäßverschlusses beim ischämischen Schlaganfall – auflösen konnte.<sup>6</sup> Diese ersten Erfolge führten zur Entwicklung der intravenösen Thrombolyse, welche nach positiven klinischen Phase III-Studien – und vor der Etablierung der mechanischen Thrombektomie<sup>7</sup> – als zunächst einzige evidenzbasierte Akuttherapie zur Verfügung stand.<sup>8,9</sup> Schon sehr früh war klar, dass der Erfolg der medikamentösen Thrombolyse und auch der mechanischen Thrombektomie hauptsächlich vom zeitlichen Intervall zwischen dem Verschluss des betroffenen hirnversorgenden Gefäßes und der Behandlung bzw. Rekanalisation/Reperfusion abhängt (Schlagwort: „time is brain“).<sup>10</sup> Grund hierfür ist das pathophysiologische Konzept der „Penumbra“ (lateinisch für: Halbschatten): Im Falle eines arteriellen Gefäßverschlusses, der das Gehirn betrifft, sterben stark unterversorgte Bereiche des Gehirns innerhalb von Minuten unweigerlich ab (ischämische Nekrose). Ein Teil des ischämischen Hirngewebes außerhalb des Infarktkerns ist allerdings noch in der Lage, seinen Strukturstoffwechsel aufrechtzuerhalten und daher „rettbar“; erfahrungsgemäß aber nur über einen gewissen Zeitraum.<sup>11,12</sup>

Die (intravenöse) Thrombolyse kann eine verschlossene hirnversorgende Arterie wieder eröffnen, birgt allerdings auch eine Gefahr: Insbesondere bei einer Beeinträchtigung der Gerinnung besteht ein erhöhtes Risiko für eine sekundäre intrakranielle Blutung als Behandlungskomplikation.<sup>13,14</sup>

Wie auch beim ischämischen Schlaganfall besteht auch für hämorrhagische Schlaganfälle – also primäre intrakranielle Blutungen – eine Abhängigkeit des

Behandlungsergebnisses vom Zeitpunkt einer therapeutischen Intervention; zumindest dann, wenn ein beeinflussbarer Risikofaktor für eine Hämatomexpansion, wie z.B. ein erhöhter arterieller Blutdruck oder eine veränderte Blutgerinnung, vorliegt.<sup>15-17</sup>

### 1.1.3. Gerinnungsdiagnostik in der Schlaganfallakutversorgung

Unverzichtbar ist in der Akutphase der Behandlung für den Neurologen oder Notfallmediziner daher neben der bildgebenden Diagnose der Schlaganfallentität (ischämisch vs. hämorrhagisch) die möglichst rasche Einschätzung der Gerinnungssituation. Die Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie empfehlen hierfür den Einsatz sogenannter Point-of-Care-(POC-)Gerinnungstestgeräte.<sup>18</sup> Das sind einfach zu bedienende Schnelltestgeräte, die gegenüber einer Labor-basierten Gerinnungsdiagnostik deutlich eingeschränkte diagnostische Möglichkeiten besitzen aber in der Akutphase der Schlaganfallbehandlung erwiesenermaßen eine wesentliche Zeitersparnis bieten können, wenn die Therapieentscheidung von einem durch die POC-Testung erfassbaren Gerinnungswert abhängt.<sup>19,20</sup>

Die *Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen* (Rili-BÄK) kennt den Begriff POC-Testgeräte nicht, sondern spricht von *patientennaher Sofortdiagnostik*, bei der „laboratoriumsmedizinische Untersuchungen [...] ohne Probenvorbereitung unmittelbar als Einzelprobenmessungen durchgeführt werden“.<sup>21</sup>

Diese POC-Testgeräte zeichnen sich unter anderem dadurch aus, dass:

1. sie in unmittelbarer Nähe zum Patienten eingesetzt werden können (also entweder komplett tragbar sind oder sich außerhalb eines Zentrallabors am Ort der Patientenversorgung befinden),

2. keine besondere Probenaufarbeitung (wie z.B. Zentrifugation) und keine Pipettierschritte für die Durchführung der Tests notwendig ist,
3. alle Testreagenzien (für eine Einzelmessung) auf einer Karte, Kartusche o.ä. vorgemischt sind,
4. sie durch einen eingewiesenen Bediener ohne tiefere medizinisch-technische Qualifikation bedient werden können,
5. Testergebnisse rasch verfügbar sind und dadurch
6. unmittelbar diagnostische oder therapeutische Konsequenzen aus den Ergebnissen gezogen werden können.<sup>22</sup>

Ein POC-Gerinnungstestgerät erfüllt im Rahmen der (neurologischen) Notfalldiagnostik idealerweise folgende Aufgaben:

1. Identifikation von Patienten, die im Falle eines ischämischen Schlaganfalls für eine Thrombolyse in Frage kommen,
2. Identifikation von Patienten, die im Falle einer schweren (intrakraniellen) Blutung (z.B. wegen einer aktuell wirksamen Antikoagulation) einer Normalisierung der Gerinnung bedürfen

und zusätzlich

3. Identifikation von Patienten, die ohne Verzögerung bzw. medikamentöser Normalisierung der Gerinnung, einer dringenden (operativen) Intervention zugeführt werden können.

Um zu verstehen, welche Voraussetzungen ein POC-Gerinnungstestgerät erfüllen muss um in der heutigen Zeit als sinnvolles Diagnostikum in der Notfallmedizin zum Einsatz zu kommen, soll im Folgenden auf die Grundlagen der plasmatischen Gerinnung und Charakteristika der aktuell zum Einsatz kommenden Antikoagulanzen eingegangen werden:

## **1.2. Plasmatische Gerinnung und therapeutische Antikoagulation**

### **1.2.1. Die plasmatische Gerinnung**

Zusammen mit der zellulären Gerinnung, die im Wesentlichen auf der Thrombozytenaggregation beruht, bildet die plasmatische Gerinnung das hämostatische System des Menschen. Das plasmatische Gerinnungssystem besteht aus im Blutplasma gelösten Gerinnungsfaktoren, die enzymatisch miteinander interagieren und im Falle einer Aktivierung des Gerinnungssystems über eine konsekutive gegenseitige Aktivierung (Gerinnungskaskade) letztendlich die Bildung und Vernetzung von Fibrin-Fäden und damit die Formierung eines stabilen Blutgerinnsels auslösen.

Nach dem klassischen Gerinnungsmodell unterscheidet man einen intrinsischen und extrinsischen Pfad der plasmatischen Gerinnung, wobei im intrinsischen Pfad zunächst Hageman-Faktor (Faktor XII) aktiviert wird, der wiederum Plasma-Thromboplastin-Antecedent (Rosenthal-Faktor = Faktor XI) aktiviert, der wiederum (Calcium-abhängig) Christmas-Faktor (Faktor IX) aktiviert, der wiederum (Calcium- und Phospholipid-abhängig) antihämophilen Faktor (A) (Faktor VIII) aktiviert, der wiederum Stuart-Prower-Faktor (Faktor X) aktiviert.<sup>[23,24](#)</sup>

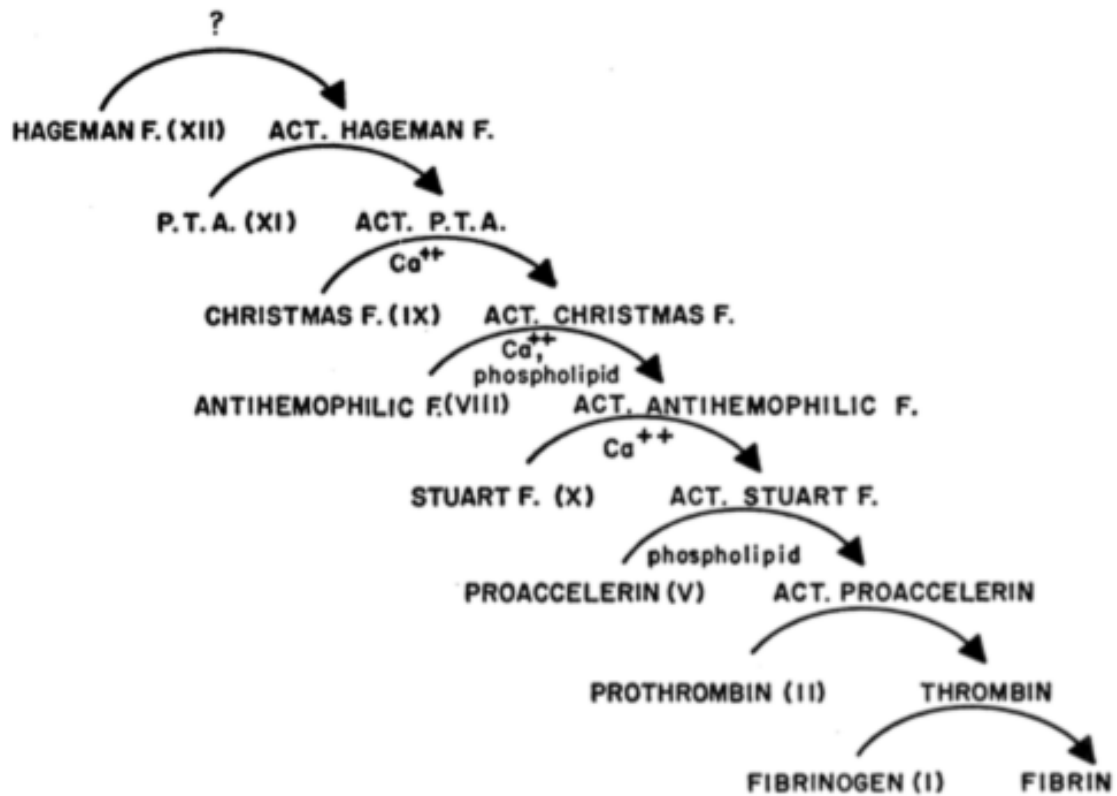


Abbildung 1: Plasmatische Gerinnung – Intrinsischer Pfad

Quelle: Davie EW und Ratnoff OD. Science 1964; 145(3638):1310-2.<sup>23</sup>

Bei der extrinsischen Aktivierung kommt im Rahmen von Verletzungen der Gefäßwand das austretende Blut mit subendotheliale Gewebefaktor (Synonyme: *tissue factor* (TF), Gewebethromboplastin, Faktor III) in Kontakt. Gewebefaktor aktiviert Proconvertin (Faktor VII) und bildet mit diesem einen Komplex, der wiederum Faktor X in seine aktive Form überführen kann.<sup>25</sup>

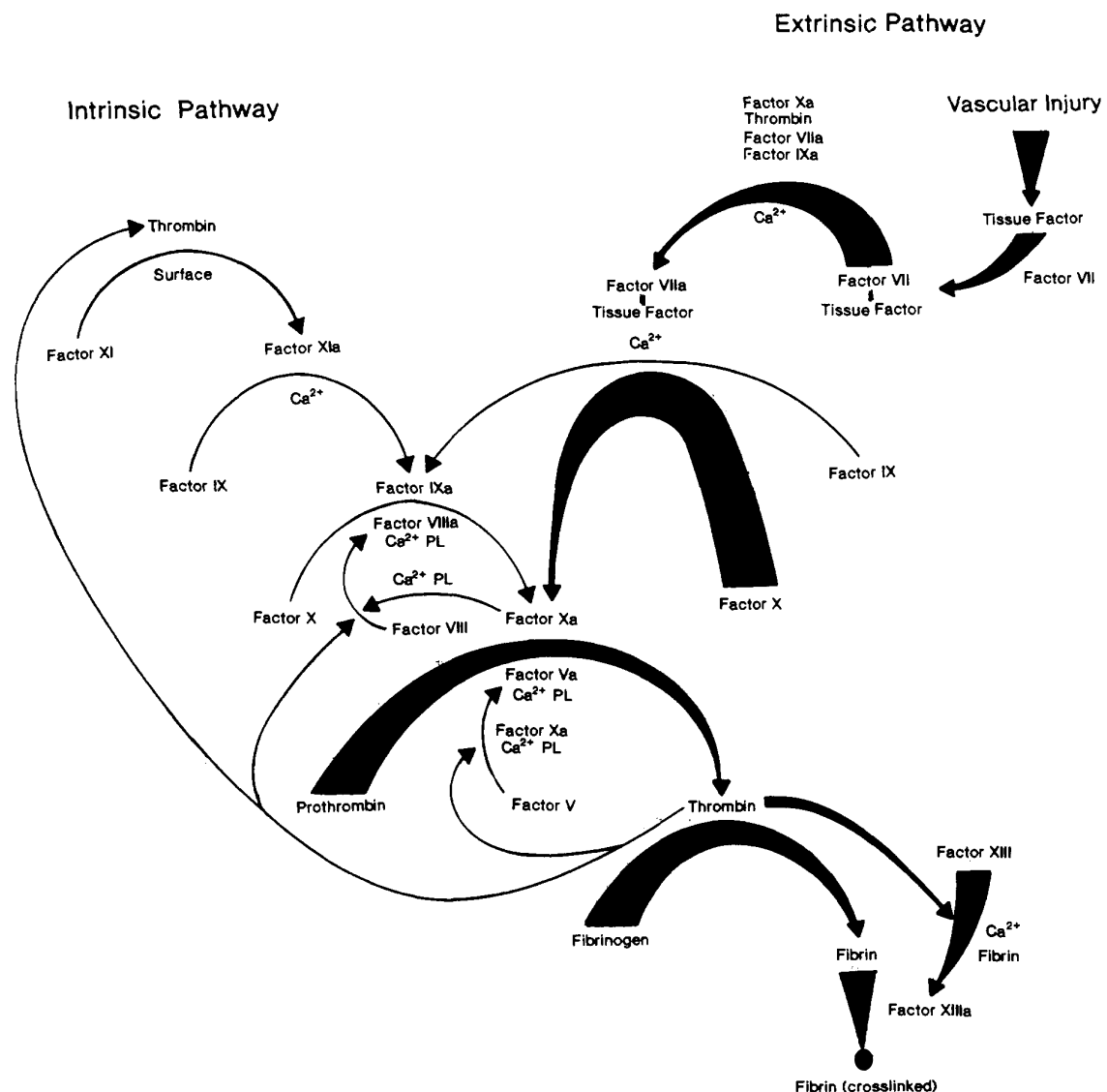


Abbildung 2: Plasmatische Gerinnung - Extrinsischer Pfad

Quelle: Davie EW et al. Biochemistry 1991; 30(43):10363-70. [25](#)

Beide Kaskaden haben gemeinsam, dass Faktor Xa eine Umsetzung von Prothrombin (Faktor II) zu Thrombin (Faktor IIa) katalysiert, welches wiederum gelöstes Fibrinogen (Faktor I) zu Fibrinfäden polymerisieren lässt. Hierdurch und durch eine Faktor XIIIa-abhängige Quervernetzung der Fibrinfäden kommt es zur Bildung eines stabilen Blutgerinnsels (Thrombus). [26-28](#)

Obwohl sich die plasmatische Gerinnung in vitro auch in Plättchen-armem Plasma – also ohne das Zutun von Thrombozyten – aktivieren lässt und zur Bildung stabiler Thromben führt, geht man heutzutage davon aus, dass in vivo

eine stärkere Interaktion der Thrombozyten mit den plasmatischen Gerinnungsfaktoren stattfindet.<sup>29</sup> Dieses zellbasierte Gerinnungsmodell beschreibt einen dreiphasigen Ablauf der Gerinnung, der sich in Initiation (Bildung eines tissue factor/Faktor VII-Komplexes an extravaskulären Zellen, der zu einer Aktivierung von Faktor X, Faktor V und schließlich Faktor II führt), Amplifikation (Aktivierung von Thrombozyten über Faktor IIa und den Kontakt zur extrazellulären Matrix, Ausschüttung von Faktor V aus alpha-Granula an die und Anreicherung von Faktor VIIIa auf der Oberfläche der Thrombozyten) und Propagation (Bildung von Faktor VIIIa/IXa (Tenase)- und Faktor Va/Xa (Prothrombinase)-Komplexen auf der Thrombozyten-Oberfläche, Aktivierung von Faktor X durch den Tenase-Komplex und Aktivierung von Faktor II in großen Mengen durch den Prothrombinase-Komplex) einteilen lässt.

Trotz der deutlichen Unterschiede zum klassischen und einfacheren Kaskadenmodell bestätigt sich auch in diesem Modell, dass bestimmten Gerinnungsfaktoren (wie z.B. dem Faktor II) eine zentrale Rolle zukommt. Daraus lässt sich folglich ableiten, dass eine unphysiologisch niedrige Konzentration oder funktionelle Hemmung von Gerinnungsfaktoren zu einer Abnahme der Gerinnbarkeit des Blutes führt. Wird ein solcher Zustand absichtlich durch die Gabe von Medikamenten herbeigeführt, spricht man von einer (therapeutischen) Antikoagulation.

Durch Rudolf Virchow (1821 - 1902) wurde bereits in der Mitte des 19. Jahrhunderts die Theorie formuliert, dass es nicht spontan, sondern unter ganz bestimmten Voraussetzungen – nämlich durch Veränderungen der Gefäßinnenwand (Endothel), der Strömungseigenschaften des Blutes oder der Viskosität des Blutes – zur Bildung von Blutgerinnseln kommt.<sup>30</sup> Selbstverständlich waren ihm viele moderne Erkenntnisse der Hämostase damals unbekannt, aber diese sogenannte „Virchow-Trias“ ist bis heute allgemein anerkanntes Lehrbuchwissen.

Bei Auftreten von für Thrombosen prädisponierenden Zuständen oder Erkrankungen wie zum Beispiel der Immobilisierung nach operativen Eingriffen am Bewegungsapparat oder Vorhofflimmern werden bereits seit langem

prophylaktisch Antikoagulanzen zur Prävention und Behandlung von tiefen Beinvenenthrombosen, damit einhergehenden Thromboembolien (Lungenembolien) und arterio-arteriellen bzw. kardialen Thromboembolien und Schlaganfällen verwendet.<sup>31,32</sup> Der unphysiologisch erhöhten Gerinnbarkeit des Blutes wird also eine therapeutische Antikoagulation entgegengesetzt.

### 1.2.2. Antikoagulanzen

Prinzipiell lassen sich die therapeutisch eingesetzten Antikoagulanzen in direkt und indirekt wirksame sowie in oral einzunehmende und parenteral zu verabreichende Präparate einteilen. Direkt wirksame Antikoagulanzen, die enteral verfügbar sind, werden konsequenterweise direkte orale Antikoagulanzen (DOAK) genannt. Tabelle 1 gibt eine (nicht vollständige) Übersicht über aktuell für die klinische Anwendung relevante Antikoagulanzen:

**Tabelle 1: Antikoagulanzen**

Quelle (sofern nicht explizit angegeben): Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information. Anatomisch-therapeutisch-chemische Klassifikation mit Tagesdosen - Amtliche Fassung des ATC-Index mit DDD-Angaben für Deutschland im Jahre 2019<sup>33</sup>

	oral	parenteral
direkte	<p><u>DOAK mit anti-IIa-Wirkung:</u> Dabigatran<sup>34</sup></p> <p><u>DOAK mit anti-Xa-Wirkung:</u> Apixaban<sup>35</sup> Edoxaban<sup>36</sup> Rivaroxaban<sup>37</sup></p>	<p><u>mit anti-IIa-Wirkung:</u> Hirudin-Derivate (Lepirudin, Desirudin, Bivalirudin), Argatroban</p> <p><u>mit anti-Xa-Wirkung:</u> niedermolekulare Heparine (z.B. Certoparin, Dalteparin, Enoxaparin, Nadroparin, Reviparin, Tinzaparin)</p> <p>Heparinoide (z.B. Danaparoid)</p> <p>Oligosaccharide (z.B. Fondaparinux)</p>
indirekte	<p>Vitamin K-Antagonisten: Dicoumarol (historisch)<sup>38</sup>, Cumarine (Phenprocoumon, Warfarin, Acenocumarol)</p>	<p>unfraktioniertes Heparin (Wirkung ist Antithombin III-abhängig)</p>



Nicht in die Kategorie der Antikoagulanzen fallen die Thrombozytenfunktionshemmer, wie z.B. Acetylsalicylsäure oder Adenosindiphosphat(ADP)-Antagonisten, und die Fibrinolytika, wie z.B. Urokinase, Streptokinase und Plasminogenaktivatoren, wie z.B. Alteplase (rtPA). Sie spielen zwar für die Schlaganfallmedizin auch eine wichtige Rolle, stehen aber nicht im Fokus dieser Arbeit.

Umso mehr soll auf die klinisch relevanten direkten Thrombininhibitoren, also Medikamente mit einer anti-Faktor IIa-Wirkung, eingegangen werden:

### **1.2.1. Klinische Anwendungsgebiete direkter Thrombininhibitoren**

Die Stammsubstanz dieser Gruppe von Medikamenten ist Hirudin, ein ursprünglich aus dem Speichel des medizinischen Blutegels (*Hirudo medicinalis*) isoliertes antikoagulatorisch wirkendes Polypeptid.<sup>39,40</sup> Analoga des Hirudins sind nach wie vor in der klinischen Anwendung.

Vor allem wegen der von Heparinen und Heparinoiden abweichenden polypeptiden und nicht-polysacchariden Struktur eignen sich Hirudine zur Behandlung der Heparin-induzierten Thrombozytopenie (HIT) und werden in der Erstlinientherapie beim Typ 2 der HIT empfohlen (z.B. Bivalirudin).<sup>41</sup>

Als Weiterentwicklung der Hirudine kamen ab 2005 sogenannte „univalente“ (d.h. nur an einem katalytischen Zentrum des Thrombin bindende) direkte Thrombininhibitoren auf den Markt: zunächst Argatroban, später das oral verfügbare Dabigatran (Pradaxa®), welches 2008 für die Behandlung und Prophylaxe von tiefen Beinvenenthrombosen zugelassen wurde. 2011 erfolgte die Zulassungserweiterung auf die Prophylaxe von ischämischen Schlaganfällen und systemischen Thromboembolien bei Patienten mit Vorhofflimmern.<sup>42</sup>

Aber nicht nur der Auswahl und Anwendung der Antikoagulanzen kommt in der klinischen Routine eine Bedeutung zu, sondern – wie bereits weiter oben

ausgeführt – auch der Überwachung der Blutgerinnung während der Behandlung; insbesondere in der Notfallsituation.

### 1.3. Evaluation der plasmatischen Gerinnung

Bereits in den 1930er-Jahren wurden standardisierte Testmethoden für die Bestimmung von normalen und verlängerten Gerinnungszeiten entwickelt. Bei der von Armond J. Quick etablierten, heute auch *Quick-Test* genannten, Methode wird einer (mit Zitrat versetzten) Plasmaprobe Gewebefaktor (extrahiert aus Kaninchenhirn) und Kalzium (zur Bindung von Zitrat) zugesetzt.<sup>43</sup> Die Gerinnung läuft (in Thrombozyten-armem Plasma) entsprechend der in Abbildung 2 beschriebenen extrinsischen Gerinnungskaskade ab. Die Zeit bis zu Bildung eines stabilen Gerinnsels wird als Prothrombinzeit (englisch: *prothrombin time*, PT) bezeichnet. Durch die Depletion von Vitamin-K-abhängig synthetisiertem Prothrombin (und anderen Gerinnungsfaktoren) wird die PT verlängert, was den Quick-Test zu einem essentiellen Instrument zur Überwachung der Gerinnung unter Behandlung mit Vitamin-K-Antagonisten macht.

Ein anderer grundlegender Gerinnungstest ist die partielle Thromboplastinzeit (englisch: *partial thromboplastin time*, PTT). „Partiell“ deshalb, weil die Gerinnungskaskade im Gegensatz zur PT ursprünglich durch einen „partiellen“, besonders Kephalin-reichen, Hirngewebeextrakt aktiviert wird.<sup>44</sup> Die PTT – und ihre z.B. durch zugegebenes Kaolin „aktivierte“ Version: aPTT – bilden eher Veränderungen des intrinsischen Gerinnungspfads ab.<sup>45,46</sup> Sie stellt zudem eine einfache Methode zur Abbildung der Wirkung von unfraktioniertem Heparin (UFH) dar.<sup>47</sup>

Auch heutzutage werden die Reagenzien, die für diese Standard-Gerinnungstests benötigt werden, noch aus ähnlichen Substraten und nach ähnlichen Methoden hergestellt. Die PT wird zur besseren Standardisierung von Diagnostik und Therapie zumeist mit Hilfe eines *internationalen*

*Sensitivitätsindex (ISI)* in eine *international standardized ratio (INR)* umgerechnet ( $INR = (PT_{\text{Test}} / PT_{\text{normal}})^{ISI}$ ).<sup>48,49</sup>

Parallel zur Entdeckung und Entwicklung neuer Antikoagulationsverfahren und Gerinnungsstörungen wurden aber auch weitere Testverfahren entwickelt. Diese lassen sich prinzipiell unterteilen in Verfahren, bei denen die tatsächliche Bildung eines Gerinnsels (englisch: *clot*) Teil des Testverfahrens ist (*clot*-basierte Tests) und solche, bei denen die enzymatische Aktivität einzelner Gerinnungsfaktoren die an sich nicht-physiologische enzymatische Umsetzung von Testreagenzien katalysiert. Diese Reaktionen sind in der Regel mit der Bildung eines Farbstoffs verbunden und werden daher als chromogen bezeichnet.<sup>50</sup> Sie erlauben sehr exakte Aussagen über die Konzentration einzelner Gerinnungsfaktoren und werden nicht durch abnorme Konzentrationen anderer Gerinnungsfaktoren beeinflusst. Nachteil ist, dass aufgrund der starken Lichtabsorption des Hämoglobins unbedingt Blutplasma als Probenmaterial verwendet werden muss.

In dieser Arbeit liegt der Fokus auf einem POC-Testsystem. POC-Testsysteme sind darauf ausgelegt, in möglichst wenigen Schritten (in der Regel: Aktivierung des POC-Testsystems – Einlegen einer Probenaufnahme (Test-Karte, -Küvette, -Streifen), Entnahme von Blut und unmittelbares Eingeben der Probe in die Testkammer, Erhalt des Messergebnisses innerhalb weniger Sekunden oder Minuten) und somit mit möglichst wenig Zeitverzögerung ein Testergebnis zu erzeugen. Sie verwenden daher Vollblut. Die Verwendung von Blutplasma ist angesichts der aufwändigen Herstellung (Zentrifugation/Pipettieren) nicht mit dem POC-Gedanken vereinbar.

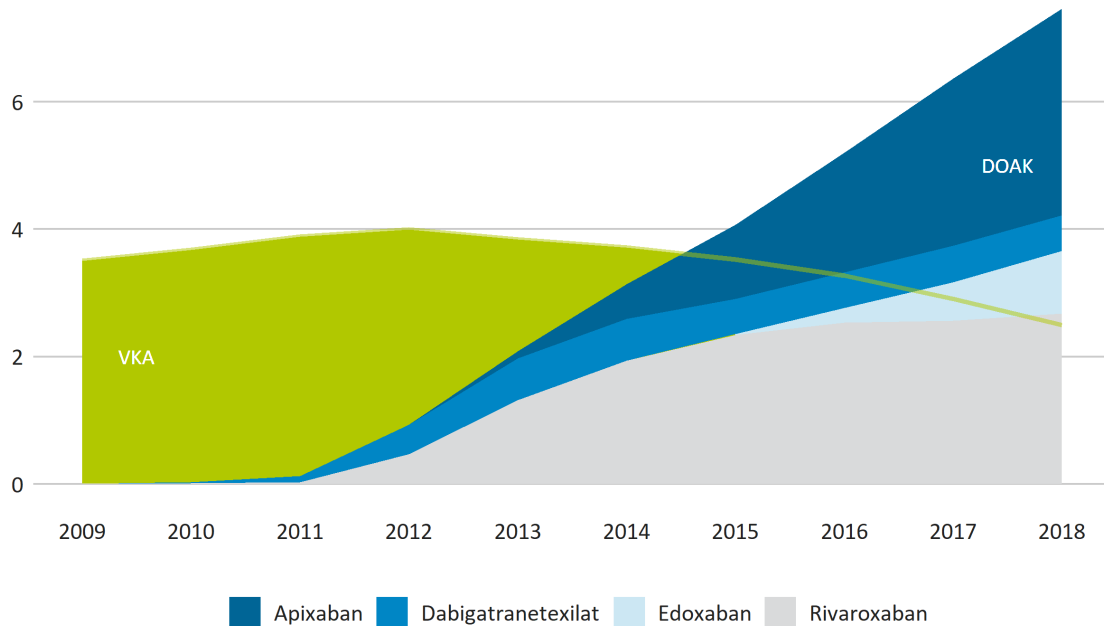
Einen Spezialfall innerhalb der *clot*-basierten Verfahren stellt die (Rotations-)Thrombelastometrie/-graphie (ROTEM®, TEG®) dar, die über die Messung des mechanischen Widerstands während der Rotation eines Probengefäßes die Festigkeit eines sich formierenden (und auch im Verlauf wieder auflösenden) Blutgerinnsels, in Abhängigkeit verschiedener

Reagenzien, eine Vielzahl verschiedener Gerinnungsparameter bestimmen kann.<sup>51</sup> Prinzipiell werden diese Verfahren wegen der Verwendung von Vollblut und der einfachen Handhabbarkeit auch als POC-Gerinnungstestverfahren bezeichnet, die Messzeiten dieser Geräte sind allerdings im Vergleich zu POC-Adaptionen von Standard-Gerinnungsparametern (z.B. PT/INR) signifikant länger und sie dienen auch eher zur Diagnostik und Differenzierung komplexerer (z.B. posttraumatischer oder perioperativer) Gerinnungsstörungen.<sup>52</sup>

### **1.4. Bedeutung der Point-of-Care Gerinnungstestung unter DOAK-Behandlung für Neurologen und Notfallmediziner**

Insbesondere aufgrund der hohen Vorhofflimmer-Prävalenz<sup>1</sup> stellt die therapeutische Antikoagulation im Bereich der neurovaskulären Medizin eine wichtige Behandlungsmethode dar. Da die DOAK (aktuell von der US-amerikanischen Food and Drug Administration (FDA) und European Medicines Agency (EMA) zugelassen sind Apixaban, Dabigatran, Edoxaban und Rivaroxaban) die Vitamin K-Antagonisten (VKA) in den Indikationen der Therapie und Prävention von venösen Thrombosen und Embolien sowie der Prävention ischämischer Schlaganfälle langsam aber sicher verdrängen, steigt die Zahl der Patienten, die mit DOAK behandelt werden, unweigerlich an.<sup>53</sup> Gut illustrieren lässt sich das durch eine grafische Darstellung der VKA- und DOAK-Verschreibungszahlen im kassenärztlichen Bereich in Deutschland über das vergangene Jahrzehnt hinweg:

Anzahl Verordnungen in Mio.



**Zi** Datenbasis: Vertragsärztliche Arzneimittelverordnungen 2009-2018

**Abbildung 3: Verschreibungsstatistik der VKA und DOAK in Deutschland 2009-2018**

Quelle: Zentralinstitut für die Kassenärztliche Versorgung in Deutschland ([www.zi.de](http://www.zi.de))<sup>54</sup>

Ursachen für diese Verdrängung sind – trotz der höheren Kosten – mehrere Vorteile der DOAK gegenüber der VKA:

Diese liegen zum einen in ihrer einfacheren Anwendung. Alle vier aktuell zugelassenen DOAK werden je nach Indikation, Alter, Gewicht und Nierenfunktion des Patienten in festen Tagesdosen verabreicht. Ein therapeutisches Drug Monitoring wie bei den VKA ist nicht vorgesehen.<sup>55-58</sup>

Zum anderen versprechen sie aufgrund der nachweislich niedrigeren Rate schwerer Blutungskomplikation eine höhere Sicherheit gegenüber den VKA: Insbesondere in dem für die Neurologie interessanten Patientengut derer mit Vorhofflimmern haben die DOAK gegenüber VKA durchweg eine signifikant niedrigere Rate an intrakraniellen Blutungen.<sup>59-62</sup> Teilweise sind DOAK sogar in der Schlaganfallprophylaxe überlegen<sup>59,60</sup>.

**Tabelle 2: Jährliche Komplikationsraten der DOAK im Vergleich zu Warfarin**

In der RE-LY-Studie wurden zwei unterschiedliche Dabigatran-Dosen untersucht. Die Angaben beziehen sich auf 2x110mg pro Tag und 2x150mg pro Tag. Die RE-LY-Studie ergab (1) eine gegenüber Warfarin signifikant niedrigeres Risiko für Schlaganfälle und arterielle Embolien bei Patienten, die mit 2x150mg Dabigatran pro Tag behandelt wurden, (2) ein gegenüber Warfarin signifikant niedrigeres Risiko für schwere Blutungen bei Patienten, die mit 2x110mg Dabigatran pro Tag behandelt wurden, und (3) ein gegenüber Warfarin signifikant niedrigeres Risiko für intrakranielle Blutungen in beiden Dabigatran-Behandlungsgruppen. Auch in der ENGAGE-AF (TIMI 48)-Studie wurden zwei unterschiedliche Edoxaban-Dosen untersucht (30 und 60mg pro Tag). Beide Dosisregime waren der Behandlung mit Warfarin in Bezug auf das Risiko für Schlaganfälle und arterielle Embolien nicht unterlegen und in Bezug auf schwere und intrakranielle Blutungen überlegen.

\*statistisch signifikant niedriger gegenüber der Warfarin-Gruppe

	Apixaban ARISTOTLE <sup>59</sup>	Dabigatran RE-LY <sup>60</sup>	Edoxaban ENGAGE-AF <sup>61</sup>	Rivaroxaban ROCKET-AF <sup>62</sup>
Schlaganfall / art. Embolie	<b>1,27*</b> vs. 1,60%	1,53 bzw. <b>1,11*</b> vs. 1,69%	2,04 bzw. 1,57 vs. 1,80%	1,7 vs. 2,2%
schwere Blutungen*	<b>2,13*</b> vs. 3,09%	<b>2,71*</b> bzw. 3,11 vs. 3,36	<b>1,61*</b> bzw. <b>2,75*</b> vs. 3,43	3,6 vs. 3,4%
intrakranielle Blutung	<b>0,33*</b> vs. 0,80%	<b>0,23*</b> bzw. <b>0,30*</b> vs. 0,74%	<b>0,26*</b> bzw. <b>0,39*</b> vs. 0,85%	<b>0,5*</b> vs. 0,7%

In denselben Studien wurde allerdings auch festgestellt, dass unter Behandlung mit DOAK ein jährliches Schlaganfallrisiko von ca. 1-2% bestehen bleibt.<sup>59-62</sup> Angesichts steigender Verordnungszahlen wird dadurch zwangsläufig auch die Zahl der Komplikationen unter DOAK-Behandlung steigen.

Wenn ein mit DOAK behandelter Patient nun einen Schlaganfall erleidet, eine Blutungskomplikation auftritt oder ein invasiver Eingriff dringend indiziert ist, muss die Entscheidung über eine Thrombolyse bzw. die Behandlung mit einem Antidot oder Gerinnungsfaktoren – wie in Kapitel 1.1.2 dargestellt – in Abhängigkeit von der Gerinnungssituation getroffen werden. Und auch bei dringend indizierten Operationen wird das Hämostase-Management erschwert, da Standard-Gerinnungsparameter wie die PT oder die aPTT niedrige aber bereits klinisch relevante DOAK-Plasmakonzentrationen nicht ausreichend zuverlässig detektieren.<sup>63,64</sup>

Antidota der DOAK sind aktuell eingeschränkt verfügbar, teuer<sup>65,66</sup> und potentiell nebenwirkungsträchtig.<sup>67,68</sup> Sie sollten daher mit Bedacht – also ebenfalls auf dem Boden adäquater Gerinnungsdiagnostik – eingesetzt werden.

Wie bereits weiter oben dargestellt, haben randomisierte Therapiestudien beim ischämischen und hämorrhagischen Schlaganfall klar gezeigt, dass die Chancen für einen Therapieerfolg vom zeitlichen Abstand zwischen dem Beginn der neurologischen Symptomatik und der effektiven Behandlung abhängen.<sup>9,69</sup> Das Ziel des innerklinisch behandelnden Neurologen oder Notfallmediziners muss daher sein, die Zeit zwischen Einlieferung des Patienten durch den Rettungsdienst und der Einleitung einer Notfalltherapie – z.B. einer intravenösen Thrombolyse beim ischämischen Schlaganfall oder der medikamentösen Normalisierung der Gerinnung – so stark zu reduzieren wie möglich. Für den ischämischen Schlaganfall lässt sich bei dieser sogenannten *door-to-needle-time* aufgrund der mittlerweile umfangreichen Datenlage sogar im Minutenbereich ein positiver Effekt errechnen.<sup>70</sup> Bei antikoagulierten Patienten sollte vor der Entscheidung über eine intravenöse Thrombolyse (im Falle eines ischämischen Schlaganfall), der Substitution von Gerinnungsfaktoren oder eines DOAK-Antidots (im Falle einer schweren oder intrakraniellen Blutung) oder der Freigabe für eine dringliche Operation der Gerinnungsstatus bekannt sein. Geschieht dies nicht, riskiert man im Falle der Thrombolyse eine ggf. unkontrollierbare intrazerebrale Blutung<sup>71</sup> oder die unnötige Gabe von teuren und möglicherweise komplikationsbehafteten Antidota.<sup>68</sup>

Die Notwendigkeit für eine schnelle und genaue Gerinnungsdiagnostik bei Schlaganfallpatienten, die mit DOAK behandelt werden, liegt somit auf der Hand.

### 1.4.1. Behandlungsgrenzwerte für VKA und DOAK und deren Einhaltung

Auf der Basis von Registerdaten aus dem *American Heart Association Get With The Guidelines-Stroke Registry*<sup>72</sup> und dem *Safe Implementation of Thrombolysis in Stroke (SITS) International Stroke Thrombolysis Register*<sup>73</sup> konnte für Patienten, die mit VKA behandelt werden, ein klarer INR-basierter Behandlungs-Grenzwert für die intravenöse Thrombolyse von  $\leq 1,7$  definiert werden, die auch in die europäischen Leitlinien miteinbezogen wurde.<sup>74</sup>

Für die DOAK (also Apixaban, Dabigatran, Edoxaban und Rivaroxaban) besteht auf der Basis von Expertenempfehlung – das heißt, ohne empirische Datenbasis – in aktuellen Leitlinien im Falle der Thrombolyse ein Grenzwert von  $\leq 30$  ng/mL (European Stroke Organisation (ESO)<sup>75</sup>) bzw.  $\leq 50$  ng/mL (*Société Française de Neurologie Vasculaire* (SFNV) und *Groupe Français d'Etudes sur l'Hémostase et la Thrombose* (GFHT)<sup>76</sup>). Dieselben Werte wurden auch als Behandlungsgrenzwerte vor dringlichen operativen Eingriffen<sup>77,78</sup> und für die Anwendung von Antidota unter DOAK-Behandlung im Falle einer schweren Blutung<sup>75,78</sup> empfohlen.

Für Patienten, die mit VKA behandelt werden, stehen schon seit längerem PT/INR-POC-Testsysteme zur Verfügung (z.B. CoaguChek (Roche Diagnostics, Rotkreuz, Schweiz), i-Stat (Abbott Laboratories, Chicago, IL, USA) und Hemochron (Instrumentation Laboratory, Bedford, MA, USA), etc.). Diese Geräte haben sich im klinischen Gebrauch etabliert und bewährt, weil sie die Messung der bei VKA-Patienten essentiellen INR im Vergleich zu einem Labor-basierten Test wesentlich beschleunigen und damit die Zeit zwischen Eintreffen eines Patienten in der Notaufnahme und dem Beginn einer effektiven Therapie (also die *door-to-needle-time*) deutlich reduzieren.<sup>19,20</sup>

Bei Patienten, die mit DOAK behandelt werden, stellt der Anspruch auf eine schnelle und genaue Beurteilung der Gerinnungssituation eine gewisse Herausforderung dar: Da Standard-Gerinnungstests die antikoagulatorische Wirkung der DOAK nicht adäquat widerspiegeln, eignen sie sich nicht als Entscheidungshilfe.<sup>79</sup> Die aktuell verfügbaren Labor-basierten anti-IIa- und anti-



Xa-spezifischen Gerinnungstests (z.B. diluierte Thrombinzeit, Ecarin-Gerinnungszeit oder chromogene Assays bzw. anti-Xa-Aktivität für Apixaban, Edoxaban und Rivaroxaban) haben lange Messzeiten<sup>19,20</sup> und gehören nicht zum Standardrepertoire der meisten Krankenhauslabore.<sup>80</sup>

Kommerziell bereits verfügbare POC-Geräte, mit denen die Durchführung von Globaltests wie PT und/oder *activated clotting time* (ACT) möglich ist, können Auskunft über moderat erhöhte DOAK-Konzentrationen geben. Ihre diagnostischen Möglichkeiten im Bereich niedriger Konzentrationen sind jedoch eingeschränkt.<sup>81,82</sup> Für DOAK-spezifische Gerinnungs-POC-Testsysteme existieren aktuell noch keine wissenschaftlichen Untersuchungen.

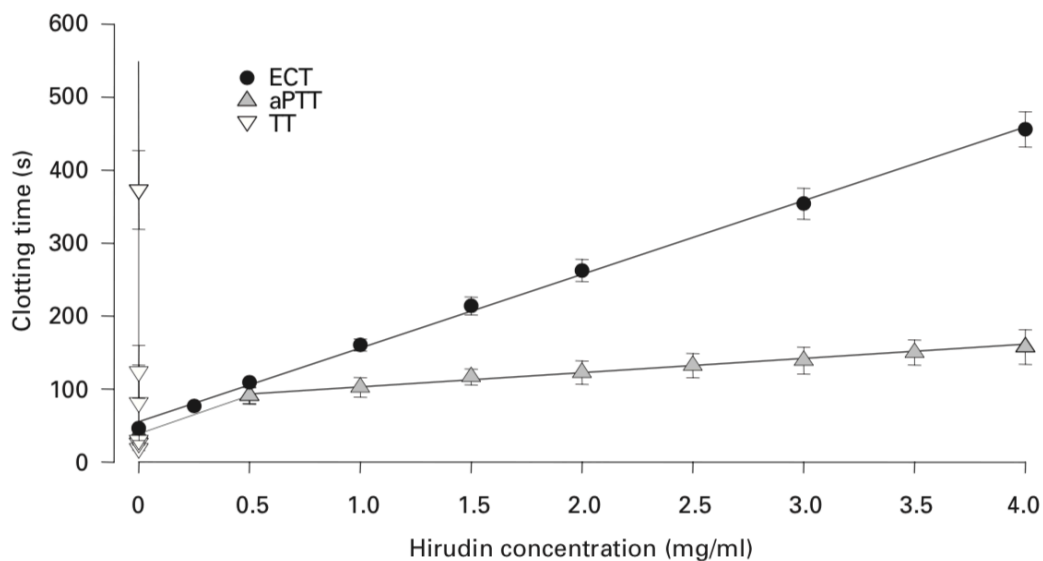
Aufgrund ihrer potentiellen Eignung für die Gerinnungstestung bei Patienten, die mit Dabigatran behandelt werden, liegt der Fokus dieser Arbeit auf dem *clot*-basierten Testverfahren der Ecarin-Gerinnungszeit (engl. *ecarin clotting time*, ECT).

### 1.4.2. Die Ecarin-Gerinnungszeit

Ecarin, das entscheidende Reagenz für die Bestimmung der ECT, ist in seiner natürlichen Form im Gift der Gemeinen Sandrasselotter (*Echis carinatus*) enthalten.<sup>83,84</sup> Ecarin bewirkt bei Kontakt mit menschlichem Blut die Umwandlung von Prothrombin (Faktor II) in Meizothrombin, einem Intermediat zwischen Prothrombin und Thrombin (Faktor IIa) mit dem gleichen Molekulargewicht wie Prothrombin aber einer niedrigeren prokoagulatorischen enzymatischen Aktivität.<sup>85</sup> Die Zeit zwischen der Zugabe von Ecarin zu einer Blutprobe und der Bildung eines Thrombus kann als ECT gemessen werden.

Mit dem Aufkommen von Hirudin und seinen (rekombinanten) Derivaten in der Medizin ergab sich die Notwendigkeit der zuverlässigen Messung direkter Thrombinaktivität zur Überwachung der Behandlung mit diesen Medikamenten.

Die ECT stellte sich hierfür als besonders geeignet heraus, da sie sehr spezifisch nur die Aktivität von direkten Thrombininhibitoren abbildet; und dies über einen breiten Dosisbereich hinweg linear.<sup>86</sup> Selbst Heparin, das auch eine anti-Thrombin-Aktivität besitzt, verlängert die ECT nicht, da es nicht mit Meizothrombin interagiert. Lediglich eine starke Depletion von Prothrombin und Fibrinogen kann die ECT-Messung beeinflussen.<sup>86</sup>



**Abbildung 4: ECT, aPTT und TT zur Messung des direkten Thrombininhibitors Hirudin**

Quelle: Nowak G. Pathophysiol Haemost Thromb 2003; 04;33:173–183.<sup>86</sup>

Eine Weiterentwicklung der ECT sind chromogene Ecarin-Gerinnungstests, bei denen eine Lösung aus Prothrombin mit einer Plasmaprobe versetzt wird und die Meizothrombin-abhängige Freisetzung von p-Nitroaniline (pNA) aus Tosyl-glycyl-L-prolyl-L-arginine-p-nitroanilide zu einer zunehmenden Absorption von Licht mit der Wellenlänge 405 nm führt.<sup>87</sup>

Dieser Assay wird nicht durch die Abweichungen der Thrombin- und Fibrinogen-Konzentrationen im Patientenplasma beeinflusst und erlaubt eine störungsfreie (kalibrierte) Bestimmung der Aktivität von direkten Thrombininhibitoren. Die Verwendung dieser chromogenen Tests kommt für ein POC-Testverfahren allerdings nicht in Frage, da sie die Verwendung von

Plasma zwingend voraussetzen, weil optisch zu dichtes Vollblut eine Messung des Farbumschlags im Plasma nicht erlaubt.

Zusammenfassend ist durch die Zunahme der Anwendung von Dabigatran der potentielle Anwendungsbereich der ECT gewachsen.<sup>88</sup> Trotzdem ist dieser Assay nicht unbedingt Teil des diagnostischen Standardrepertoires von klinischen Laboren geworden.<sup>89</sup>

Daten über eine als POC-Assay verfügbare ECT – oder überhaupt Dabigatran-spezifische POC-Gerinnungstestung – existierten bis zur Veröffentlichung von Härtig et al.<sup>90</sup> im Januar 2021 nicht.

### **1.5. Ziel und Hypothese der zugrundeliegenden Studie**

Das Ziel der dieser Arbeit zugrundeliegenden Studie war, das Cascade® Abrazo POC-Testgerät in Kombination mit der *Direct Thrombin Monitoring* (DTM) Testkarte der Firma Helena Laboratories (Beaumont, TX, USA) auf die Möglichkeit der anti-II-Aktivitäts-spezifischen Gerinnungsmessung hin zu untersuchen. Dieser DTM Assay misst eine ECT und wurde ursprünglich für die Überwachung der Gerinnung bei Patienten entwickelt, die im Rahmen einer Katheterintervention Bivalirudin (ein intravenös zu applizierendes Hirudin-Derivat mit selektiver anti-IIa-Wirkung) erhalten.<sup>91</sup>

Die der Arbeit zugrundeliegende Hypothese war, dass eine signifikante Korrelation der per Point-of-Care-Messung erhobenen ECT (POC-ECT) mit den per Hochleistungs-Flüssigchromatographie/ Tandemmassenspektrometrie (englisch: *ultra-performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry*; UPLC-MS/MS) gemessenen Dabigatran-Plasmakonzentrationen besteht. Weitere Endpunkte der Studie waren die Sensitivität und Spezifität, Likelihood-Quotienten, negativ und positiv prädiktive Werte sowie eine Grenzwertoptimierungsanalyse (englisch: *receiver operating characteristics*; (ROC)-Analyse). Explorativ wurde auch die Übereinstimmung kalibrierter

Messwerte einer Zitratplasma-basierten POC-ECT mit den Ergebnissen der UPLC-MS/MS untersucht und mit gängigen Labor-basierten anti-IIa-spezifischen Gerinnungstests verglichen.

Nach unserem Wissen ist die dieser Arbeit zugrundeliegende Studie die erste klinische Evaluation eines anti-IIa-spezifischen Gerinnungstests auf POC-Basis.

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Cascade® Abrazo

Das Cascade® Abrazo ist ein POC-Testgerät, das in Kombination mit unterschiedlichen Testkarten die Durchführung gängiger (plasmatischer) Gerinnungstests (z.B. PT/INR, aPTT, ACT) ermöglicht.



**Abbildung 5: Das Cascade® Abrazo Gerinnungsschnelltestgerät der Firma Helena Laboratories (Beaumont, TX, USA)**

Quelle: Cascade® Abrazo Operator Manual [92](#)

## **2.1. Direct Thrombin Monitoring - Gerinnungstestkarte**

In Kombination mit der DTM-Testkarte, kann das Cascade® Abrazo POC-Testsystem eine ECT messen. Die theoretische Methodik der Ecarin-Gerinnungszeitmessung ist in Kapitel 1.4.2 detailliert beschrieben.

Nachdem die Testkarte in einen dafür vorgesehenen Schlitz im Gerät eingeführt wurde (vgl. Abbildung 5), wird die Testkammer auf 37°C erwärmt. Danach kann die zu untersuchende Probe auf die Probenvertiefung (vgl. Abbildung 6 (3)) gegeben werden und diese wird durch Kapillarkräfte in die Reaktionskammer (vgl. Abbildung 6 (1)) gesaugt. Die Reaktionskammer enthält unter anderem Ecarin, Calcium, Puffersubstanzen sowie magnetische Eisenoxid-Partikel. Sobald die Probe in die Reaktionskammer gelangt, löst sie das lyophilisierte Reagenz und stößt damit die Gerinnungskaskade an. Das Messprinzip beruht dabei – genau wie bei allen anderen für das Gerät verfügbaren Gerinnungstests – auf der optischen Abtastung der schwarzen Eisenoxid-Partikel, die sich gegenüber der optischen Einheit unterhalb der Reaktionskammer befinden und durch einen Elektromagneten hin und her bewegt werden (vgl. Abbildung 7). Je stärker die Gerinnungsreaktion innerhalb der Reaktionskammer voranschreitet, umso stärker wird die Ablenkung der Eisenoxid-Partikel gehemmt. Die Anwesenheit eines Thrombininhibitors verzögert die Bildung eines Thrombus proportional zu seiner Konzentration (vgl. Kapitel 1.4.2).

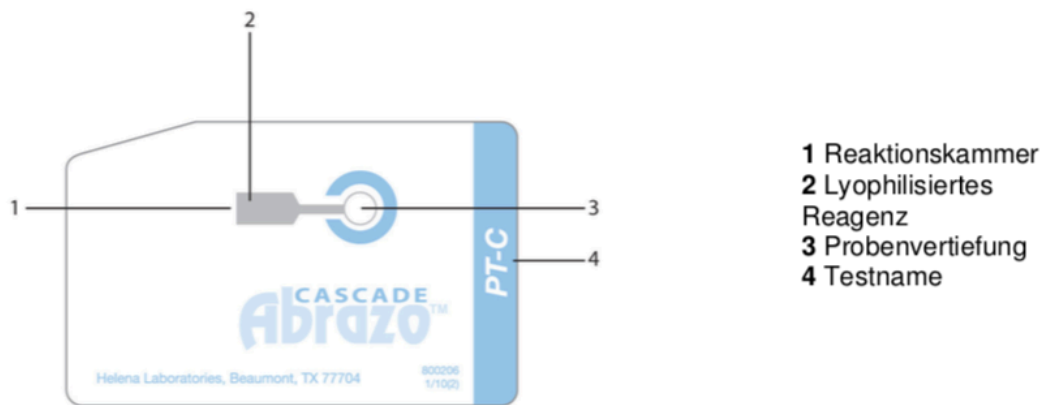


Abbildung 6: Aufbau der Testkarte

Quelle: Cascade® Abrazo Operator Manual<sup>92</sup>

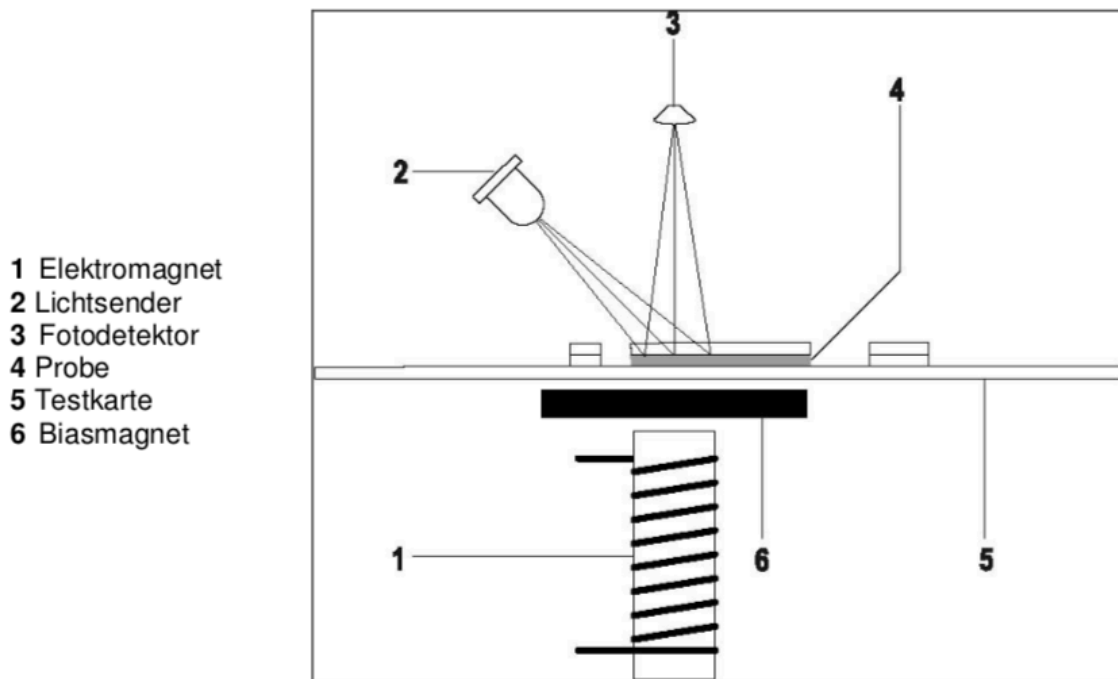


Abbildung 7: Aufbau der Messvorrichtung

Quelle: Cascade® Abrazo Operator Manual<sup>92</sup>

## 2.2. Studiendesign und Studienzentren

Die für diese Forschungsarbeit durchgeführte Studie war eine prospektive monozentrische diagnostische Studie mit verblindeter Probenvermessung.

Die Studie erhielt vor dem Beginn der Patientenrekrutierung (und damit vor allen studienabhängigen Untersuchungen an Patienten) ein positives Votum der zuständigen unabhängigen Ethikkommission der Universität Tübingen (Protokoll-Nummer: 270/2015BO1). Die Studie erhielt zudem einen Eintrag im klinischen Studienregister *clinicaltrials.gov* unter der Nummer NCT02825394.<sup>93</sup>

Die Studie wurde in den Kliniken für Neurologie (Hoppe-Seyler-Straße 3, 72076 Tübingen) und Innere Medizin III – Kardiologie und Kreislauferkrankungen (Otfried-Müller-Straße 10, 72076 Tübingen) durchgeführt. Beide sind Abteilungen des Universitätsklinikums Tübingen.

Geplant wurde die Rekrutierung von 40 Patienten, von denen 20 im Rahmen der Dabigatran-Ersteinnahme und 20 im Verlauf einer bereits bestehenden Behandlung mit Dabigatran in die Studie eingeschlossen werden sollten, um das POC-Testsystem an einem möglichst breiten Wirkstoffkonzentrationspektrum untersuchen zu können.

### **2.1. Ein- und Ausschlusskriterien**

Die Einschlusskriterien lauteten wie folgt:

- Geplante Einleitung einer Behandlung mit Dabigatran oder bereits etablierte Behandlung mit Dabigatran
- Alter  $\geq 18$  Jahre
- Schriftliche Zustimmung zur Teilnahme an der klinischen Studie

Die Ausschlusskriterien lauteten wie folgt:

- Einnahme von VKA oder anderen DOAK  $\leq 14$  Tage vor Teilnahme an der Studie (Zeitpunkt der ersten Gerinnungsmessung)
- Einnahme von UFH  $\leq 12$  Stunden vor Teilnahme an der Studie
- Einnahme von niedermolekularem Heparin (NMH)  $\leq 24$  Stunden vor Teilnahme an der Studie



- Einnahme von Heparinoiden (z.B. Fondaparinux, etc.)  $\leq 72$  Stunden vor Teilnahme an der Studie
- Einnahme von anderen direkten Thrombininhibitoren als Dabigatran  $\leq 72$  Stunden vor Teilnahme an der Studie
- Einnahme anderer DOAK als Dabigatran  $\leq 72$  Stunden vor Teilnahme an der Studie
- Bekannte Koagulopathie

*Im Falle eines Einschlusses vor der ersten Einnahme von Dabigatran:*

- Spontan auffällige Gerinnungsparameter (d.h. INR  $> 1,2$ , Quick  $< 70\%$  oder aPTT  $> 37$  Sekunden)

### **2.2. Probengewinnung und Gerinnungsmessungen**

Von jedem Patienten wurden an sechs vordefinierten Zeitpunkten venöse Blutproben entnommen: vor der ersten oder einer regulären Einnahme von Dabigatran, 30 Minuten, eine, zwei und acht Stunden nach der Einnahme, sowie unmittelbar vor der folgenden Einnahme von Dabigatran. Die Abnahmen liefen jeweils folgendermaßen ab: Vollblut wurde direkt in eine nicht-zitrierte, nicht-heparinisierte Spritze (Injekt, B.Braun, Melsungen, Germany) aufgezogen und innerhalb von 15 Sekunden auf die DTM-Testkarte des Cascade® Abraso gegeben um eine POC-ECT zu messen. Zusätzliches Blut wurde in Standard-Gerinnungsprobenröhrchen (S-Monovette Citrate 3.2%, Sarstedt, Nümbrecht, Germany) aufgezogen um zitriertes Vollblut zu erhalten. Aus einer kleinen Menge zitriertem Vollblut wurde dann erneut eine POC-ECT bestimmt. Der Rest des Zitratvollbluts wurde über 15 Minuten bei 2.500 g zentrifugiert (EBA 20, Hettich AG, Bäch/SZ, Schweiz) um Zitratplasma zu erhalten. Aus einer kleinen Menge Zitratplasma wurde eine dritte POC-ECT bestimmt. Zusätzlich zu den POC-ECT-Messungen wurden der chromogene Biophen Direct Thrombin Inhibitor Test (BDTI, Reagenz: Hyphen BioMed, Neuville-sur-Oise, Frankreich) auf einem Siemens Sysmex CS5100 (Siemens Healthcare Diagnostics,

Eschborn) verwendet, der im Konzentrationsbereich 0 bis 500 ng/mL kalibriert wurde und eine geschätzte Dabigatran-Plasmakonzentration angibt.

Zusätzlich zu den anti-IIa-spezifischen Gerinnungstests führten wir zum Zeitpunkt der ersten Messung auch globale Gerinnungstests durch (PT/INR und aPTT)), sowie Bestimmungen von kleinem Blutbild, Elektrolyten, inflammatorischen Markern, Gesamtprotein/Albumin, Leber- und Nierenfunktionstests.

Die an jedem Messzeitpunkt gewonnenen Zitratplasma-Proben wurden bei -80°C im Studienzentrum der Abteilung für Neurologie mit Schwerpunkt neurovaskuläre Erkrankungen des Universitätsklinikums Tübingen gelagert und später gesammelt tiefgefroren an das Institut für Laboratoriums- und Transfusionsmedizin des Herz- und Diabeteszentrums NRW der Ruhr-Universität Bochum in Bad Oeynhausen verschickt. Dort wurde unter Leitung von Dr. rer. nat. Joachim Kuhn und PD Dr. med. Dr. rer. nat. Ingvild Birschmann mittels einer bereits veröffentlichten Methodik<sup>94</sup> per UPLC-MS/MS die Dabigatran-Plasmakonzentration gemessen. Dieses Verfahren stellt den aktuellen Gold-Standard für die Bestimmung von DOAK-Konzentrationen dar.<sup>95</sup>

Zusätzlich zu den UPLC-MS/MS-Messungen erfolgte am Institut für Laboratoriums- und Transfusionsmedizin die Bestimmung einer Labor-basierten ECT (Reagenz: STA-ECA II von Diagnostica Stago, Asnieres-sur-Seine, Frankreich; auf einem Siemens BCS von Siemens Healthcare Diagnostics, Eschborn). Alle POC- und Labor-basierten Tests wurden von gut ausgebildetem und eingewiesenem Personal (Ärzte und Laborpersonal) entsprechend der Herstellerangaben durchgeführt.

### **2.3. Verblindung**

Alle Bediener des Cascade® Abrazo POC-Testsystems waren für die Ergebnisse aller anderen Gerinnungstests und die der UPLC-MS/MS verblindet.

Die externen Labormitarbeiter, die die UPLC-MS/MS-Messungen durchführten, waren für die Ergebnisse aller vorausgegangenen Gerinnungstests inklusive der POC-ECT und außerdem für die Patientenummer und den Abnahmezeitpunkt verblindet. Die externen Labormitarbeiter, die die Laborbasierte ECT-Messungen durchführten, waren für die Ergebnisse aller vorausgegangenen Gerinnungstests, die Ergebnisse der UPLC-MS/MS-Messungen und für die Patientenummer und den Abnahmezeitpunkt verblindet. Die Laborbasierten globalen Gerinnungsmessungen (PT/INR, aPTT) und der BDTI wurden im Zentrallabor des Universitätsklinikums Tübingen quasi voll automatisiert im Routinebetrieb durchgeführt. Das Laborpersonal war für die Ergebnisse der POC-ECT, der UPLC-MS/MS und der Laborbasierten ECT verblindet.

### **2.4. Kalibration und Nachweisgrenze**

Um die Möglichkeit und Genauigkeit von kalibrierten POC-ECT-Messungen von Dabigatran-Plasmakonzentrationen zu untersuchen, analysierten wir 138 asservierte Zitratplasmaproben, die in zwei vorausgegangenen Studien<sup>81,82</sup> gesammelt wurden. Die POC-ECT-Ergebnisse wurden mit den massenspektrometrisch gemessenen Dabigatran-Plasmakonzentrationen korreliert um eine Regressionsgerade zu erzeugen. Die Gleichung der Regressionsgeraden wurde dann zur Umrechnung der POC-ECT-Ergebnisse aus Zitratplasmamessungen in geschätzte Dabigatran-Plasmakonzentrationen verwendet. Die Nachweisgrenze wurde mit Hilfe der POC-ECT-Werte bestimmt, die bei den Dabigatran-naiven Patienten im Rahmen der ersten Blutentnahme erhoben wurden. Die kalibrierte Dabigatran-Plasmakonzentration wurde anhand der Kalibrationsfunktion bestimmt. Arithmetischer Mittelwert (MW;  $\bar{x}$ ) und Standardabweichung (SA;  $\delta$ ) der Messergebnisse wurden errechnet. Als Nachweisgrenze wurde nach DIN 32645 der arithmetische MW dieser Leer-Messwerte plus drei Standardabweichungen festgelegt (Nachweisgrenze =  $\bar{x}$  +

3d).<sup>96</sup> Für weitere Analysen wurden alle Werte unterhalb der Nachweisgrenze als 0 ng/mL definiert.

## **2.5. Inter-Assay Varianz, Interaktion mit Heparin und anderen DOAK (Faktor-Xa-Inhibitoren) und In-Vitro Antagonisierung des Dabigatran-Effekts durch Idarucizumab (Praxbind®)**

Zusätzlich zu den beschriebenen Hauptversuchen wurde eine Reihe von in-vitro Messreihen durchgeführt um die Inter-Assay-Varianz der POC-ECT, die Interaktion mit Heparin und anderen DOAK (Faktor-Xa-Inhibitoren) mit den Messergebnissen und die Möglichkeit der adäquaten Abbildung der (in-vitro) Antagonisierung des Dabigatran-Effekts durch Idarucizumab (Praxbind®) durch den POC-ECT-Assay zu untersuchen:

### **2.5.1. Inter-Assay Varianz**

Um die Streuung der POC-ECT Messergebnisse zu quantifizieren bestimmten wir die Inter-Assay Varianz mit Hilfe der relativen SA bzw. des Variationskoeffizienten. Dieser wurde durch eine wiederholte POC-ECT-Messungen aus mehreren Zitratplasmaproben (Normalplasma, Zitratplasma von Studienpatienten und kommerziell verfügbare Dabigatran-Kalibratorlösungen der Firma Hyphen BioMed (Neuville-sur-Oise, Frankreich)) folgendermaßen bestimmt: aus Normalplasma und zwei Dabigatran-Kalibratorlösungen unterschiedlicher Konzentration wurden jeweils 34 POC-ECT gemessen, aus den beiden Patientenproben (aufgrund des niedrigeren Probenvolumens) jeweils 16 POC-ECT. Der Variationskoeffizient wurde durch die Division der SA der Messungen durch den arithmetischen MW und eine Multiplikation mit 100% bestimmt.

### **2.5.2. Interaktion mit Heparin und anderen DOAK (Faktor-Xa-Inhibitoren)**

Um die Empfindlichkeit des DTM-Tests für UFH zu testen, wurden sechs Zitratplasmaproben von unterschiedlichen Patienten aufgetaut, erneut per POC-ECT vermessen, dann mit UFH (Heparin-Natrium Braun Multi, B. Braun, Melsungen, Germany) in der Dosis von einem, zwei und vier internationalen Einheiten pro mL (IU/mL) versetzt und dann erneut vermessen.

Um die Empfindlichkeit des Tests für direkte oralen Faktor-Xa-Inhibitoren und NMH zu testen, versetzten wir einzelne Proben einer kommerziell verfügbaren Dabigatran-Kalibratorlösung (Hyphen BioMed, Neuville-sur-Oise, Frankreich) mit anti-Xa-Kalibratorlösungen von Apixaban, Edoxaban, Rivaroxaban und NMH (Edoxaban: Hyphen BioMed, Neuville-sur-Oise, Frankreich; Apixaban, Rivaroxaban, und NMH: Technoclone, Wien, Österreich).

Die POC-ECT wurde bestimmt aus (1) den einzelnen anti-Xa-Kalibratorlösungen (Apixaban, Edoxaban, Rivaroxaban und NMH), (2) einer 1:1-Verdünnung aus anti-Xa-Kalibratorlösung und Normalplasma, (3) einer 1:1-Verdünnung aus Dabigatran-Kalibratorlösung und Normalplasma und (4) einer 1:1-Verdünnung aus Dabigatran-Kalibratorlösung und anti-Xa-Kalibratorlösung. In allen Verdünnungen (2-4) sind daher die Konzentrationen der einzelnen Wirkstoffe jeweils halbiert.

### **2.5.3. In-Vitro Antagonisierung des Dabigatran-Effekts durch Idarucizumab (Praxbind®)**

Idarucizumab ist ein humanisiertes Antikörper-Fragment mit Antigen-bindender variabler Region (*Fab*), das äquimolar und irreversibel an Dabigatran-Moleküle bindet und sie dadurch funktionell inaktiviert.<sup>97</sup> Idarucizumab hat im Rahmen

der REVERSE-AD-Studie gezeigt, dass es in der klinischen Anwendung nach einmaliger intravenöser Infusion den antikoagulatorischen Dabigatran-Effekt quasi unmittelbar und langfristig vollständig aufheben kann, was sich in einer Normalisierung der aPTT, der diluierten Thrombinzeit und der ECT niederschlägt.<sup>98</sup> Mittlerweile ist der Wirkstoff zugelassen und unter dem Namen Praxbind® (Boehringer Ingelheim) im Handel. Um festzustellen, ob die Aufhebung der antikoagulatorischen Wirkung von Dabigatran durch das einzige zugelassene Antidot gegen Dabigatran auch von der POC-ECT erfasst wird, führten wir eine in-vitro-Messreihe durch.

Wir teilten vier Patientenproben in je vier Aliquots à 250 µL. Bei einer molaren Masse von 471.5 g/mol<sup>99,100</sup> bzw.  $4,715 \times 10^{11}$  ng/mol enthielten die Proben  $2,121 \times 10^{12}$  mol/ng Dabigatran.

**Tabelle 3: In-Vitro Antagonisierung von Dabigatran (Dabigatran-Proben)**

Plasma-Probe	Dabigatrankonzentration	Dabigatran-Menge in 250 µL
39B2	72 ng/mL	18 ng $\pm$ 0,038 nmol
40B4	128 ng/mL	32 ng $\pm$ 0,069 nmol
39B3	134 ng/mL	33,5 ng $\pm$ 0,071 nmol
34B4	246 ng/mL	61,5 ng $\pm$ 0,130 nmol

Mit Hilfe von Normalplasma stellten wir zwei Idarucizumab-Verdünnungsstufen (1:500 und 1:250) her; dann aus Normalplasma und verdünnten Idarucizumab-Lösungen im Verhältnis 40/10 µL, 25/25 µL und 0/50 µL die Zugaben für die Antagonisierung der Dabigatran-Proben. Bei einer molaren Masse von 47.766 g/mol<sup>100,101</sup> enthielt die 1:500-Verdünnung 0,105 nmol pro 50µL und die 1:250-Verdünnung 0,209nmol pro 50µL. Die entsprechend für das Antagonisierungsexperiment verwendeten Idarucizumab-Konzentrationen und molaren Mengen sind in Tabelle 4 aufgeführt:

**Tabelle 4: In-vitro Antagonisierung von Dabigatran (Idarucizumab-Zugabe)**

VI: verdünnte Idarucizumab-Lösung, NP: Normalplasma

1:500-Verdünnung	<b>10 µL VI (1:500)</b> und 40 µL NP	<b>25 µL VI (1:500)</b> und 25 µL NP	<b>50 µL VI (1:500)</b>
Idarucizumab-Konzentration	20 µg/mL	50 µg/mL	100µg/mL
Idarucizumab-Menge in 50µL	0,021 nmol	0,052 nmol	0,105 nmol
1:250-Verdünnung	<b>10 µL VI (1:250)</b> und 40 µL NP	<b>25 µL VI (1:250)</b> und 25 µL NP	<b>50 µL VI (1:250)</b>
Idarucizumab-Konzentration	40 µg/mL	50 µg/mL	200µg/mL
Idarucizumab-Menge in 50µL	0,042 nmol	0,105 nmol	0,209 nmol

Die ersten beiden Proben (72 ng/mL und 128 ng/mL) wurden mit stärker verdünntem Idarucizumab (1:500), die zweiten beiden Proben (134 ng/mL und 246 ng/mL) mit weniger stark verdünntem Idarucizumab (1:250) versetzt. Den Tabellen ist zu entnehmen, dass sich hierdurch unterschiedliche molare Mischungsverhältnisse zwischen Dabigatran und Idarucizumab ergeben.

Um den Effekt der Zugabe des verdünnten Idarucizumab zu messen wurde zunächst nach Zugabe von 50 µL Normalplasma eine Probemessung mittels POC-ECT und kalibrierter BDTI durchgeführt. Danach wurden die Proben einzeln wie oben beschrieben mit den unterschiedlichen Idarucizumab-Zugaben gemischt. Aus diesen insgesamt zwölf Proben wurde ebenfalls POC-ECT und kalibrierter BDTI bestimmt.

## 2.6. Statistische Methoden

Pearsons Korrelationskoeffizient wurde verwendet um die Stärke der Korrelation zwischen den Ergebnissen aller Gerinnungstests und den tatsächlichen Dabigatran-Plasmakonzentrationen zu bestimmen. Die diagnostische Genauigkeit im Hinblick auf die Detektion von klinisch relevanten Dabigatran-Plasmakonzentrationen (also >30 bzw. >50 ng/mL) wurde in Form von Sensitivität, Spezifität, positivem und negativem prädiktivem Wert und des

Likelihood-Quotienten angegeben; inklusive der jeweiligen 95%-Konfidenzintervalle.

Die Sensitivität ist dabei definiert durch den Anteil der Testergebnisse oberhalb des Test-Grenzwerts, die die Proben, die klinisch relevante Dabigatran-Plasmakonzentrationen enthalten (also theoretisch von einem Patienten stammen, bei dem Kontraindikationen für eine Thrombolyse oder einen operativen Eingriff bestehen bzw. der im Falle einer schweren Blutung ein Antidot erhalten sollte), korrekt als solche identifizieren. Die Spezifität ist definiert durch den Anteil der Testergebnisse unterhalb des oder gleich dem Test-Grenzwert, die die Proben, die Dabigatran-Plasmakonzentrationen unterhalb des oder gleich dem Behandlungsgrenzwert enthalten, als solche identifizieren. Der positive prädiktive Wert (PPW) ist definiert durch den Anteil der Proben, die tatsächlich klinisch relevante Dabigatran-Konzentrationen enthalten, an all denen Proben, die durch ein Testergebnis oberhalb des Test-Grenzwert als solche identifiziert wurden. Der negative prädiktive Wert (NPW) ist definiert durch den Anteil der Proben, die tatsächlich keine klinisch relevanten Dabigatran-Konzentrationen enthalten, an all denen Proben, die durch ein Testergebnis unterhalb des oder gleich dem Test-Grenzwert als solche identifiziert wurden.

Für alle möglichen Kombinationen aus beiden Behandlungsgrenzwerten und Gerinnungstests (POC-ECT aus Vollblut, Zitratvollblut und Zitratplasma sowie Labor-basierte ECT und Labor-basierter BDTI) wurden Grenzwertoptimierungskurven (englisch: *ROC curve*) erstellt und die Fläche unter der Kurve (englisch: *area under the ROC curve*; AUROC) berechnet um ein weiteres Qualitätsmaß der jeweiligen Messmethode zu erhalten. Der ideale Test-Grenzwert wurde nicht wie üblich anhand eines optimierten Youden-Index<sup>102</sup> definiert sondern als das niedrigste Testergebnis, welches eine Sensitivität von mindestens 95% ergibt. Der Grund hierfür ist, dass eine zu hohe Rate an falsch-negativen Befunden in der Praxis ein hohes Risiko für relevante Blutungskomplikationen bergen würde, so dass einer hohen Sensitivität Priorität eingeräumt werden muss. Die 95%-Konfidenzintervalle wurden nach der *efficient score method* von Newcombe<sup>103</sup> berechnet. Benutzt



wurde hierfür der frei verfügbare VassarStats Clinical Calculator 1.<sup>104</sup> Die AUROC der einzelnen Testmethoden wurden für beide klinischen Behandlungsgrenzwerte miteinander verglichen. Hierfür wurde der VassarStats Clinical Calculator verwendet, dessen Berechnungen auf Empfehlungen von Hanley und McNeil basieren.<sup>105</sup> (Die Labor-basierte ECT wurde hierfür als Referenz verwendet.)

SPSS Version 24 (IBM, Armonk, NY, USA) wurde für alle übrigen statistischen Analysen, Microsoft Excel® für MAC 2011 für die Erstellung von Punkte- und Bland-Altman-Diagrammen<sup>106</sup> sowie der ROC-Kurven benutzt. Die Bland-Altman-Diagramme wurden nach Vorschlägen von Krouwer<sup>107</sup> angepasst. MW der Differenz vom Goldstandard (UPLC-MS/MS), SA und die lineare Regression wurden für alle Gerinnungstests über den gesamten Datenbereich und zusätzlich fokussiert auf den Bereich der niedrigen Dabigatran-Plasmakonzentrationen (von 0 bis 100 ng/mL) berechnet. Die Abweichung der jeweiligen kalibrierten Gerinnungstests vom Goldstandard wurde per Einstichproben-t-Test überprüft.

Für alle statistischen Tests wurde ein zweiseitiges  $\alpha$ -Level von  $<0.05$  als statistisch signifikant angesehen.

### **2.7. Finanzierung der Studie - Interessenkonflikte**

Die für die Durchführung der Studie notwendigen Materialien (Cascade® Abrazo POC-Testgerät und die DTM-Testkarten) wurden von Helena Laboratories kostenfrei zur Verfügung gestellt. Darüber hinaus erfolgte keine weitere (z.B. finanzielle) Unterstützung der Studie.

Helena Laboratories hatte keinen Einfluss auf das Studiendesign, die Erhebung, Analyse oder Interpretation der Daten.

### 3. Ergebnisse

Die im Folgenden präsentierten Ergebnisse wurden im Rahmen der Arbeit *Specific Point-of-Care Testing of Coagulation in Patients Treated with Dabigatran* von Härtig et. al. im Januar 2021 im Fachjournal *Thrombosis and Haemostasis* publiziert.<sup>90</sup>

#### 3.1. Klinische Studie

Zwischen September 2015 und April 2016 gaben 42 Patientinnen und Patienten ihr Einverständnis für die Teilnahme an der klinischen Studie. 40 von ihnen wurden eingeschlossen; 20 erhielten nach der ersten Messung im Rahmen der Studie die erste Dabigatran-Gabe, 20 wurden bereits vor Einschluss in die Studie mit Dabigatran behandelt. Zwei Patienten wurden nicht in die Studie eingeschlossen, weil sie die Einschlusskriterien nicht erfüllten. Alle wesentlichen Basisdaten zu den eingeschlossenen Patienten wurden erfasst, ausgewertet und sind in Tabelle 5 zusammengefasst. Auch die Basis-Labordaten wurden ausgewertet und sind in Tabelle 6 zusammengefasst. 240 Blutproben wurden wie oben beschrieben gesammelt und analysiert. Keine Probe ging in der Analyse verloren. Die Proben enthielten laut massenspektrometrischer Analyse Dabigatran in Konzentrationen von 0 bis 275 ng/mL. Die POC-Messungen ergaben POC-ECT-Werte zwischen 20 und 186 Sekunden (Vollblut), zwischen 20 und 184 Sekunden (Zitratvollblut) bzw. zwischen 20 und 316 Sekunden (Zitratplasma). Die kalibrierte Labor-basierte ECT ergab geschätzte Dabigatran-Plasmakonzentrationen von 0 bis 265 ng/mL und die kalibrierte Labor-basierte BDTI geschätzte Dabigatran-Plasmakonzentrationen von 0 bis 298 ng/mL.

**Tabelle 5: Basisdaten der untersuchten Patientenpopulation**

PFO = persistierendes Foramen ovale

Stetige Variablen sind als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung dargestellt. Nominale Variablen sind in absoluten Häufigkeiten und prozentual (in Klammern) angegeben.

Quelle: Härtig et al. Thromb Haemost 2021; doi: 10.1055/s-0040-1721775.<sup>90</sup>

Alter	67 $\pm$ 14 Jahre
Weiblich	19 (47,5%)
Dabigatran Dosis	150 mg: 26 (65%) 110 mg: 14 (35%)
Körpergewicht	78 $\pm$ 16,5 kg
Body Mass Index (BMI)	27 $\pm$ 4,3 kg/m <sup>2</sup>
<i>Kardiovaskuläre Risikofaktoren</i>	
Arterielle Hypertension	27 (68%)
Hyperlipidämie	20 (50%)
Diabetes mellitus	10 (25%)
Früherer Schlaganfall	26 (65%)
Herzinsuffizienz	8 (20%)
Koronare Herzkrankheit oder früherer Herzinfarkt	4 (10%)
Raucher	2 (5%)
Alkoholabusus	2 (5%)
<i>Indikation für Antikoagulation mit Dabigatran</i>	
Vorhofflimmern	19 (48%)
Z.n. Vorhofflimmerablation	6 (15%)
Embolischer Schlaganfall bei PFO	13 (33%)
Wiederholter kryptogener embolischer Schlaganfall	1 (3%)
Tiefe Beinvenenthrombose	1 (3%)
<i>Begleitende Thrombozytenfunktionshemmung</i>	
Acetylsalicylsäure	22 (55%)
Clopidogrel	1 (3%)

**Tabelle 6: Basis-Labordaten**

Alle Ergebnisse sind angegeben als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung

\*Werte sind angegeben für die gesamte Kohorte (N = 40) / für Patienten vor Dabigatran-Behandlung n = 20 / für Patienten unter laufender Dabigatran-Behandlung n = 20

INR = international normalized ratio, aPTT = aktivierte partielle Thromboplastinzeit, eGFR = geschätzte (estimated) glomeruläre Filtrationsrate, MDRD = nach der angepassten *Modification of Diet in Renal Disease* – Formel<sup>108</sup>, CKD-EPI = nach der *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration* – Formel<sup>109</sup>, Cockcroft-Gault = nach der *Cockcroft-Gault* – Formel<sup>110</sup>

Quelle: Härtig et al. *Thromb Haemost* 2021; doi: 10.1055/s-0040-1721775.<sup>90</sup>

Laborparameter	Ergebnis	Normwerte
Leukozyten [ $1^3/\mu\text{L}$ ]	7,980 $\pm$ 2,354	3,8 – 10,3
Erythrozyten [ $10^6/\mu\text{L}$ ]	4,3 $\pm$ 0,6	4,2 – 6,2
Hämatokrit [%]	37,4 $\pm$ 4,3	42,0 – 52,0
Hämoglobin [g/dL]	12,8 $\pm$ 1,7	14,0 – 18,0
Thrombozyten [ $10^3/\mu\text{L}$ ]	216 $\pm$ 55	150 – 450
Prothrombin Aktivität (Quick) [%] *	89 $\pm$ 14 / 97 $\pm$ 12 / 83 $\pm$ 13	70 – 120
INR *	1,1 $\pm$ 0,1 / 1,0 $\pm$ 0,1 / 1,1 $\pm$ 0,1	<1,2
aPTT [s] *	26 $\pm$ 6 / 23 $\pm$ 2 / 31 $\pm$ 6	$\leq$ 40
Fibrinogen [mg/mL]	309 $\pm$ 104	170 – 410
D-Dimere [ $\mu\text{g/mL}$ ]	2,1 $\pm$ 3,3	$\leq$ 0,5
Anti-Xa Aktivität [IU/mL]	<0,1 $\pm$ 0,0	<0,1
Serum-Kreatinin [mg/dL]	0,8 $\pm$ 0,2	0,6 – 1,1
eGFR (MDRD) [mL/min $\times$ 1.73m <sup>2</sup> ]	86 $\pm$ 28	>60
eGFR (CKD-EPI) [mL/min $\times$ 1.73m <sup>2</sup> ]	78 $\pm$ 15	>60
eGFR (Cockcroft-Gault) [mL/min]	93 $\pm$ 40	>60
Harnstoff [mg/dL]	35 $\pm$ 15	12 – 46
Protein gesamt [g/dL]	6,6 $\pm$ 0,7	6,5 – 8,5
Albumin [g/dL]	3,3 $\pm$ 0,5	3,0 – 5,0
C-reaktives Protein [mg/dL]	1,75 $\pm$ 3,41	$\leq$ 0,5
Procalcitonin [ng/mL]	0,08 $\pm$ 0,03	$\leq$ 0,1
Alanin Aminotransferase [IU/L]	30 $\pm$ 42	$\leq$ 50
Aspartat Aminotransferase [IU/L]	32 $\pm$ 20	$\leq$ 50
$\gamma$ -Glutamyltransferase [IU/L]	63 $\pm$ 75	$\leq$ 60
Cholinesterase [kIU/L]	6,9 $\pm$ 1,8	4,9 – 12,0

### **3.2. Korrelation von POC-ECT und Labor-basierten Tests mit UPLC-MS/MS**

Die folgenden Diagramme (Abbildung 8 - Abbildung 12) illustrieren die Korrelation der Messwerte. Die per UPLC-MS/MS gemessenen Dabigatran-Plasmakonzentrationen sind auf der x-Achse aufgetragen; die Messwerte der jeweiligen POC-Testverfahren bzw. der Labor-basierten kalibrierten Verfahren auf der y-Achse. Die roten senkrechten Linien zeigen die vorgeschlagenen Behandlungsgrenzwerte 30 ng/mL (durchgezogen) und 50 ng/mL (gestrichelt), die schwarzen waagrechten Linien die jeweiligen idealen Testgrenzwerte mit >95% Spezifität (durchgezogen für 30 ng/mL, gestrichelt für 50 ng/mL) an. Die Werte sind jeweils unter den Diagrammen angegeben bzw. in Tabelle 7 aufgelistet.

Die durchgezogenen schwarzen diagonalen Linien zeigen die Regressionsgeraden an. Die Regressionsgleichung und die quadrierten Pearson Korrelationskoeffizienten ( $R^2$ ) finden sich jeweils in der rechten unteren Ecke der Diagramme.

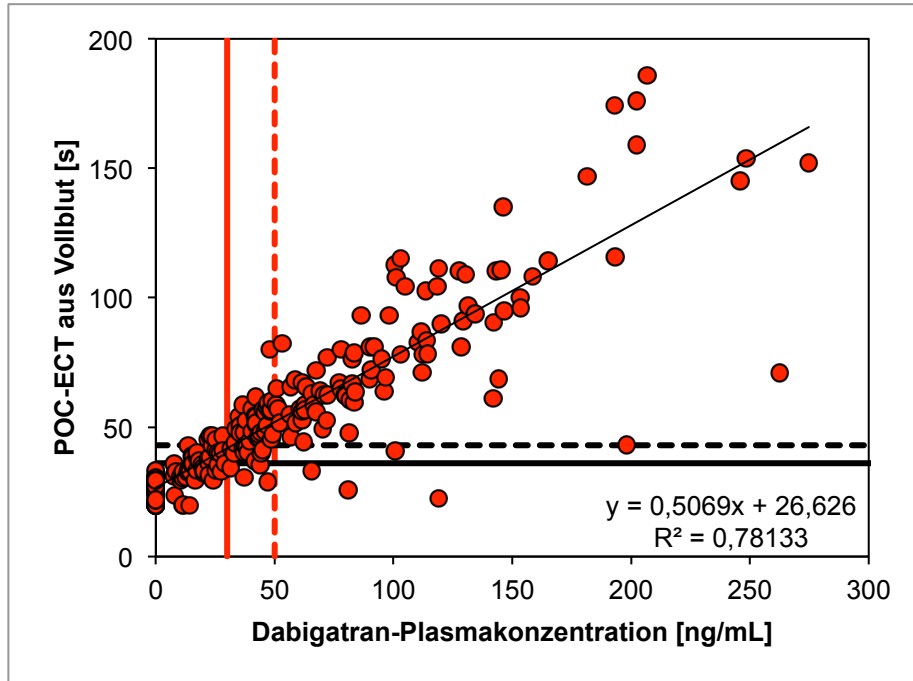


Abbildung 8: POC-ECT aus Vollblut (vergl. [90](#))

POC-ECT aus Vollblut: Der ideale Testgrenzwert für den Behandlungsgrenzwert >30 ng/mL liegt bei 36 s, der für den Behandlungsgrenzwert >50 ng/mL bei 43 s.

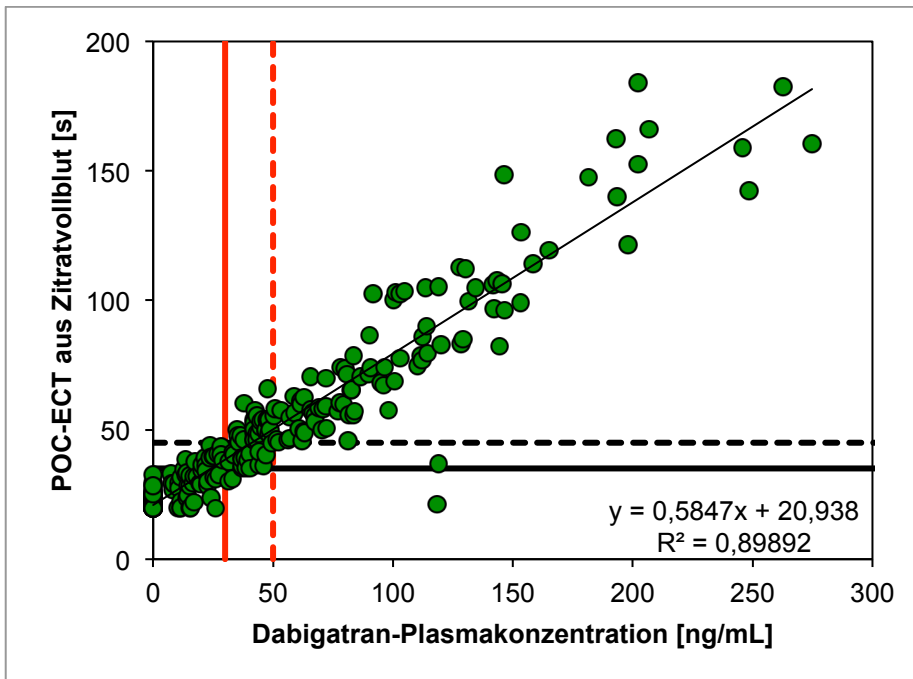


Abbildung 9: POC-ECT aus Zitratvollblut (vergl. [90](#))

POC-ECT aus Zitratvollblut: Der ideale Testgrenzwert für den Behandlungsgrenzwert >30 ng/mL liegt bei 36 s, der für den Behandlungsgrenzwert >50 ng/mL bei 43 s.

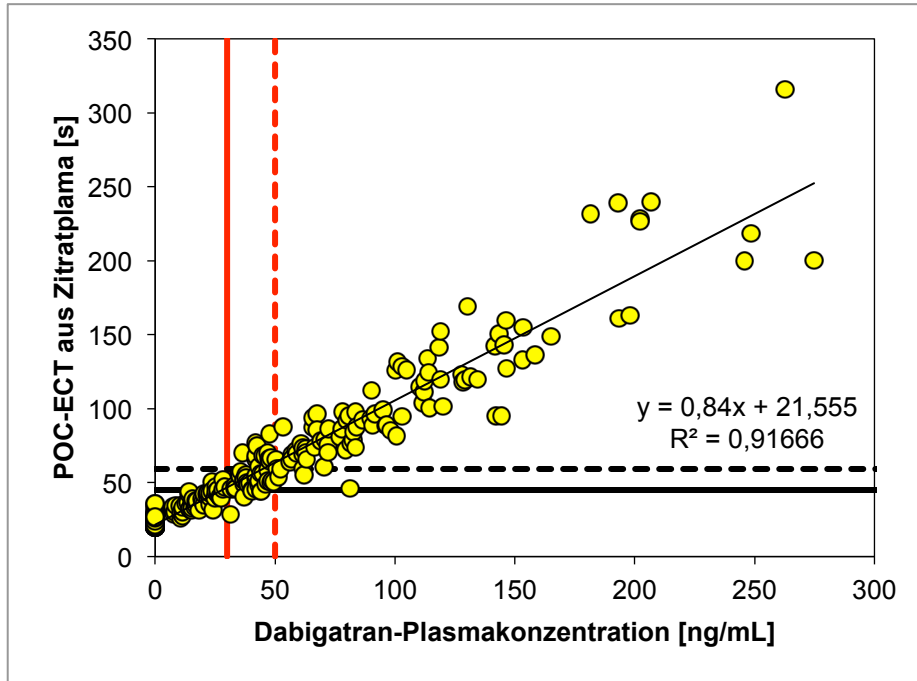


Abbildung 10: POC-ECT aus Zitratplasma (vergl. [90](#))

POC-ECT aus Zitratvollblut: Der ideale Testgrenzwert für den Behandlungsgrenzwert >30 ng/mL liegt bei 36 s, der für den Behandlungsgrenzwert >50 ng/mL bei 43 s.

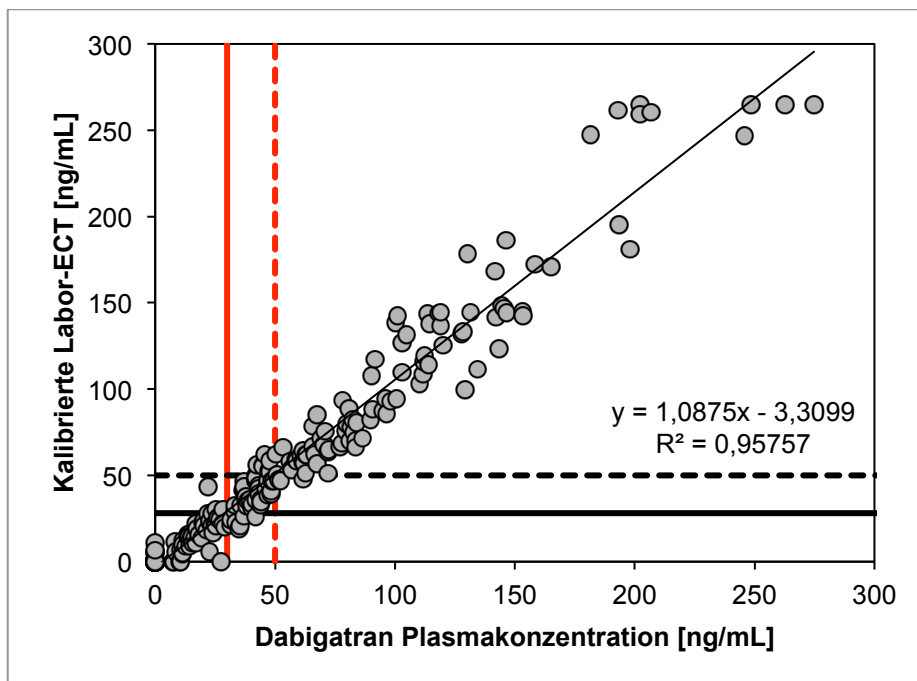
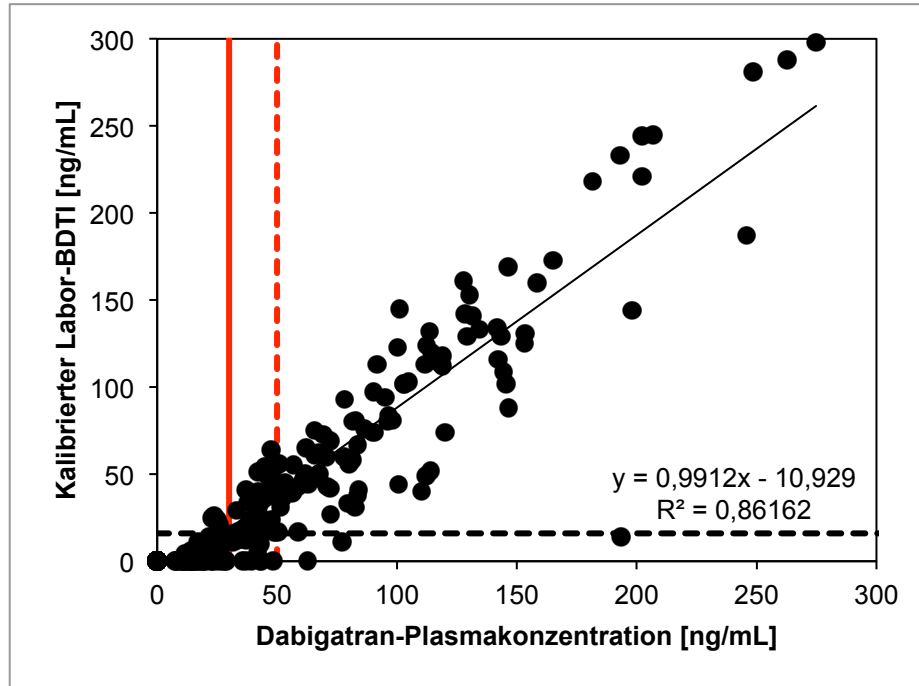


Abbildung 11: Labor-basierte ECT (vergl. [90](#))

POC-ECT aus Zitratvollblut: Der ideale Testgrenzwert für den Behandlungsgrenzwert >30 ng/mL liegt bei 36 s, der für den Behandlungsgrenzwert >50 ng/mL bei 43 s.



**Abbildung 12: Labor-basierter BDTI** (vergl. [90](#))

Labor-basierter BDTI: Der ideale Testgrenzwert für den Behandlungsgrenzwert >30 ng/mL liegt bei 0 ng/mL, der für den Behandlungsgrenzwert >50 ng/mL bei 43 s.

Die POC-ECT-Werte zeigten eine starke lineare Korrelation mit den per UPLC-MS/MS bestimmten Dabigatran-Plasmakonzentrationen. Die Korrelation war am höchsten bei POC-ECT mit Zitratplasma ( $R^2=0,92$ ,  $p<0,001$ ) gefolgt von POC-ECT mit Zitratvollblut ( $R^2=0,90$ ,  $p<0,001$ ) und POC-ECT mit Vollblut ( $R^2=0,78$ ,  $p<0,001$ ).

Die kalibrierten Messwerte der Labor-basierten ECT korrelierten sehr stark mit den massenspektrometrisch bestimmten Dabigatran-Konzentrationen ( $R^2=0,96$ ,  $p<0,001$ ); etwas weniger stark die des Labor-basierten BDTI ( $R^2=0,86$ ,  $p<0,001$ ).

### 3.3. Korrelation von globalen Gerinnungstests mit UPLC-MS/MS

Die relevanten Daten (lineare Regression und Korrelationskoeffizienten) gehen aus Abbildungen 13 bis 15 hervor (siehe unten). Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Korrelation zwischen den PT-basierten Gerinnungsparametern



(Quick und INR) nur schwach bis sehr schwach ist ( $R^2=0,02$  bzw.  $R^2=0,45$ ). Eine stärkere Korrelation lässt sich zwischen Dabigatran-Plasmakonzentrationen und der aPTT finden ( $R^2=0,61$ ).

Es wird deutlich, dass das Vorliegen normwertiger Gerinnungsparameter dieser globalen Tests keinen Ausschluss relevanter Dabigatran-Plasmaspiegeln zulässt. Theoretisch wäre die Festlegung eines Test-Grenzwerts (ohne Rücksicht auf den Referenzbereich) – analog zu früheren Publikationen [81,82,111](#) – möglich. Aufgrund der Reagenz-abhängigen Empfindlichkeit der an unterschiedlichen Zentren verwendeten Assays soll hierauf jedoch bewusst verzichtet werden.

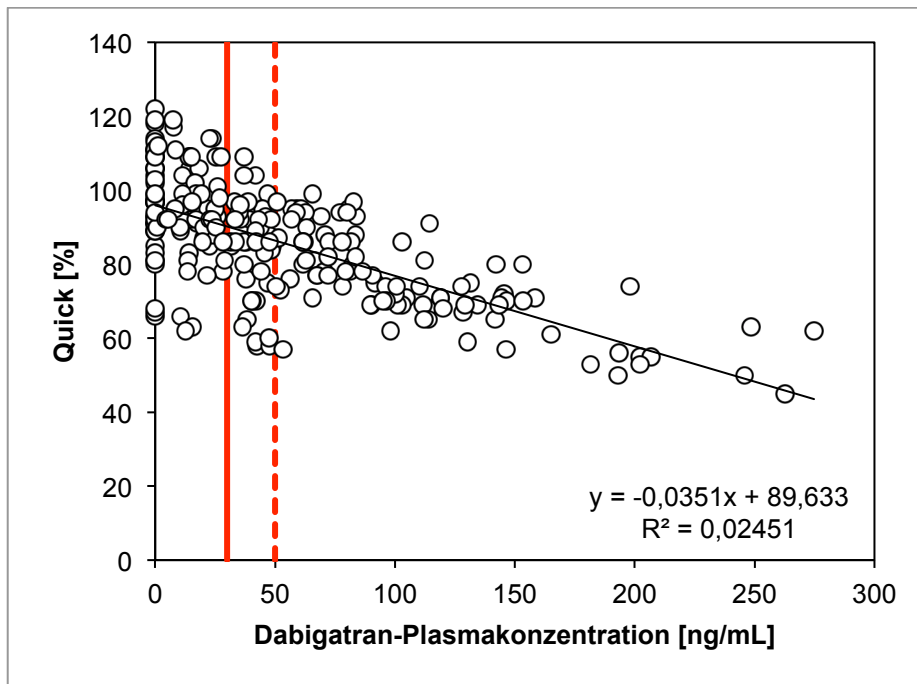


Abbildung 13: Quick

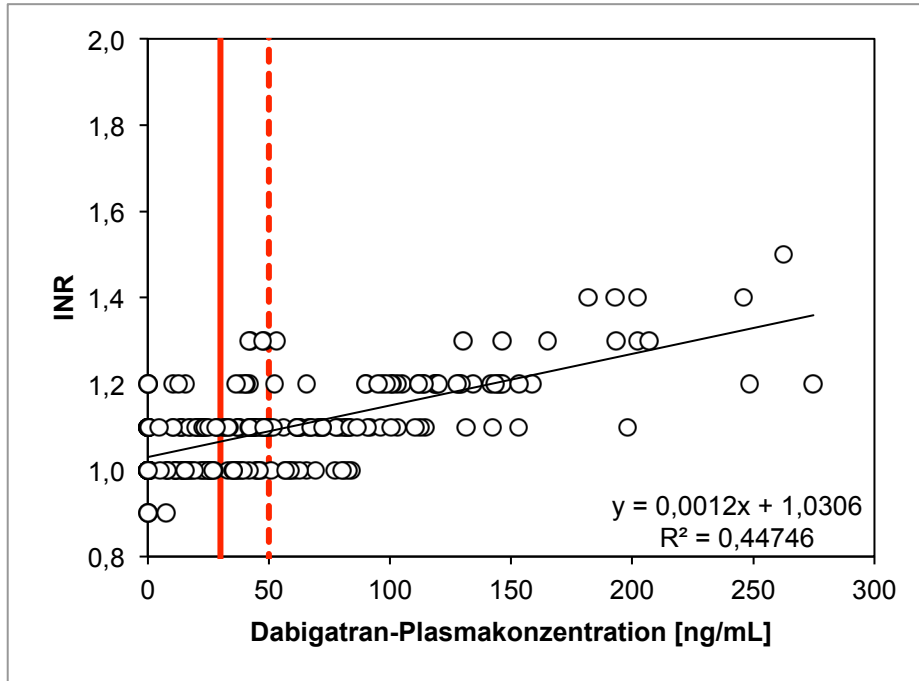


Abbildung 14: INR

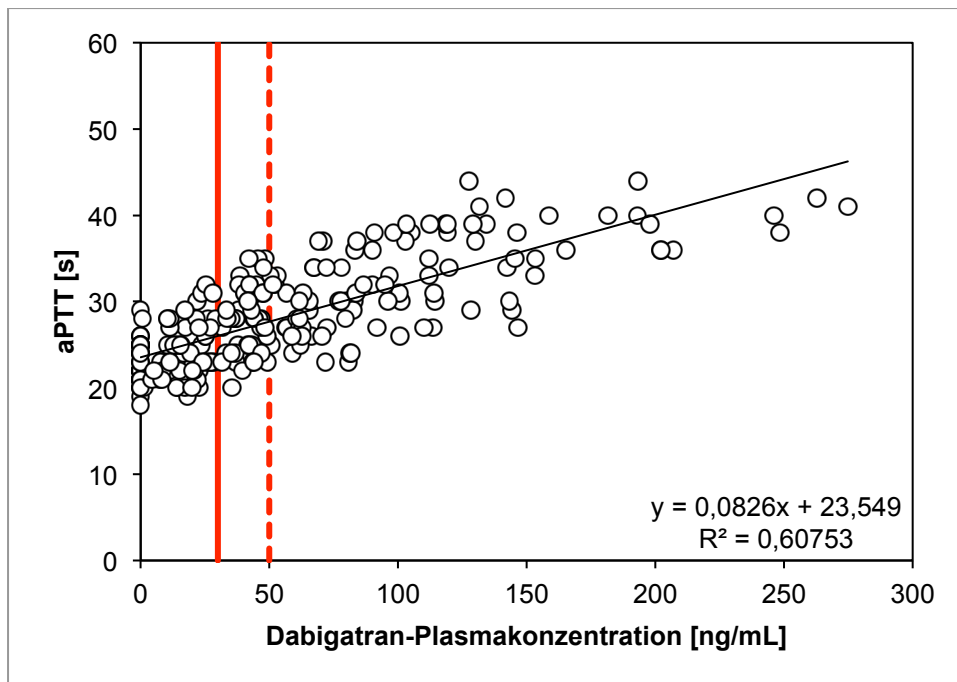


Abbildung 15: aPTT

### 3.4. Grenzwertoptimierung (Receiver Operating Characteristics)

Die Ergebnisse der Sensitivitäts-/Spezifitäts-Analyse sind in Tabelle 7 zusammengefasst.

Alle POC-ECT-Verfahren erreichten ideale Test-Grenzwerte (Sensitivität >95%) bei einer teilweise nahezu ebenso hohen Spezifität (z.B. 93,8% bzw. 91,0% bei der POC-ECT aus Zitratplasma). Die Vollblut-basierten Tests erreichten für den >30 ng/mL-Behandlungsgrenzwert eine Spezifität von bis zu 86,6% (POC-ECT aus Zitratvollblut) und für den >50 ng/mL-Behandlungsgrenzwert eine Spezifität von bis zu 73,6% (POC-ECT aus Vollblut). Das bedeutet, dass potentiell nicht nur eine sehr hohe Anzahl an Patienten mit erhöhten Dabigatran-Plasmakonzentrationen durch ein hohes Testergebnis korrekt identifiziert wird sondern auch, dass bei Patienten mit niedrigen Dabigatran-Plasmakonzentrationen mit einer hohen Wahrscheinlichkeit auch richtigerweise niedrige Testergebnisse zu erwarten sind.

Hervorzuheben ist auch, dass der labor-basierte BDTI trotz Kalibration Dabigatran-Plasmakonzentrationen >30 ng/mL erst ab einem Testgrenzwert von „0 ng/mL“ (Nachweisgrenze) mit >95-prozentiger Wahrscheinlichkeit erfasst. Auch für die sichere Detektion von Plasmakonzentrationen >50 ng/mL muss ebenfalls ein erheblich niedrigerer idealer Testgrenzwert von „16 ng/mL“ gewählt werden. Dementsprechend sind die negativen prädiktiven Werte für die Testgrenzwerte „30 ng/mL“ und „50 ng/mL“ niedriger als für die anderen angegebenen klinisch relevanten Behandlungsgrenzwerte und überprüfen

Testgrenzwerte, was in der Praxis mit einer höheren Rate an falsch-negativen Ergebnissen einhergehen würde.

Die kalibrierte Labor-basierte ECT erreicht für beide Behandlungsgrenzwerte hohe Sensitivitäts- und Spezifitätswerte. Um eine >95-prozentige Sensitivität bei der Detektion von Dabigatran-Plasmakonzentrationen >30 ng/mL zu erreichen, war allerdings eine Anpassung des idealen Testgrenzwerts auf „28 ng/mL“ notwendig.

**Legende** Tabelle 7 (nächste Seite): POC-ECT = Point-of-Care basierte Ecarin-Gerinnungszeit, ECT = Ecarin-Gerinnungszeit, BDTI = Biophen Direct Thrombin Inhibitor Test, PPW = positiver prädiktiver Wert, NPW = negativer prädiktiver Wert.

\*Für die kalibrierten Tests sind zusätzlich zu den idealen Testgrenzwerten auch Sensitivität, Spezifität, Likelihood-Quotient, PPW und NPW für die Werte angegeben, die den Behandlungsgrenzwerten (30 und 50 ng/mL) entsprechen (grau hinterlegt). (Bei der kalibrierten POC-ECT aus Zitratplasma und der kalibrierten Labor-basierten ECT entsprechen die Werte „50 ng/mL“ genau dem idealen Test-Grenzwert.) Sensitivität, Spezifität, PPW und NPV sind in Prozent mit 95%-Konfidenzintervall in eckigen Klammern angegeben. Der Likelihood-Quotient ist dimensionslos und ebenfalls mit 95%-Konfidenzintervall in eckigen Klammern angegeben.

Quelle: Härtig et al. Thromb Haemost 2021; doi: 10.1055/s-0040-1721775.<sup>90</sup>

**Tabelle 7: Sensitivität und Spezifität im Hinblick auf die Detektion von Dabigatran-Plasmakonzentrationen >30 und >50 ng/mL**

	Behandlungsgw	Idealer Testgw	Sensitivität [%]	Spezifität [%]	Likelihood Quotient	PPW [%]	NPW [%]
POC-ECT Vollblut	>30 ng/mL	36 s	95,1 [89,8-97,8]	81,4 [72,0-88,3]	5,13 [3,37-7,89]	88,3 [81,9-92,7]	91,9 [83,4-96,4]
	>50 ng/mL	43 s	95,8 [89,1-98,7]	73,6 [65,5-80,4]	3,63 [2,76-4,79]	70,8 [62,0-78,2]	96,4 [90,4-98,8]
POC-ECT Zitratvollblut	>30 ng/mL	35 s	97,2 [92,5-99,1]	86,6 [77,8-92,4]	7,25 [4,37-12,04]	91,4 [85,5-95,2]	95,5 [88,1-98,5]
	>50 ng/mL	45 s	97,9 [92,0-99,6]	60,4 [51,9-68,4]	2,47 [2,02-3,03]	62,3 [54,0-69,9]	97,8 [91,4-99,6]
POC-ECT Zitratplasma	>30 ng/mL	45 s	96,5 [91,6-98,7]	93,8 [86,5-97,5]	15,60 [7,18-33,89]	95,8 [90,8-98,3]	94,8 [87,7-98,1]
	>50 ng/mL	59 s	96,9 [90,5-99,2]	91,0 [84,8-94,9]	10,73 [6,38-18,04]	87,7 [79,6-93,0]	97,8 [93,1-99,4]
Kalibrierte POC-ECT	>30 ng/mL	28 ng/mL	96,5 [91,6-98,7]	93,8 [86,5-97,5]	15,60 [7,18-33,89]	95,8 [90,8-98,3]	94,8 [87,7-98,1]
	>50 ng/mL	*30 ng/mL	92,3 [86,3-95,9]	95,9 [89,2-98,7]	22,38 [8,56-58,50]	97,1 [92,2-99,1]	89,4 [81,5-94,3]
Kalibrierte Labor ECT	>30 ng/mL	50 ng/mL	95,8 [89,1-98,7]	90,1 [84,8-94,9]	10,62 [6,31-17,86]	87,6 [79,4-93,0]	97,0 [92,1-99,0]
	>50 ng/mL	28 ng/mL	95,1 [89,8-97,8]	96,9 [90,6-99,2]	30,75 [10,09-93,74]	97,8 [93,3-99,4]	93,1 [85,8-96,9]
Kalibrierter Labor BDTI	>30 ng/mL	*30 ng/mL	94,4 [88,9-97,3]	96,9 [90,6-99,2]	30,52 [10,01-93,05]	97,8 [93,3-99,4]	92,2 [84,7-96,3]
	>50 ng/mL	50 ng/mL	96,9 [90,5-99,2]	70,1 [61,9-77,3]	3,24 [2,52-4,18]	68,4 [59,8-75,9]	97,1 [91,2-99,3]
Kalibrierter Labor BDTI	>30 ng/mL	0 ng/mL	95,1 [89,8-97,8]	82,5 [73,1-89,2]	5,43 [3,52-8,37]	88,9 [82,5-93,2]	92,0 [83,6-96,4]
	>50 ng/mL	*30 ng/mL	74,1 [66,0-80,9]	100 [95,3-100]	-	100 [95,6-100]	72,4 [63,9-79,6]
Kalibrierter Labor BDTI	>30 ng/mL	16 ng/mL	96,9 [90,5-99,2]	75,7 [67,7-82,3]	3,99 [2,98-5,33]	72,7 [63,9-80,0]	97,3 [91,8-99,3]
	>50 ng/mL	*50 ng/mL	69,8 [59,4-78,5]	97,2 [92,6-99,1]	25,13 [9,48-66,62]	94,4 [85,5-98,2]	82,8 [76,1-88,0]

### 3.4.1. Flächen unter den ROC-Kurven

Abbildung 16 und Abbildung 17 zeigen die ROC-Kurven für die beiden klinisch relevanten Behandlungsgrenzwerte der Dabigatran-Plasmakonzentrationen. Tabelle 8 listet die Werte für die AUROC auf. Hervorzuheben ist, dass um die 30 ng/mL-Schwelle die AUROC der POC-ECT mit Vollblut (0,97) und auch die AUROC des Labor-basierten BDTI (0,96) signifikant kleiner waren als die AUROC der Labor-basierten ECT (0,99; Referenz) ( $p=0,028$  bzw.  $p=0,011$ ), während die AUROC des POC-ECT mit Zitratvollblut (0,98) und mit Zitratplasma (0,99) nicht signifikant von der Referenz abwichen ( $p=0,215$  bzw.  $p=0,700$ ). Um die 50 ng/mL-Schwelle war nur für die POC-ECT aus Vollblut eine gegenüber der Labor-basierten ECT (0,99; Referenz) statistisch signifikant kleinere AUROC nachzuweisen (0,95;  $p=0,011$ ).

## Ergebnisse

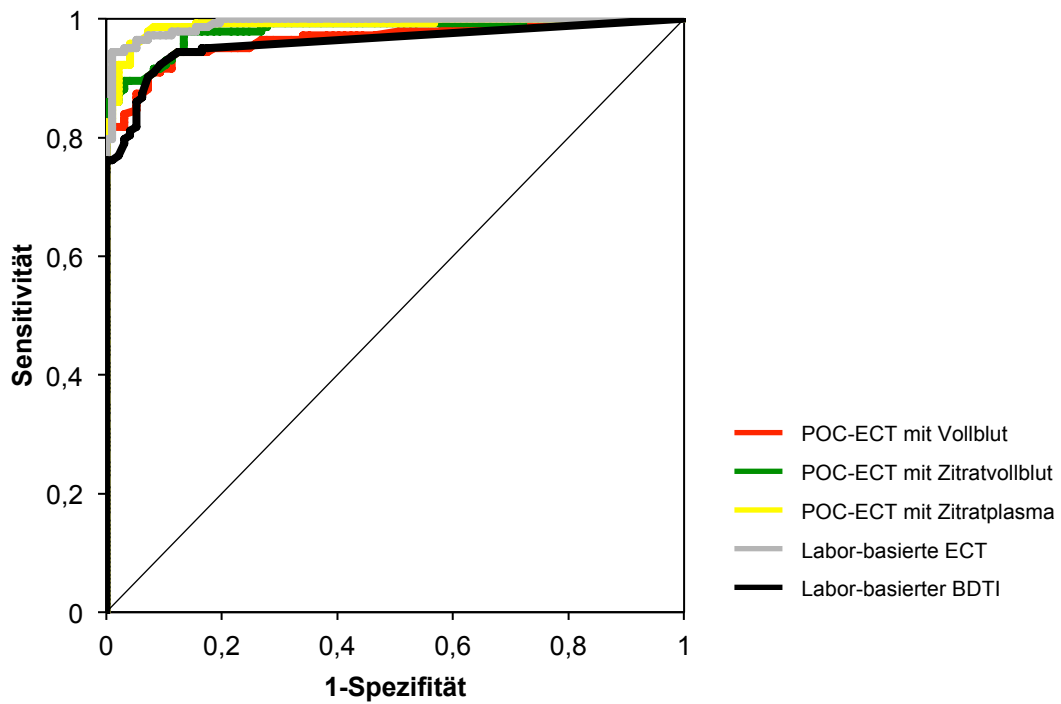


Abbildung 16: ROC-Kurven - 30 ng/mL-Behandlungsgrenzwert (vergl. [90](#))

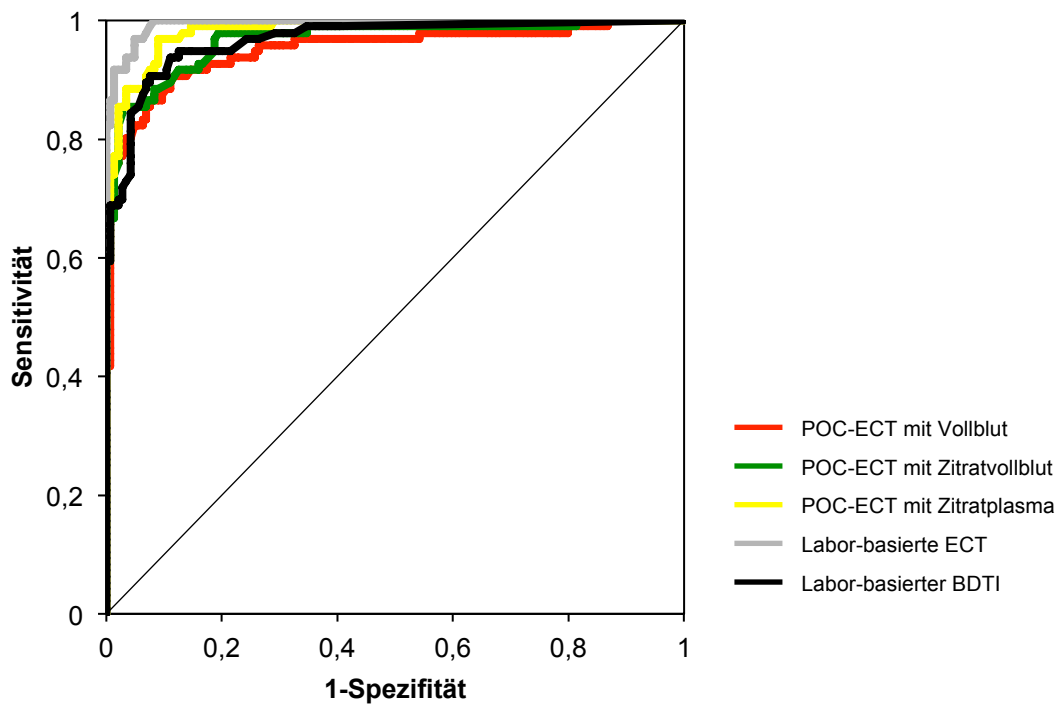


Abbildung 17: ROC-Kurven - 50 ng/mL-Behandlungsgrenzwert (vergl. [90](#))

**Tabelle 8: Vergleich der Flächen unter der ROC-Kurve (AUROC) für die Detektion von Dabigatran-Plasmakonzentrationen >30 und >50 ng/mL**

\*statistisch signifikant;

AUROC-Werte sind mit 95%-Konfidenzintervallen (eckige Klammern) angegeben

Quelle: Härtig et al. Thromb Haemost 2021; doi: 10.1055/s-0040-1721775.<sup>90</sup>

Testmethode	Behandlungsgrenzwert	AUROC	Zwei-seitiges p
Labor-basierte ECT	>30 ng/mL	0,99 [0,99 – 1,00]	<i>Referenz</i>
	>50 ng/mL	0,99 [0,99 – 1,00]	<i>Referenz</i>
Labor-basierter BDTI	>30 ng/mL	0,96 [0,94 – 0,98]	0,011*
	>50 ng/mL	0,97 [0,95 – 0,99]	0,052
POC-ECT mit Vollblut	>30 ng/mL	0,97 [0,95 – 0,99]	0,028*
	>50 ng/mL	0,95 [0,92 – 0,98]	0,011*
POC-ECT mit Zitratvollblut	>30 ng/mL	0,98 [0,97 – 1,00]	0,215
	>50 ng/mL	0,97 [0,95 – 0,99]	0,058
POC-ECT Zitratplasma	>30 ng/mL	0,99 [0,98 – 1,00]	0,700
	>50 ng/mL	0,98 [0,97 – 1,00]	0,351

### 3.5. Kalibration und Nachweisgrenze

Die Zitratplasma-Proben aus vorausgegangenen Studien, die für die retrospektiven POC-ECT-Messungen und Kalibration verwendet wurden, enthielten Dabigatran in einer Konzentration von 0 bis 371 ng/mL. Die POC-ECT-Werte betragen 20 bis 219 Sekunden. Die lineare Regressionsanalyse ergab eine starke Korrelation zwischen POC-ECT und Dabigatran-Plasmakonzentrationen ( $R^2=0,91$ ). Die Kalibrationsgerade ist durch folgende Gleichung definiert: kalibrierte POC-ECT [ng/mL] = 1.521 \* POC-ECT aus Zitratplasma [Sekunden] – 40.369. Wird diese Kalibrationsfunktion auf die POC-ECT Ergebnisse der sicher Dabigatran-freien Proben aus der prospektiven Datenerhebung angewendet, beträgt die Nachweisgrenze 9 ng/mL (Nachweisgrenze =  $\bar{x} + 3\delta$ ).



### 3.6. Übereinstimmung der kalibrierten Messmethoden mit der UPLC-MS/MS

Die Übereinstimmung der kalibrierten POC-ECT mit Zitratplasma, kalibrierter Labor-basierter ECT und kalibriertem Labor-basiertem BDTI ist in Abbildung 18 - Abbildung 23 durch Bland-Altman-Diagramme visualisiert. MW, SA und die lineare Regression wurden für alle Gerinnungstests über den gesamten Datenbereich und zusätzlich fokussiert auf den Bereich der niedrigen Dabigatran-Plasmakonzentrationen (von 0 bis 100 ng/mL) berechnet.

Die Bland-Altman-Diagramme zeigen die Übereinstimmung der kalibrierten Messmethoden zur Bestimmung der Dabigatran Plasmakonzentration mit dem Goldstandard-Verfahren zur Bestimmung von Dabigatran Plasmakonzentrationen, nämlich der Ultra-Hochleistungs-Flüssigchromatographie-Tandem-Massenspektrometrie (UPLC-MS/MS). Alle Messungen wurden unter Verwendung von zitiertem Plasma durchgeführt.

In den Diagrammen markieren die waagrechten gestrichelten Linien den Abstand von 1,96 Standardabweichungen vom MW, die waagrechten durchgezogenen Linien die durchschnittliche Abweichung des Testverfahrens vom Goldstandard (*bias*).

Senkrechte rote Linien zeigen die klinisch relevanten Dabigatran-Plasmakonzentrationen 30 ng/mL (durchgezogene Linie) bzw. 50 ng/mL (gestrichelte Linie) an. Die diagonale gestrichelte Linie zeigt den Verlauf der Regressionsgeraden, deren Gleichung auf den Diagrammen angegeben ist.

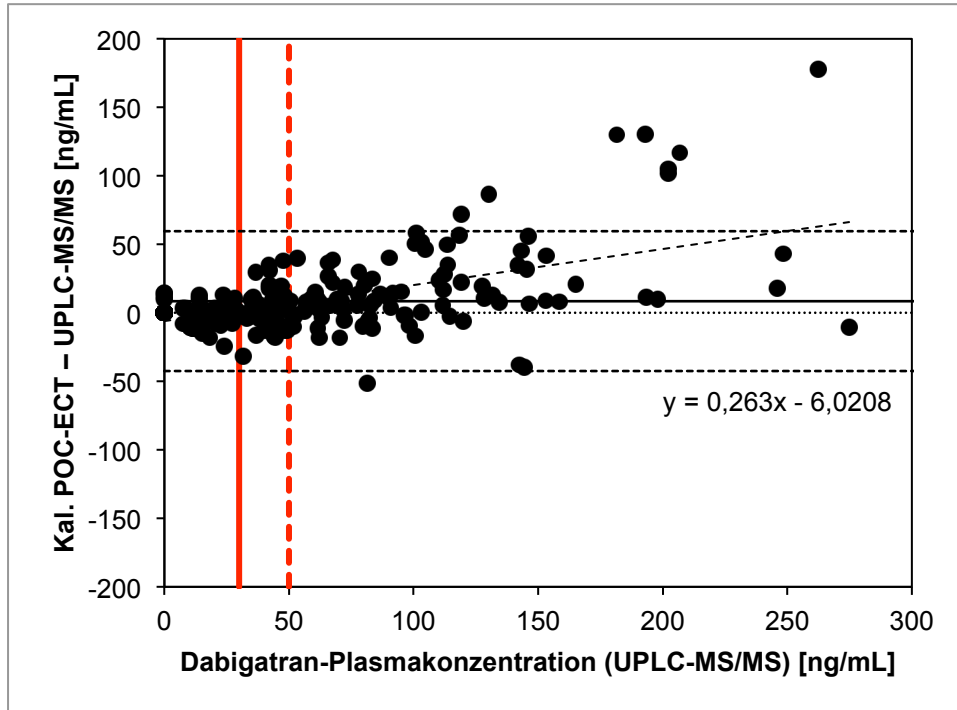


Abbildung 18: Bland-Altman-Diagramm - Kalibrierte POC-ECT (aus Zitratplasma)

MW der Differenz: 8,5 ng/mL, SA: 26,07 ng/mL, stat. signifikante Abweichung von 0:  $p < 0,001$  (vergl. <sup>90</sup>)

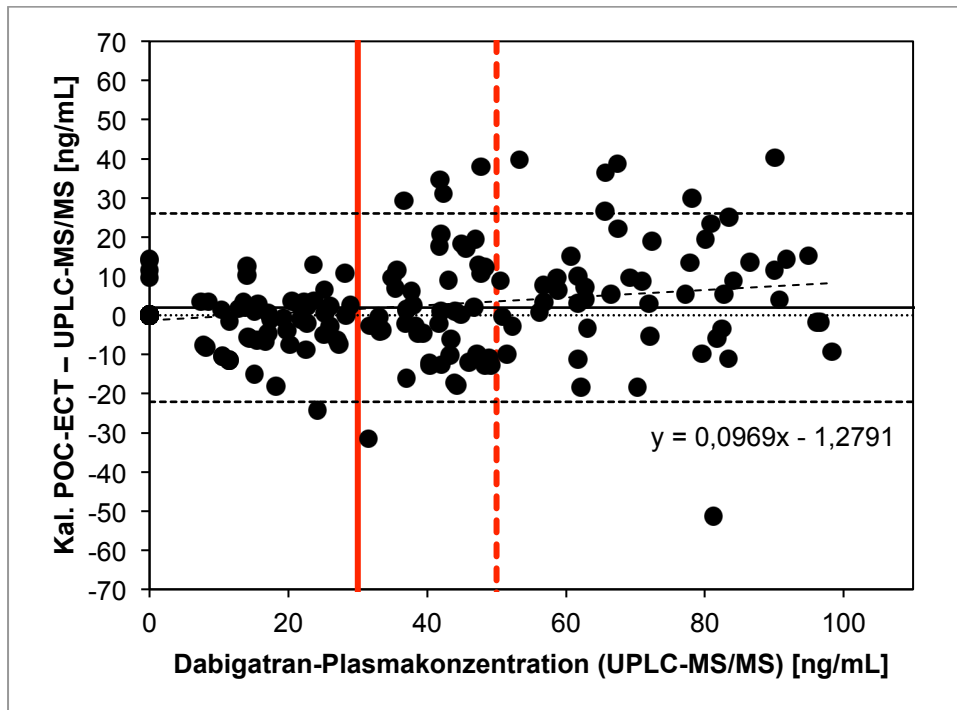


Abbildung 19: Bland-Altman-Diagramm - Kal. POC-ECT aus Zitratplasma (0-100 ng/mL)

MW der Differenz: 2,0 ng/mL, SA: 12,27 ng/mL, stat. signifikante Abweichung von 0:  $p = 0,026$  (vergl. <sup>90</sup>)

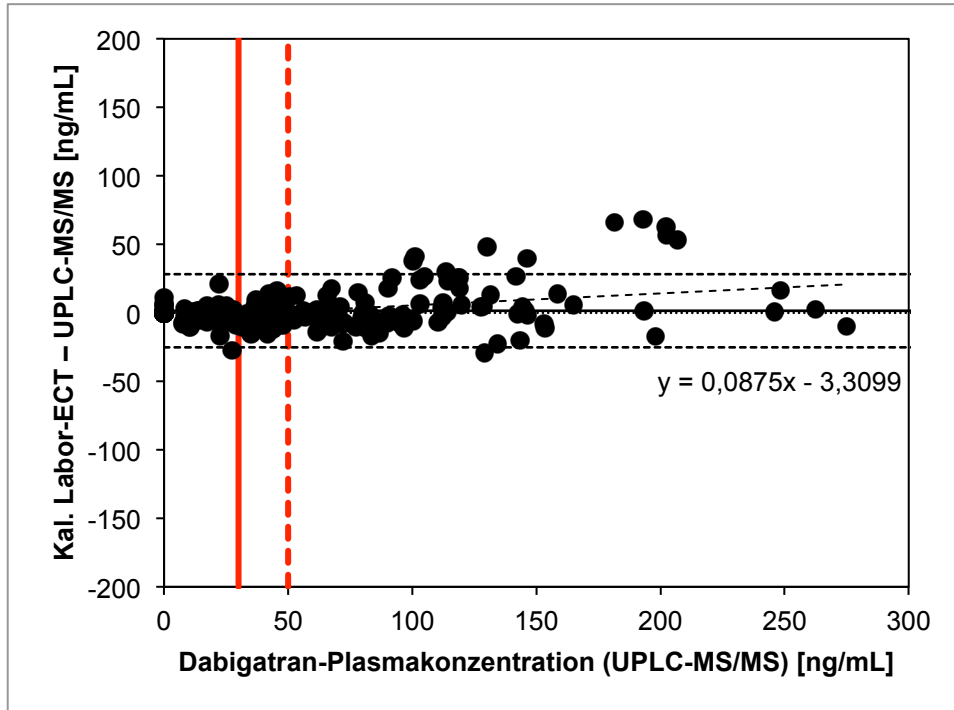


Abbildung 20: Bland-Altman-Diagramm - Kalibrierte Labor-ECT

MW der Differenz: 1,5 ng/mL, SA: 13,62 ng/mL, stat. signifikante Abweichung von 0:  $p=0,085$  (vergl. <sup>90</sup>)

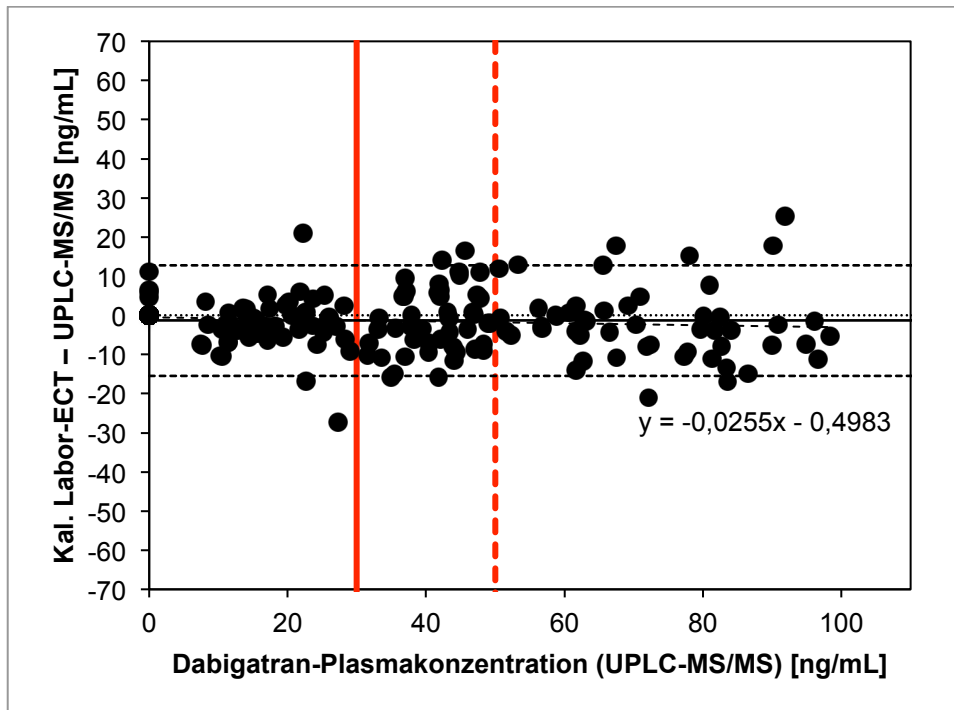


Abbildung 21: Bland-Altman-Diagramm - Kalibrierte Labor-ECT (0-100 ng/mL)

MW der Differenz: -1,4 ng/mL, SA: 7,20 ng/mL, stat. signifikante Abweichung von 0:  $p=0,009$  (vergl. <sup>90</sup>)

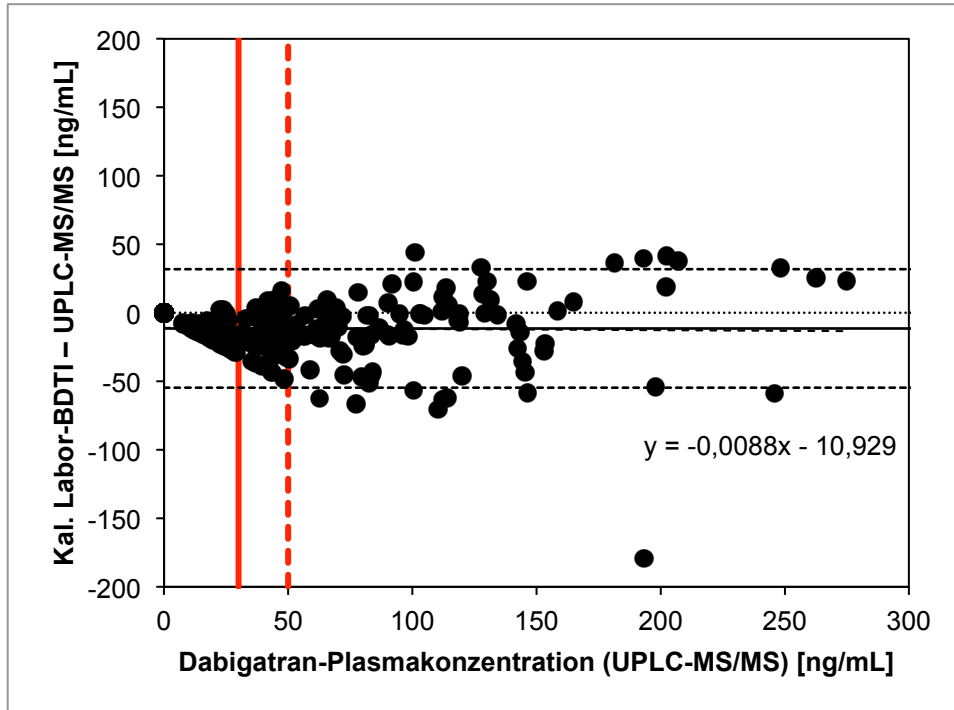


Abbildung 22: Bland-Altman-Diagramm – Kalibrierter Labor-BDTI

MW der Differenz: -11,4 ng/mL, SA: 22,08 ng/mL, stat. signifikante Abweichung von 0:  $p < 0,001$  (vergl. <sup>90</sup>)

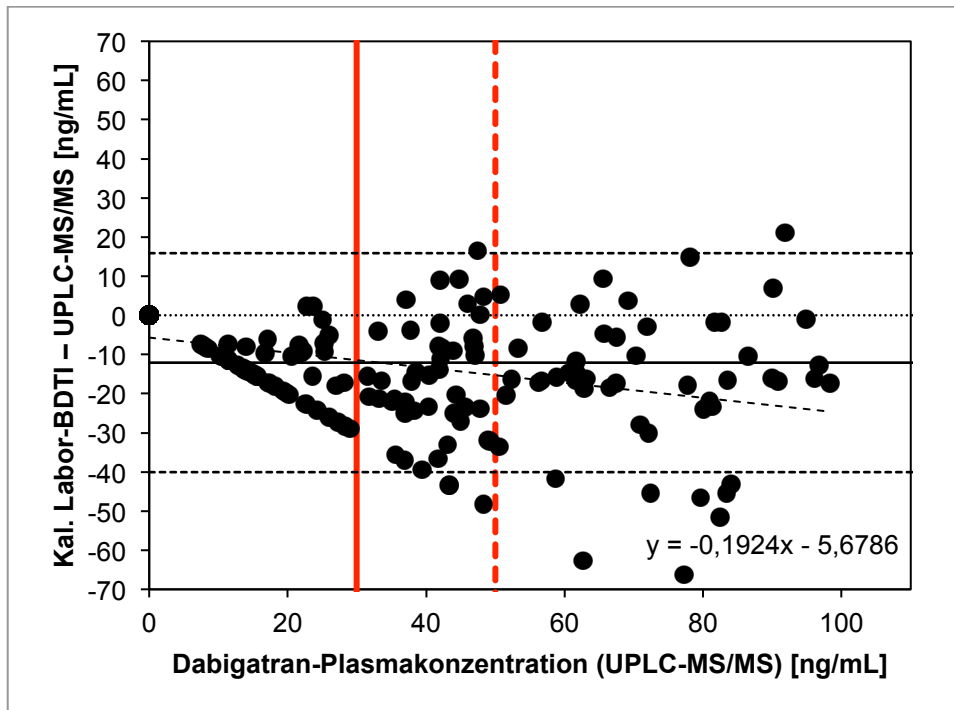


Abbildung 23: Bland-Altman-Diagramm – Kalibrierter Labor-BDTI (0-100 ng/mL)

MW der Differenz: 2,0 ng/mL, SA: 14,26 ng/mL, stat. signifikante Abweichung von 0:  $p < 0,001$  (vergl. <sup>90</sup>)

Der *bias* der kalibrierten POC-ECT aus Zitratplasma ist über den gesamten Messbereich statistisch signifikant (*fixed bias*;  $p < 0,001$ ) und leicht positiv (8,5 ng/mL), d.h. mit einem Trend zur Überschätzung der wahren Dabigatran-Plasmakonzentration bei höheren Werten. Im niedrigen Konzentrationsbereich ist der *bias* zwar ebenfalls knapp statistisch signifikant ( $p = 0,026$ ), aber mit 2,0 ng/mL vernachlässigbar klein.

Der *bias* der kalibrierten Labor-basierten ECT ist im niedrigen Konzentrationsbereich nicht statistisch signifikant ( $p = 0,085$ ). Über den gesamten Messbereich ist er zwar statistisch signifikant (*fixed bias*;  $p = 0,009$ ) aber mit lediglich -1,4 mg/mL zu vernachlässigen.

Der kalibrierte Labor-basierte BDTI weist sowohl im gesamten Messbereich als auch bei niedrigen Konzentrationen einen statistisch und klinisch relevanten negativen *fixed bias* von -11,4 ng/mL bzw. -12,1 ng/mL auf (jeweils  $p < 0,001$ ).

### **3.7. Inter-Assay Varianz, Interaktion mit Heparin und anderen DOAK (Faktor Xa-Inhibitoren) und in-vitro Antagonisierung des Dabigatran-Effekts durch Idarucizumab**

#### **3.7.1. Inter-Assay Varianz**

Der Variationskoeffizient bei wiederholten Messungen war 12,3% bei Normalplasma (Dabigatran-Konzentration: 0 ng/mL), bei den Kalibratorlösungen: 8,7% bei 30 ng/mL und 11,5% bei 255 ng/mL und bei den Patienten-Zitratplasmaproben: 8,1% bei 100,6 ng/mL und 14,7% bei 198,1 ng/mL.

### 3.7.2. Interaktion mit Heparin und anderen DOAK (Faktor-Xa-Inhibitoren)

Die künstliche Zugabe von UFH, NMH und den drei zugelassenen direkten oralen Faktor-Xa-Inhibitoren (Apixaban, Edoxaban, Rivaroxaban) in unterschiedlichen therapeutischen und supra-therapeutischen Dosen hatte keinen Einfluss auf die POC-ECT Ergebnisse (siehe Tabelle 9 und Tabelle 10). Ein Anstieg der Messwerte war nur bei einer Erhöhung der Dabigatran-Konzentrationen zu verzeichnen. Wie bereits in Kapitel 1.4.2 erörtert, wird die Antithrombin III-abhängige Hemmung von Thrombin durch den Test nicht erfasst.<sup>86</sup>

**Tabelle 9: Einfluss von unfractioniertem Heparin auf die POC-ECT**

\* Dabigatran Plasmakonzentration laut massenspektrometrischer Messung  
Quelle: Härtig et al. Thromb Haemost 2021; doi: 10.1055/s-0040-1721775.<sup>90</sup>

hinzu- gefügt Heparin	POC-ECT [Sekunden] (zwei Messungen je Probe)						
	Normal- plasma	Probe 1B4 275 ng/mL *	Probe 4B1 105 ng/mL *	Probe 9B3 207 ng/mL*	Probe 6B5 263 ng/mL*	Probe 11A4 96 ng/mL*	Probe 23A4 193 ng/mL*
<b>0 U/mL</b>	29	283	196	304	362	118	221
	27	316	167	290	328	133	236
<b>1 U/mL</b>	29	282	193	293	403	128	239
	25	279	182	278	386	125	226
<b>2 U/mL</b>	28	304	192	315	401	126	247
	31	274	184	276	422	122	249
<b>4 U/mL</b>	28	313	192	272	350	141	277
	24	309	162	292	312	134	219

**Tabelle 10: Einfluss von direkten oralen Faktor-Xa-Inhibitoren und niedermolekularem Heparin (NMH) auf die POC-ECT**

\* DOAK-Konzentration laut Herstellerangabe

Quelle: Härtig et al. Thromb Haemost 2021; doi: 10.1055/s-0040-1721775.<sup>90</sup>

hinzugefügte Substanz Konzentration der hinzugefügten Substanz	POC-ECT [Sekunden] (zwei Messungen je Probe)				
	hinzugefügte Substanz alleine	hinzugefügt zu: Normal- plasma	Dabigatran Kalibrator 1 43 ng/mL*	Dabigatran Kalibrator 2 257 ng/mL*	Dabigatran Kalibrator 3 489 ng/mL*
<b>Normalplasma</b> N/A	23 / 25	33 / 34	46 / 54	136 / 126	289 / 242
<b>Apixaban</b> 458 ng/mL*	28 / 24	26 / 33	45 / 48	148 / 131	258 / 249
<b>Edoxaban</b> 425 ng/mL*	39 / 37	32 / 35	70 / 54	202 / 141	303 / 294
<b>Rivaroxaban</b> 462 ng/mL*	26 / 26	27 / 26	49 / 53	143 / 134	259 / 305
<b>NMH</b> 1.99 IU/mL*	29 / 28	38 / 31	63 / 53	154 / 149	239 / 210

### 3.7.3. In-Vitro Antagonisierung des Dabigatran-Effekts durch Idarucizumab (Praxbind®)

Die POC-ECT reflektierte die durch Idarucizumab erreichte Aufhebung des antikoagulatorischen Dabigatran-Effekts bis hin zu normalisierten Werten bei kompletter Antagonisierung (siehe Tabelle 11), bei der alle Dabigatran-Moleküle irreversibel an Idarucizumab gebunden sind. In Zusammenschau mit Tabelle 3 und Tabelle 4 lässt sich klar ableiten, dass die Zugabe einer über-äquimolaren Stoffmenge Idarucizumab zu einer Normalisierung der Gerinnung mit POC-ECT aus Zitratplasma <35 s führt.

## Ergebnisse

**Tabelle 11: In-vitro Antagonisierung des Dabigatran-Effekts durch Idarucizumab**

\* Dabigatran-Plasmakonzentration wie durch UPLC-MS/MS gemessen

NP = Normalplasma, VI = verdünntes Idarucizumab (1:500 or 1:250, wie angegeben) – die Verdünnung wurde mit Normalplasma durchgeführt

Quelle: Härtig et al. Thromb Haemost 2021; doi: 10.1055/s-0040-1721775.<sup>90</sup>

Probe Dabigatran- konzentration* (250 µL)	Dabigatran- konz. nach Verdünnung (auf 300 µL)	POC-ECT [Sekunden] (Laborbasierter BDTI [ng/mL])			
		Zugabe von			
			<b>10 µL VI (1:500)</b>	<b>25 µL VI (1:500)</b>	<b>50 µL VI (1:500)</b>
		50 µL NP	und 40 µL NP	und 25 µL NP	
39B2 72 ng/mL	60 ng/mL	102 (69)	53 (19)	25 (0)	29 (0)
40B4 128 ng/mL	106 ng/mL	169 (137)	140 (98)	81 (50)	22 (0)
			<b>10 µL VI (1:250)</b>	<b>25 µL VI (1:250)</b>	<b>50 µL VI (1:250)</b>
		50 µL NP	und 40 µL NP	und 25 µL NP	
39B3 134 ng/mL	112 ng/mL	143 (133)	92 (66)	27 (0)	32 (0)
34B4 246 ng/mL	205 ng/mL	249 (245)	227 (192)	82 (58)	30 (0)



## 4. Diskussion

Die dieser Arbeit zugrundeliegende Studie ist die erste klinische qualitative und quantitative Analyse eines DOAK-spezifischen POC-Gerinnungstests.

In Zusammenschau aller Ergebnisse ist die Durchführung der POC mit Vollblut, Zitratvollblut und Zitratplasma technisch ohne weiteres möglich. Die Testergebnisse (POC-ECT) aller drei Methoden korrelieren sehr stark linear mit den Dabigatran-Plasmakonzentrationen, die per UPLC-MS/MS – dem Goldstandard-Verfahren für diese Bestimmung – gemessen wurden. In den kritischsten Bereichen, d.h. den aktuell empfohlenen Schwellenwerten, die vor Durchführung der intravenösen Thrombolyse oder dringlichen operativen Eingriffen nicht überschritten sein dürfen oder eine Indikation zur Antagonisierung der Antikoagulation im Falle einer Hirnblutung oder sonstigen schweren Blutung darstellen<sup>75-78</sup>, ist die Streuung der Messergebnisse sehr gering (Variationskoeffizient bei Proben unterhalb von 100 ng/mL; vgl. Kapitel 3.7.1: Inter-Assay Varianz).

POC-ECT-Werte, die aus Vollblut und Zitratvollblut bestimmt wurden, sind in der Studie unter klinischen Bedingungen erhoben worden; das heißt direkt am Patientenbett. Hinsichtlich der Detektion von Dabigatran-Plasmakonzentrationen um die relevanten Schwellenwerte von >30 und >50 ng/mL ist die Verwendung von der POC-ECT aus Zitratvollblut vergleichbar mit der Labor-basierten ECT. Bemerkenswert ist diesbezüglich, dass die Proben für die Bestimmung der Labor-basierten ECT gesammelt und in einer einzigen Charge unter stabilen Laborbedingungen vermessen wurden, was die Messgenauigkeit artifiziell erhöht. Die Messungen mittels Labor-basiertem BDTI in der klinischen Routine erreichen die diagnostische Genauigkeit der POC-ECT in unserer Studie nicht.

Aus technischen Gründen (weil die Blutprobe nicht in ein mit Zitratlösung präpariertes Probenröhrchen abgenommen werden und aus diesem wieder entnommen werden muss) ist die Verwendung von nicht-zitriertem Vollblut

minimal schneller. Vermutlich weil die Probe in einem nicht-zitrierten und nicht-heparinisierten Probengefäß zu instabil ist, leidet bei dieser Methode allerdings die Messgenauigkeit, was sich in einer geringeren Korrelation und AUROC niederschlägt.

Die Genauigkeit der POC-ECT aus Zitratplasma ist vergleichbar, wenn nicht sogar der Verwendung von Zitratvollblut überlegen. Wegen der zeitlich aufwändigen Verarbeitung der Probe (Abnahme in ein Zitratblutröhrchen, Zentrifugation, Pipettieren) erscheint die Verwendung von Zitratplasma für die Notfallsituation allerdings nicht sinnvoll. Die Verwendung von Zitratvollblut ist daher – als Kompromiss aus zeitlichem Aufwand und Messgenauigkeit – die am besten geeignete Methode.

In der Regel beruht die Entscheidungsfindung bei Labor-basierten DOAK-spezifischen Tests – wie z.B. bei den hier verwendeten STA-ECA II- und BDTI-Assays (aber auch bei der Messung der anti-Xa-Aktivität bei Faktor-Xa-Inhibitoren) – auf der Angabe einer durch Kalibration geschätzten DOAK-Plasmakonzentration. Unsere Untersuchung hat gezeigt, dass die lineare Korrelation der POC-ECT aus Zitratplasma ausreicht um eine Kalibration vorzunehmen, deren Genauigkeit mit der in der klinischen Routine verwendeten Labor-basierten Messmethoden (in unserem Fall dem kalibrierten BDTI) vergleichbar ist.

Alle Plasma-basierten Messverfahren (POC-ECT aus Zitratplasma, Labor-basierte ECT und Labor-basierter BDTI) setzen den Einsatz von Zitratplasma voraus, welches erst durch eine mehrminütige Zentrifugation aus der Blutprobe gewonnen werden muss. Angesichts dieser Zeitverzögerung erscheint für die Notfallsituation eher der Einsatz von Zitratvollblut (oder auch nicht zitriertem Vollblut) in Kombination mit einem ausreichend niedrig gewählten POC-ECT Test-Grenzwert (vgl. Tabelle 7) zu sein. Das Testergebnis erlaubt den sicheren Ausschluss der Anwesenheit von klinisch relevanten Dabigatran-Plasmakonzentrationen (nach aktuellen Empfehlungen<sup>75-78</sup>) in Patienten, die keine anderen Antikoagulanzen mit anti-IIa-Wirkung (außer UFH) erhalten haben. Darüber hinaus geht aus Abbildung 22 und Abbildung 23 hervor, dass

die Angaben eines kalibrierten Labor-basierten (chromogenen) Gerinnungstests durch die Angabe in „ng/mL“ nicht unbedingt sehr verlässlich sein müssen: Beim kalibrierten Labor-basierten BDTI beispielsweise wurden – trotz der starken Korrelation mit der UPLC-MS/MS – die idealen Testgrenzwerte, also der Grenzwert, ab dem der Test in >95% der Fälle Dabigatran-Plasmakonzentrationen von >30 bzw. >50 ng/mL detektiert, erst unterhalb der Nachweisgrenze („0 ng/mL“) bzw. bei 16 ng/mL gefunden. Der Test unterschätzt also mitunter deutlich die tatsächliche Dabigatran-Plasmakonzentration. Dieser Umstand wurde bereits in früheren Studien unserer Arbeitsgruppe aufgezeigt.<sup>112-114</sup>

In Kontrast hierzu findet man sowohl für die kalibrierte POC-ECT (aus Zitratplasma) als auch für die kalibrierte Labor-basierte ECT ideale Testgrenzwerte nahe des Behandlungsgrenzwerts (28 ng/mL) bzw. genau darauf (50 ng/mL) (vgl. Tabelle 7).

### **4.1. Methodische Stärken der Studie**

Die POC-Messungen wurden am Patientenbett unter realen Bedingungen an einer gut charakterisierten Studienpopulation durchgeführt. Für den Hauptteil der Studie wurden keine Proben nachträglich mit DOAK oder anderen Wirkstoffen versetzt. Diese Technik wurde nur für die in-vitro Experimente angewandt, die zusätzlich zur primären klinischen Studie durchgeführt wurden. Der Grund hierfür ist, dass diese nicht ohne weiteres im klinischen Kontext simuliert werden können.

In unserer Datenbasis ist der Konzentrationsbereich um die vorgeschlagenen Behandlungsgrenzwerte (30 und 50 ng/mL) gut repräsentiert, was die Validität unserer ROC-Analyse stützt.

Der Vergleich mit bereits von unserer Arbeitsgruppe veröffentlichten Daten zeigt, dass die anti-IIa-spezifische POC-ECT im Vergleich zu unspezifischen

POC-basierten globalen Gerinnungstests wie PT/INR, aPTT und ACT hinsichtlich der qualitativen und auf jeden Fall hinsichtlich der quantitativen Detektion von Dabigatran überlegen ist.<sup>81,82</sup>

Für rein qualitative Aussagen zur Anwesenheit von Edoxaban und Rivaroxaban (aber auch Dabigatran) stehen bereits Daten der CoaguChek® und Hemochron™ Signature Elite POC-Testsysteme zur Verfügung. Das CoaguCheck® System erlaubt auf der Basis eines PT/INR-Assays qualitative Aussagen über Plasmaspiegel von Rivaroxaban und Edoxaban.<sup>81,111</sup> Das Hemochron™ System erlaubt auf Basis eines PT/INR- und eines ACT-Assays qualitative Aussagen über Plasmaspiegel von Dabigatran, Edoxaban und Rivaroxaban.<sup>82,115</sup> Apixaban hat auf keinen der evaluierten POC-Gerinnungstests einen signifikanten Effekt. Auch Labor-basierte Globaltests reichen selbst für qualitative Aussage über Apixaban-Plasmaspiegel nicht aus<sup>64</sup>, so dass hier anti-Xa-Aktivitäts-spezifische Gerinnungstests verwendet werden müssen, die (noch) nicht auf POC-Basis erhältlich sind.

Die Technik der Anwendung von globalen Gerinnungsassays mit definierten Testgrenzwerten für den Ausschluss von DOAK-Plasmakonzentrationen oberhalb eines bestimmten Grenzwerts wurde von der European Stroke Organisation (ESO) bereits für den eigens propagierten Behandlungsgrenzwert von 30 ng/mL in klinische Empfehlungen umgesetzt (siehe Tabelle 12).<sup>74</sup>

**Tabelle 12: Empfehlungen der ESO zur Anwendung des Hemochron™ Signature Elite POC-Testsystem zum Ausschluss relevanter DOAK-Plasmakonzentrationen**

Quelle: Ahmed N et al. *Eur Stroke J* 2019;4(4):307-17.<sup>74</sup>

	<b>Apixaban</b>	<b>Dabigatran</b>	<b>Edoxaban</b>	<b>Rivaroxaban</b>
PT/INR	-	≤1,1	≤1,4	≤1,0
ACT+	-	≤100 s	-	≤120 s

## 4.2. Methodische Schwächen der Studie

Eine Limitation der Studie ist, dass nur mit Dabigatran behandelte Patienten untersucht wurden. Patienten, die zum Messzeitpunkt andere (orale) Antikoagulanzen erhalten hatten, wurden von der Studie ausgeschlossen (siehe Kapitel 2.1: Ein- und Ausschlusskriterien). In einer tatsächlichen Notfallsituation kann es jedoch sein, dass gar nicht bekannt ist, ob und welches Antikoagulans der Patient einnimmt. Um dieses Szenario abzubilden und zu prüfen, wie hoch die Spezifität der POC-ECT für anti-Faktor IIa-Aktivität wirklich ist, haben wir in-vitro Messreihen mit UFH, NMH und den zum Zeitpunkt der Studie zugelassenen direkten oralen Antikoagulanzen (Apixaban, Edoxaban und Rivaroxaban) durchgeführt. Auch in hohen, als supratherapeutisch anzusehenden, Konzentrationen hatten diese Substanzen keinen Einfluss auf die POC-ECT.

Die hohe anti-IIa-Spezifität der POC-ECT stellt sicher, dass die Anwesenheit von Dabigatran sicher und genau detektiert wird. Die Einnahme anderer (oraler) Antikoagulanzen bzw. deren Anwesenheit im Blut des zu untersuchenden Patienten muss allerdings anderweitig ausgeschlossen bzw. gemessen werden. Für die Detektion der ebenfalls weit verbreiteten Faktor-Xa-Inhibitoren Apixaban, Edoxaban und Rivaroxaban steht aktuell kein POC-Assay zur Verfügung. Diese können allerdings teilweise mit Hilfe von nicht-anti-Xa-spezifischen POC-Assays erfasst werden. [81,82,111,115](#)

Trotz des geplanten Einsatzes in der Notfallsituation haben wir keine Patienten in der Akutphase eines Schlaganfalls oder einer schweren Blutung rekrutiert. Das von uns gewählte Studiendesign hat uns eine schnelle und ethisch einwandfreie Patientenrekrutierung (mit mündlicher und schriftlicher Einwilligung), die Entnahme mehrerer sequentieller Blutproben und POC-ECT-Messungen pro Patient und somit auch die Erfassung von Basisdaten und die Gewinnung von Proben mit einem großen Spektrum an Dabigatran-Plasmakonzentrationen ermöglicht.

Die von uns vorgeschlagenen idealen Testgrenzwerte erreichen eine Sensitivität >95%. Allerdings sind sie retrospektiv festgelegt worden und bisher nicht prospektiv validiert. Auch könnten diese theoretisch von Testkarten-Charge zu Testkarten-Charge variieren. Um in Zukunft eine sichere klinische Anwendung der POC-ECT (mit nicht zitriertem oder zitriertem Vollblut) zu ermöglichen, muss der Hersteller entsprechende Testgrenzwerte für die entsprechenden Behandlungsgrenzwerte angeben oder eine Möglichkeit der kalibrierten POC-ECT-Messung aus nicht zitriertem oder zitriertem Vollblut entwickeln.

Wir haben den POC-ECT Assay nicht mit anderen theoretisch DOAK-spezifischen POC-Testsystemen verglichen, die hier kurz Erwähnung finden sollten:

Die (Rotations-)Thromboelastometrie/-graphie (z.B. ROTEM® bzw. TEG®) wurde ebenfalls für schnelle Gerinnungsmessung bei Patienten unter DOAK-Behandlung evaluiert.<sup>116,117 118</sup> Allerdings sind weder das ROTEM®- noch das TEG®-Gerät transportabel (auch nicht in der aktuellen TEG® 6s-Version) und die Messdauern – auch für Proben im Referenzbereich – deutlich höher.<sup>52</sup> Zusätzlich dazu ist die Sensitivität im Bereich der niedrigen Plasmakonzentrationen, in denen die aktuellen Behandlungsgrenzwerte von 30 und 50 ng/mL liegen begrenzt.<sup>116,119</sup>

Die Ergebnisse von Bliden et al., die zwei DOAK-spezifische TEG® 6s-Assays (einen anti-IIa- und einen anti-Xa-spezifischen) analysierten, sind zwar vielversprechend, allerdings wurden keine Daten zu Möglichkeit der Detektion der vorgeschlagenen relevanten Plasmakonzentrationen berichtet.<sup>118</sup>

Ähnliche Limitationen betreffen auch einen mittlerweile auf dem Markt befindlichen Urin-Test (DOAC Dipstick, DOASENSE GmbH, Heidelberg)<sup>120</sup>, der für eine rein qualitative Bestimmung der Anwesenheit von Thrombin- und Faktor-Xa-Inhibitoren zehn Minuten benötigt. Der DOAC Dipstick kann zwar sehr sensitiv DOAK im Urin nachweisen, was aber selbstverständlich keine Rückschlüsse auf die DOAK-Plasmakonzentration und damit auf den tatsächlichen aktuellen Gerinnungsstatus zulässt.<sup>121</sup>

### **5. Zusammenfassung**

Die in dieser Dissertation behandelte Studie stellt die erste qualitative und quantitative Untersuchung von DOAK-spezifischer Point-of-Care-Gerinnungsmessung dar.

Die Korrelation der POC-ECT mit dem Goldstandardverfahren zur Bestimmung von DOAK-Plasmakonzentrationen – der Massenspektrometrie – ist exzellent und teilweise sogar besser als verfügbare labor-basierter Gerinnungstest zum Nachweis von Dabigatran, was durch Kalibration von Zitratplasma-basierten POC-ECT Messungen sogar die quantitative Abschätzung der tatsächlichen Dabigatran-Plasmakonzentrationen erlaubt. Die POC-ECT wird nicht durch die Anwesenheit von UFH, NMH oder direkten oralen Faktor-Xa-Inhibitoren beeinflusst und zeigt sehr genau die Gerinnungsnormalisierung nach Applikation des Antidots Idarucizumab an.

Die POC-ECT ist in der Lage, sehr exakt zwischen Dabigatran-Plasmakonzentrationen ober- und unterhalb von 30 bzw. 50 ng/mL zu unterscheiden, was im Notfall potentiell den Ausschluss bzw. die Bestätigung einer relevanten Dabigatran-Plasmakonzentration ohne wesentliche Verzögerung erlauben würde und damit den Entscheidungsprozess in der äußerst zeitkritischen Akutbehandlung von Schlaganfallpatienten beschleunigen könnte.

Um den Nutzen und die Sicherheit des Cascade® Abrazo / DTM – Testsystems bzw. der POC-ECT in der klinischen Routine – d.h. in der Notfallsituation – zu überprüfen, wäre eine prospektive multizentrische Studie mit klinischen Endpunkten notwendig. Diese steht zu aktuellen Zeitpunkt noch aus.

## 6. Literaturverzeichnis

1. Kolominsky-Rabas PL, Wiedmann S, Weingartner M, et al. Time trends in incidence of pathological and etiological stroke subtypes during 16 years: the Erlangen Stroke Project. *Neuroepidemiology*. 2015;44(1):24-29.
2. Feigin VL, Forouzanfar MH, Krishnamurthi R, et al. Global and regional burden of stroke during 1990-2010: findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2014;383(9913):245-254.
3. Heuschmann PU, Busse O, Wagner M, et al. Schlaganfallhäufigkeit und Versorgung von Schlaganfallpatienten in Deutschland. *Akt Neurol*. 2010;37:333-340.
4. Collaborators GBDS. Global, regional, and national burden of stroke, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol*. 2019;18(5):439-458.
5. Rajsic S, Gothe H, Borba HH, et al. Economic burden of stroke: a systematic review on post-stroke care. *Eur J Health Econ*. 2019;20(1):107-134.
6. Zeumer H, Hacke W, Ringelstein EB. Local intraarterial thrombolysis in vertebrobasilar thromboembolic disease. *AJNR Am J Neuroradiol*. 1983;4(3):401-404.
7. Berkhemer OA, Fransen PS, Beumer D, et al. A randomized trial of intraarterial treatment for acute ischemic stroke. *N Engl J Med*. 2015;372(1):11-20.
8. National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke Study Group. Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. *N Engl J Med*. 1995;333(24):1581-1587.
9. Emberson J, Lees KR, Lyden P, et al. Effect of treatment delay, age, and stroke severity on the effects of intravenous thrombolysis with alteplase for acute ischaemic stroke: a meta-analysis of individual patient data from randomised trials. *The Lancet*. 2014;384(9958):1929-1935.
10. Gomez CR. Editorial: Time is brain! *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 1993;3(1):1-2.
11. Baron JC. Mapping the ischaemic penumbra with PET: implications for acute stroke treatment. *Cerebrovasc Dis*. 1999;9(4):193-201.
12. Baron JC, Marchal G. Ischemic core and penumbra in human stroke. *Stroke*. 1999;30(5):1150-1153.



13. Ruecker M, Matosevic B, Willeit P, et al. Subtherapeutic warfarin therapy entails an increased bleeding risk after stroke thrombolysis. *Neurology*. 2012;79(1):31-38.
14. Miedema I, Luijckx GJ, De Keyser J, Koch M, Uyttenboogaart M. Thrombolytic therapy for ischaemic stroke in patients using warfarin: a systematic review and meta-analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2012;83(5):537-540.
15. Anderson CS, Heeley E, Huang Y, et al. Rapid blood-pressure lowering in patients with acute intracerebral hemorrhage. *N Engl J Med*. 2013;368(25):2355-2365.
16. Frontera JA, Gordon E, Zach V, et al. Reversal of coagulopathy using prothrombin complex concentrates is associated with improved outcome compared to fresh frozen plasma in warfarin-associated intracranial hemorrhage. *Neurocrit Care*. 2014;21(3):397-406.
17. Kuramatsu JB, Gerner ST, Schellinger PD, et al. Anticoagulant reversal, blood pressure levels, and anticoagulant resumption in patients with anticoagulation-related intracerebral hemorrhage. *JAMA*. 2015;313(8):824-836.
18. Veltkamp R, Fiehler J, Grond M, et al. Akuttherapie des ischämischen Schlaganfalls (AWMF Registernummer 030 - 046). In: Neurologie KLdDGf, ed. *Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie*. Stuttgart: Thieme Verlag; 2012.
19. Rizos T, Herweh C, Jenetzky E, et al. Point-of-care international normalized ratio testing accelerates thrombolysis in patients with acute ischemic stroke using oral anticoagulants. *Stroke*. 2009;40(11):3547-3551.
20. Walter S, Kostopoulos P, Haass A, et al. Point-of-care laboratory halves door-to-therapy-decision time in acute stroke. *Ann Neurol*. 2011;69(3):581-586.
21. [https://www.bundesaerztekammer.de/fileadmin/user\\_upload/downloads/pdf-Ordner/QS/Rili\\_BAEK\\_Qualitaetssicherg\\_laboratoriumsmedUntersuchungen\\_2\\_019.pdf](https://www.bundesaerztekammer.de/fileadmin/user_upload/downloads/pdf-Ordner/QS/Rili_BAEK_Qualitaetssicherg_laboratoriumsmedUntersuchungen_2_019.pdf) (Zugriff am 05.05.2021).
22. Lupp PB, Schlebusch H. Kapitel 2 - Definitionen und Anwendungsbereiche. *POCT - Patientennahe Labordiagnostik*. Heidelberg: Springer Medizin Verlag; 2008.
23. Davie EW, Ratnoff OD. Waterfall Sequence for Intrinsic Blood Clotting. *Science*. 1964;145(3638):1310-1312.
24. Macfarlane RG. An Enzyme Cascade in the Blood Clotting Mechanism, and Its Function as a Biochemical Amplifier. *Nature*. 1964;202:498-499.
25. Davie EW, Fujikawa K, Kisiel W. The coagulation cascade: initiation, maintenance, and regulation. *Biochemistry*. 1991;30(43):10363-10370.

26. Laki K, Lorand L. On the Solubility of Fibrin Clots. *Science*. 1948;108(2802):280.
27. Lorand L. Interaction of thrombin and fibrinogen. *Physiol Rev*. 1954;34(4):742-752.
28. Kitchens CS, Newcomb TF. Factor XIII. *Medicine (Baltimore)*. 1979;58(6):413-429.
29. Hoffman M, Monroe DM, 3rd. A cell-based model of hemostasis. *Thromb Haemost*. 2001;85(6):958-965.
30. Virchow R. *Gesammelte Abhandlungen zur wissenschaftlichen Medicin*. Frankfurt a.M.,: Verlag von Meidinger Sohn; 1856.
31. Hull R, Delmore T, Genton E, et al. Warfarin sodium versus low-dose heparin in the long-term treatment of venous thrombosis. *N Engl J Med*. 1979;301(16):855-858.
32. Wessler S. Drug prophylaxis for arterial thromboembolism--1981. *JAMA*. 1981;246(21):2484-2487.
33. *Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information. Anatomisch-therapeutisch-chemische Klassikation mit Tagesdosen - Amtliche Fassung des ATC-Index mit DDD-Angaben für Deutschland im Jahre 2019.*
34. Stangier J, Rathgen K, Stahle H, Gansser D, Roth W. The pharmacokinetics, pharmacodynamics and tolerability of dabigatran etexilate, a new oral direct thrombin inhibitor, in healthy male subjects. *Br J Clin Pharmacol*. 2007;64(3):292-303.
35. Frost C, Wang J, Nepal S, et al. Apixaban, an oral, direct factor Xa inhibitor: single dose safety, pharmacokinetics, pharmacodynamics and food effect in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol*. 2013;75(2):476-487.
36. Ogata K, Mendell-Harary J, Tachibana M, et al. Clinical safety, tolerability, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of the novel factor Xa inhibitor edoxaban in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol*. 2010;50(7):743-753.
37. Kubitza D, Becka M, Voith B, Zuehlsdorf M, Wensing G. Safety, pharmacodynamics, and pharmacokinetics of single doses of BAY 59-7939, an oral, direct factor Xa inhibitor. *Clin Pharmacol Ther*. 2005;78(4):412-421.
38. Stahmann MA, Huebner CF, Link KP. Studies on the Hemorrhagic Sweet Clover Disease: V. Identification and Synthesis of the Hemorrhagic Agent. *Journal of Biological Chemistry*. 1941;138:513-527.
39. Markwardt F. Untersuchungen über Hirudin. *Naturwissenschaften*. 1955;42:537-538.

40. Dodt J, Müller H-P, Seemüller U, Chang J-Y. The complete amino acid sequence of hirudin, a thrombin specific inhibitor. *FEBS Lett.* 1984;165(2):180-184.
41. Cuker A, Arepally GM, Chong BH, et al. American Society of Hematology 2018 guidelines for management of venous thromboembolism: heparin-induced thrombocytopenia. *Blood Adv.* 2018;2(22):3360-3392.
42. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/variation-report/pradaxa-h-c-829-x-13-epar-assessment-report-extension\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/variation-report/pradaxa-h-c-829-x-13-epar-assessment-report-extension_en.pdf) (Zugriff am 05.05.2021).
43. Quick AJ, Stanley-Brown M, Bancroft FW. A Study of the Coagulation Defect in Hemophilia and in Jaundice. *American Journal of the Medical Sciences.* 1935;190:501-511.
44. Langdell RD, Wagner RH, Brinkhous KM. Effect of antihemophilic factor on one-stage clotting tests; a presumptive test for hemophilia and a simple one-stage antihemophilic factor assay procedure. *J Lab Clin Med.* 1953;41(4):637-647.
45. Rodman NF, Jr., Barrow EM, Graham JB. Diagnosis and control of the hemophiloid states with the partial thromboplastin time (PTT) test. *Am J Clin Pathol.* 1958;29(6):525-538.
46. Proctor RR, Rapaport SI. The partial thromboplastin time with kaolin. A simple screening test for first stage plasma clotting factor deficiencies. *Am J Clin Pathol.* 1961;36:212-219.
47. Struver GP, Bittner DL. The partial thromboplastin time (cephalin time) in anticoagulation therapy. *Am J Clin Pathol.* 1962;38:473-481.
48. Kirkwood TB. Calibration of reference thromboplastins and standardisation of the prothrombin time ratio. *Thromb Haemost.* 1983;49(3):238-244.
49. ICSH/ICTH recommendations for reporting prothrombin time in oral anticoagulant control. International Committee for Standardization in Haematology and International Committee on Thrombosis and Haemostasis. *J Clin Pathol.* 1985;38(2):133-134.
50. Blomback M, Blomback B, Olsson P, Svendsen L. The assay of antithrombin using a synthetic chromogenic substrate for thrombin. *Thromb Res.* 1974;5(5):621-632.
51. Luddington RJ. Thrombelastography/thromboelastometry. *Clin Lab Haematol.* 2005;27(2):81-90.
52. Agren A, Wikman AT, Holmstrom M, Ostlund A, Edgren G. Thromboelastography (TEG(R)) compared to conventional coagulation tests in

surgical patients--a laboratory evaluation. *Scand J Clin Lab Invest.* 2013;73(3):214-220.

53. Camm AJ, Accetta G, Ambrosio G, et al. Evolving antithrombotic treatment patterns for patients with newly diagnosed atrial fibrillation. *Heart.* 2017;103(4):307-314.

54. [https://www.zi.de/fileadmin/images/content/Grafik\\_des\\_Monats/GdM\\_10-19-DOAK\\_Druck.png](https://www.zi.de/fileadmin/images/content/Grafik_des_Monats/GdM_10-19-DOAK_Druck.png) (Zugriff am 05.05.2021).

55. European Medicines Agency - Eliquis: Zusammenfassung der Merkmale des Arzneimittels [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/eliquis-epar-product-information\\_de.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/eliquis-epar-product-information_de.pdf) (Zugriff am 05.05.2021).

56. European Medicines Agency - Lixiana: Zusammenfassung der Merkmale des Arzneimittels [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/lixiana-epar-product-information\\_de.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/lixiana-epar-product-information_de.pdf) (Zugriff am 05.05.2021).

57. European Medicines Agency - Pradaxa: Zusammenfassung der Merkmale des Arzneimittels [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/pradaxa-epar-product-information\\_de.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/pradaxa-epar-product-information_de.pdf) (Zugriff am 05.05.2021).

58. European Medicines Agency - Xarelto: Zusammenfassung der Merkmale des Arzneimittels [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/xarelto-epar-product-information\\_de.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/xarelto-epar-product-information_de.pdf) (Zugriff am 05.05.2021).

59. Granger CB, Alexander JH, McMurray JJ, et al. Apixaban versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *The New England journal of medicine.* 2011;365(11):981-992.

60. Connolly SJ, Ezekowitz MD, Yusuf S, et al. Dabigatran versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med.* 2009;361(12):1139-1151.

61. Giugliano RP, Ruff CT, Braunwald E, et al. Edoxaban versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med.* 2013;369(22):2093-2104.

62. Patel MR, Mahaffey KW, Garg J, et al. Rivaroxaban versus warfarin in nonvalvular atrial fibrillation. *N Engl J Med.* 2011;365(10):883-891.

63. Ingelheim B. *Fachinformation Actilyse®.* April 2018 2018.

64. Ebner M, Birschmann I, Peter A, et al. Emergency Coagulation Assessment During Treatment With Direct Oral Anticoagulants: Limitations and Solutions. *Stroke.* 2017;48(9):2457-2463.

65. <https://www.apotheke-adhoc.de/nachrichten/detail/pharmazie/gerinnungshemmer-praxbind-sicherheit-zum-symbolpreis-boehringer/?t=1> (Zugriff am: 05.05.2021).

66. Anlage XII – Nutzenbewertung von Arzneimitteln mit neuen Wirkstoffen nach § 35a SGB V: Andexanet alfa unter [https://www.g-ba.de/downloads/40-268-6613/2020-02-20\\_AM-RL-XII\\_Andexanet-alfa\\_D-487\\_ZD.pdf](https://www.g-ba.de/downloads/40-268-6613/2020-02-20_AM-RL-XII_Andexanet-alfa_D-487_ZD.pdf) (Zugriff am 05.05.2021).
67. Connolly SJ, Milling TJ, Jr., Eikelboom JW, et al. Andexanet Alfa for Acute Major Bleeding Associated with Factor Xa Inhibitors. *N Engl J Med.* 2016;375(12):1131-1141.
68. Connolly SJ, Crowther M, Eikelboom JW, et al. Full Study Report of Andexanet Alfa for Bleeding Associated with Factor Xa Inhibitors. *N Engl J Med.* 2019;380(14):1326-1335.
69. Steiner T, Poli S, Griebel M, et al. Fresh frozen plasma versus prothrombin complex concentrate in patients with intracranial haemorrhage related to vitamin K antagonists (INCH): a randomised trial. *The Lancet Neurology.* 2016;15(6):566-573.
70. Meretoja A, Keshtkaran M, Saver JL, et al. Stroke thrombolysis: save a minute, save a day. *Stroke.* 2014;45(4):1053-1058.
71. Seet RC, Zhang Y, Moore SA, Wijedicks EF, Rabinstein AA. Subtherapeutic international normalized ratio in warfarin-treated patients increases the risk for symptomatic intracerebral hemorrhage after intravenous thrombolysis. *Stroke.* 2011;42(8):2333-2335.
72. Xian Y, Liang L, Smith EE, et al. Risks of intracranial hemorrhage among patients with acute ischemic stroke receiving warfarin and treated with intravenous tissue plasminogen activator. *JAMA.* 2012;307(24):2600-2608.
73. Mazya MV, Lees KR, Markus R, et al. Safety of intravenous thrombolysis for ischemic stroke in patients treated with warfarin. *Ann Neurol.* 2013;74(2):266-274.
74. Ahmed N, Audebert H, Turc G, et al. Consensus statements and recommendations from the ESO-Karolinska Stroke Update Conference, Stockholm 11-13 November 2018. *Eur Stroke J.* 2019;4(4):307-317.
75. Ahmed N, Steiner T, Caso V, Wahlgren N. Recommendations from the ESO-Karolinska Stroke Update Conference, Stockholm 13–15 November 2016. *European Stroke Journal.* 2017;2(2):95-102.
76. Touze E, Gruel Y, Gouin-Thibault I, et al. Intravenous thrombolysis for acute ischaemic stroke in patients on direct oral anticoagulants. *European journal of neurology.* 2018;25(5):747-e752.
77. Pernod G, Albaladejo P, Godier A, et al. Management of major bleeding complications and emergency surgery in patients on long-term treatment with direct oral anticoagulants, thrombin or factor-Xa inhibitors: proposals of the

working group on perioperative haemostasis (GIHP) - March 2013. *Arch Cardiovasc Dis.* 2013;106(6-7):382-393.

78. Levy JH, Ageno W, Chan NC, et al. When and how to use antidotes for the reversal of direct oral anticoagulants: guidance from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost.* 2016;14(3):623-627.

79. Drouet L, Bal Dit Sollier C, Steiner T, Purruicker J. Measuring non-vitamin K antagonist oral anticoagulant levels: When is it appropriate and which methods should be used? *Int J Stroke.* 2016;11(7):748-758.

80. Zantek ND, Hayward CP, Simcox TG, Smock KJ, Hsu P, Van Cott EM. An Assessment of the State of Current Practice in Coagulation Laboratories. *Am J Clin Pathol.* 2016;146(3):378-383.

81. Ebner M, Peter A, Spencer C, et al. Point-of-Care Testing of Coagulation in Patients Treated With Non-Vitamin K Antagonist Oral Anticoagulants. *Stroke.* 2015;46(10):2741-2747.

82. Ebner M, Birschmann I, Peter A, et al. Point-of-care testing for emergency assessment of coagulation in patients treated with direct oral anticoagulants. *Crit Care.* 2017;21(1):32.

83. Forbes CD, Turpie AG, McNicol GP, Douglas AS. Studies on East African snakes. Mode of action of *Echis carinatus* venom. *Scott Med J.* 1966;11(5):168-175.

84. Kornalik F, Blomback B. Prothrombin activation induced by Ecarin - a prothrombin converting enzyme from *Echis carinatus* venom. *Thromb Res.* 1975;6(1):57-63.

85. Novoa E, Seegers WH. Mechanisms of alpha-thrombin and beta-thrombin-E formation: use of ecarin for isolation of meizothrombin 1. *Thromb Res.* 1980;18(5):657-668.

86. Nowak G. The ecarin clotting time, a universal method to quantify direct thrombin inhibitors. *Pathophysiol Haemost Thromb.* 2003;33(4):173-183.

87. Stocker K, Fischer H, Brogli M. Chromogenic assay for the prothrombin activator ecarin from the venom of the saw-scaled viper (*Echis carinatus*). *Toxicon.* 1986;24(1):81-89.

88. Di Nisio M, Middeldorp S, Buller HR. Direct thrombin inhibitors. *N Engl J Med.* 2005;353(10):1028-1040.

89. Gosselin RC, Adcock DM, Bates SM, et al. International Council for Standardization in Haematology (ICSH) Recommendations for Laboratory Measurement of Direct Oral Anticoagulants. *Thromb Haemost.* 2018;118(3):437-450.

90. Härtig F, Birschmann I, Peter A, et al. Specific Point-of-Care Testing of Coagulation in Patients Treated with Dabigatran. *Thromb Haemost.* 2021.
91. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/angiox-epar-product-information\\_de.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/angiox-epar-product-information_de.pdf) (Zugriff am 05.05.2021).
92. [https://www.hitado.de/media/pdf/ac/b9/f7/ABRAZO\\_BAL\\_D6500100C\\_Abrazo-Operator-Manual-German.pdf](https://www.hitado.de/media/pdf/ac/b9/f7/ABRAZO_BAL_D6500100C_Abrazo-Operator-Manual-German.pdf) (Zugriff am: 05.05.2021).
93. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02825394> (Zugriff am 05.05.2021).
94. Kuhn J, Gripp T, Flieder T, et al. UPLC-MRM Mass Spectrometry Method for Measurement of the Coagulation Inhibitors Dabigatran and Rivaroxaban in Human Plasma and Its Comparison with Functional Assays. *PloS one.* 2015;10(12):e0145478.
95. Cuker A, Siegal DM, Crowther MA, Garcia DA. Laboratory Measurement of the Anticoagulant Activity of the Non-Vitamin K Oral Anticoagulants. *J Am Coll Cardiol.* 2014;64(11):1128-1139.
96. DIN 32645:2008-11 - Chemische Analytik - Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze unter Wiederholbedingungen - Begriffe, Verfahren, Auswertung
97. Schiele F, van Ryn J, Canada K, et al. A specific antidote for dabigatran: functional and structural characterization. *Blood.* 2013;121(18):3554-3562.
98. Pollack CV, Jr., Reilly PA, van Ryn J, et al. Idarucizumab for Dabigatran Reversal - Full Cohort Analysis. *N Engl J Med.* 2017;377(5):431-441.
99. National Center for Biotechnology Information - PubChem Database CID: 216210 <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dabigatran> (Zugriff am 05.05.2021).
100. Glund S, Stangier J, Schmohl M, et al. Safety, tolerability, and efficacy of idarucizumab for the reversal of the anticoagulant effect of dabigatran in healthy male volunteers: a randomised, placebo-controlled, double-blind phase 1 trial. *Lancet.* 2015;386(9994):680-690.
101. Eikelboom JW, Quinlan DJ, van Ryn J, Weitz JI. Idarucizumab: The Antidote for Reversal of Dabigatran. *Circulation.* 2015;132(25):2412-2422.
102. Youden WJ. Index for rating diagnostic tests. *Cancer.* 1950;3(1):32-35.
103. Newcombe RG. Two-sided confidence intervals for the single proportion: comparison of seven methods. *Statistics in medicine.* 1998;17(8):857-872.
104. Steiner T, Freiberger A, Griebel M, et al. International normalised ratio normalisation in patients with coumarin-related intracranial haemorrhages--the INCH trial: a randomised controlled multicentre trial to compare safety and

preliminary efficacy of fresh frozen plasma and prothrombin complex--study design and protocol. *International journal of stroke : official journal of the International Stroke Society*. 2011;6(3):271-277.

105. Hanley JA, McNeil BJ. The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. *Radiology*. 1982;143(1):29-36.

106. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet*. 1986;1(8476):307-310.

107. Krouwer JS. Why Bland-Altman plots should use X, not (Y+X)/2 when X is a reference method. *Stat Med*. 2008;27(5):778-780.

108. Levey AS, Coresh J, Greene T, et al. Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate. *Ann Intern Med*. 2006;145(4):247-254.

109. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med*. 2009;150(9):604-612.

110. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron*. 1976;16(1):31-41.

111. Hartig F, Birschmann I, Peter A, et al. Point-of-care testing of coagulation in patients treated with edoxaban. *J Thromb Thrombolysis*. 2020;50(3):632-639.

112. Poli S, Härtig F, Spencer C, et al. Diagnostic Accuracy of a Novel Chromogenic Direct Thrombin Inhibitor Assay: Clinical Experiences for Dabigatran Monitoring. *Thromb Haemost*. 2017;117(2):2369-2375.

113. Ebner M, Birschmann I, Peter A, et al. Limitations of Specific Coagulation Tests for Direct Oral Anticoagulants: A Critical Analysis. *J Am Heart Assoc*. 2018;7(19):e009807.

114. Härtig F, Poli S, Ebner M, et al. Monitoring of low dabigatran concentrations: diagnostic performance at clinically relevant decision thresholds. *J Thromb Thrombolysis*. 2020;49(3):457-467.

115. Härtig F, Birschmann I, Peter A, et al. Point-of-Care Testing for Emergency Assessment of Coagulation in Patients Treated with Direct Oral Anticoagulants Including Edoxaban. *Neurological Research and Practice*. 2021;3(9).

116. Seyve L, Richarme C, Polack B, Marlu R. Impact of four direct oral anticoagulants on rotational thromboelastometry (ROTEM). *Int J Lab Hematol*. 2018;40(1):84-93.

117. Henskens YMC, Gulpen AJW, van Oerle R, et al. Detecting clinically relevant rivaroxaban or dabigatran levels by routine coagulation tests or



thromboelastography in a cohort of patients with atrial fibrillation. *Thromb J.* 2018;16:3.

118. Bliden KP, Chaudhary R, Mohammed N, et al. Determination of non-Vitamin K oral anticoagulant (NOAC) effects using a new-generation thrombelastography TEG 6s system. *J Thromb Thrombolysis.* 2017;43(4):437-445.

119. Eller T, Busse J, Dittrich M, et al. Dabigatran, rivaroxaban, apixaban, argatroban and fondaparinux and their effects on coagulation POC and platelet function tests. *Clin Chem Lab Med.* 2014;52(6):835-844.

120. [https://www.hitado.de/media/pdf/ee/ee/83/SYSMEX-18638\\_Folder\\_DOAC-Dipstick\\_DE\\_RZ\\_view.pdf](https://www.hitado.de/media/pdf/ee/ee/83/SYSMEX-18638_Folder_DOAC-Dipstick_DE_RZ_view.pdf) (Zugriff am 05.05.2021).

121. Harenberg J, Schreiner R, Hetjens S, Weiss C. Detecting Anti-IIa and Anti-Xa Direct Oral Anticoagulant (DOAC) Agents in Urine using a DOAC Dipstick. *Semin Thromb Hemost.* 2019;45(3):275-284.

## 7. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Antikoagulanzen .....	9
Tabelle 2: Jährliche Komplikationsraten der DOAK im Vergleich zu Warfarin ..	15
Tabelle 3: In-Vitro Antagonisierung von Dabigatran (Dabigatran-Proben) .....	31
Tabelle 4: In-vitro Antagonisierung von Dabigatran (Idarucizumab-Zugabe) ....	32
Tabelle 5: Basisdaten der untersuchten Patientenpopulation .....	36
Tabelle 6: Basis-Labordaten.....	37
Tabelle 7: Sensitivität und Spezifität im Hinblick auf die Detektion von Dabigatran-Plasmakonzentrationen >30 und >50 ng/mL .....	46
Tabelle 8: Vergleich der Flächen unter der ROC-Kurve (AUROC) für die Detektion von Dabigatran-Plasmakonzentrationen >30 und >50 ng/mL ....	49
Tabelle 9: Einfluss von unfraktioniertem Heparin auf die POC-ECT .....	55
Tabelle 10: Einfluss von direkten oralen Faktor-Xa-Inhibitoren und niedermolekularem Heparin (NMH) auf die POC-ECT .....	56
Tabelle 11: In-vitro Antagonisierung des Dabigatran-Effekts durch Idarucizumab .....	57
Tabelle 12: Empfehlungen der ESO zur Anwendung des Hemochron™ Signature Elite POC-Testsystem zum Ausschluss relevanter DOAK- Plasmakonzentrationen.....	61

## 8. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Plasmatische Gerinnung – Intrinsischer Pfad.....	6
Abbildung 2: Plasmatische Gerinnung - Extrinsischer Pfad .....	7
Abbildung 3: Verschreibungsstatistik der VKA und DOAK in Deutschland 2009- 2018 .....	14
Abbildung 4: ECT, aPTT und TT zur Messung des direkten Thrombininhibitors Hirudin.....	19
Abbildung 5: Das Cascade® Abrazo Gerinnungsschnelltestgerät der Firma Helena Laboratories (Beaumont, TX, USA) .....	22
Abbildung 6: Aufbau der Testkarte .....	24
Abbildung 7: Aufbau der Messvorrichtung.....	24
Abbildung 8: POC-ECT aus Vollblut.....	39
Abbildung 9: POC-ECT aus Zitratvollblut .....	39
Abbildung 10: POC-ECT aus Zitratplasma .....	40
Abbildung 11: Labor-basierte ECT .....	40
Abbildung 12: Labor-basierter BDTI .....	41
Abbildung 13: Quick .....	42
Abbildung 14: INR .....	43
Abbildung 15: aPTT.....	43
Abbildung 16: ROC-Kurven - 30 ng/mL-Behandlungsgrenzwert.....	48
Abbildung 17: ROC-Kurven - 50 ng/mL-Behandlungsgrenzwert.....	48
Abbildung 18: Bland-Altman-Diagramm - Kalibrierte POC-ECT (aus Zitratplasma) .....	51
Abbildung 19: Bland-Altman-Diagramm - Kal. POC-ECT aus Zitratplasma (0- 100 ng/mL) .....	51
Abbildung 20: Bland-Altman-Diagramm - Kalibrierte Labor-ECT .....	52
Abbildung 21: Bland-Altman-Diagramm - Kalibrierte Labor-ECT (0-100 ng/mL) .....	52
Abbildung 22: Bland-Altman-Diagramm – Kalibrierter Labor-BDTI .....	53

Abbildung 23: Bland-Altman-Diagramm – Kalibrierter Labor-BDTI (0-100 ng/mL)  
.....53

## 9. Erklärung zum Eigenanteil

Ich, Florian Joachim Härtig, erkläre, dass ich gemeinsam mit Herrn Dr. med. Matthias Ebner und Herrn PD Dr. med. Sven Poli die dieser Arbeit zugrundeliegende klinische Studie konzipiert, dass ich gemeinsam mit Frau Charlotte Spencer, Herrn Prof. Dr. med. Michael Gramlich, Herrn Hardy Richter und Frau Prof. Dr. med. Christine Zürn die Patientenrekrutierung und Datenerhebung durchgeführt und dass ich die erhobenen Daten selbst analysiert habe. Sämtliche Tabellen und Diagramme im Kapitel 3: Ergebnisse habe ich selbst aufgrund der im Rahmen der Studie erhobenen Daten erstellt. Herr Dr. Gunnar Blumenstock hat Hilfestellung bei Fragen zu statistischen Methoden gegeben.

Herr Prof. Dr. med. Andreas Peter, Frau PD Dr. med. Dr. rer. nat. Ingvild Birschmann, Herr Dr. rer. nat. Joachim Kuhn, Herr Prof. Dr. rer. nat. Rainer Lehmann und Herr Dr. med. Sebastian Hörber haben alle Labor-basierten Gerinnungstests und die massenspektrometrischen Messungen durchgeführt. Die Manuskripte zu den in Kapitel 10: Veröffentlichungen aufgeführten Publikationen wurden von mir bzw. Herrn Dr. med. Sebastian Hörber und mir verfasst. Die gesamte genannte jeweilige Autorengruppe hat zur kritischen Revision der Manuskripte beigetragen.

Herr PD Dr. med. Sven Poli hat als Leiter der klinischen Prüfung die Studie und zudem das Promotionsvorhaben betreut.

Die vorgelegte Dissertation wurde von mir selbst verfasst. Es wurden keine anderen als die ausdrücklich bezeichneten Quellen und Hilfsmittel benutzt. Wörtlich oder inhaltlich übernommene Stellen sind solche gekennzeichnet.

Tübingen, den 05.05.2021

---

Florian Joachim Härtig

## 10. Veröffentlichungen

Im Rahmen der vorliegenden Dissertationsschrift zugrundeliegenden Forschungsarbeit wurden folgende wissenschaftliche Artikel (peer-reviewed) veröffentlicht:

**Härtig F**, Poli S, Ebner M, Birschmann I, Kuhn J, Ziemann U, Häring HU, Lehmann R, Peter A, Hörber S. Monitoring Of Low Dabigatran Concentrations: Diagnostic Accuracy At Clinically Relevant Decision Thresholds  
*Journal of Thrombosis and Thrombolysis* 2020; 49(3):457-467

**Härtig F**, Birschmann I, Peter A, Ebner M, Spencer C, Gramlich M, Richter H, Kuhn J, Lehmann R, Blumenstock G, Zuern CS, Ziemann U, Poli S. Specific Point-of-Care Testing of Coagulation in Patients Treated with Dabigatran  
*Thrombosis and Haemostasis* 2021, DOI: 10.1055/s-0040-1721775

Vorläufige Ergebnisse wurden im Rahmen der folgenden Konferenzbeiträge vorgestellt:

### **Wissenschaftliche Vorträge:**

Arbeitstreffen NeuroIntensivmedizin (ANIM), Berlin – 29.01.2016

AHA/ASA - International Stroke Conference, Los Angeles – 18.02.2016

Arbeitstreffen NeuroIntensivmedizin (ANIM), Wien – 16.02.2017

AHA/ASA - International Stroke Conference, Houston – 22.02.2017

3rd European Stroke Organisation Conference, Prag – 17.05.2017

DGK Expertenmeeting Herz - Hirn, Düsseldorf – 22.07.2017

### **Posterpräsentationen:**

2nd European Stroke Organisation Conference, Barcelona – 10.-12.05.2016

AHA Scientific Sessions, New Orleans – 12.-16.11.2016

3. Münchner POCT Symposium – 13.-15.03.2017

ISTH Scientific and Standardization Meeting, Dublin 17.-21.07.2018