

**Messung der Konzentration von D-Dimeren  
zur Ermittlung physiologischer Referenzbereiche  
im Verlauf der Schwangerschaft**

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin

der medizinischen Fakultät  
der Eberhardt-Karls-Universität  
zu Tübingen

vorgelegt von  
Nadine Pingel  
aus Heiligenstadt

2012

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Privatdozent Dr. M. Koch

2. Berichterstatter: Professor Dr. R. Lehmann

**„Die medizinische Forschung hat so enorme Fortschritte gemacht,  
dass es überhaupt keine gesunden Menschen mehr gibt.“**

**Aldous Huxley (1894-1963), englischer Schriftsteller**

## Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	9
1.1 Homöostase .....	9
1.2 Die plasmatische Gerinnung .....	9
1.3 Die Fibrinolyse.....	12
1.4 D-Dimere .....	14
1.4.1 D-Dimere als Indikatoren der Gerinnungsaktivität .....	14
1.4.2 Sensitivität und Spezifität der D-Dimere .....	16
1.5 Klinische Vortest-Wahrscheinlichkeit.....	18
1.5.1 Der Wells-Score .....	18
1.5.2 Mangelnde Spezifität der D-Dimere .....	20
1.6 Entstehung einer Thrombose .....	22
1.6.1 Definition einer Thrombose .....	22
1.6.2 Die Virchow Trias .....	23
1.6.3 Hyperkoagulabilität.....	24
1.7 Physiologische Veränderungen der Hämostase in der Schwangerschaft .....	24
1.8 Thromboembolien in der Schwangerschaft .....	25
1.9 Diagnostik einer Thromboembolie in der Schwangerschaft .....	27
1.10 Methoden zur Bestimmung der Konzentration der D-Dimere .....	29
1.10.1 Historie .....	29
1.10.2 Gegenwärtige Testmethoden .....	32
1.11 D-Dimere in der Schwangerschaft.....	33
1.11.1 Stand der Wissenschaft.....	35
1.11.2 Bisher fehlen Referenzbereiche .....	37
1.12 Ziel dieser Studie.....	37
2. Materialien und Methodik .....	39
2.1 Materialien .....	39
2.1.1 Patientenkollektiv .....	39
2.1.2 Probenanzahl pro Schwangerschaftswoche.....	39
2.1.3 Probenmaterial .....	40
2.1.4 Datenschutz .....	41
2.2 Methodik.....	41
2.2.1 Testsysteme .....	41
2.2.2 Testprinzip des turbidimetrischen Immunoassays.....	42

2.2.3 Eigenschaften der drei Testsysteme .....	43
2.2.3.1 „Tina-quant D-Dimer Gen. 2 (D-DI2)“ .....	43
2.2.3.2 „INNOVANCE D-Dimer“ .....	44
2.2.3.3 „HemosIL D-Dimer HS 500“ .....	45
2.2.3.4 Tabellarische Übersicht der Eigenschaften der drei Testsysteme .....	46
2.2.4 Qualitätskontrolle.....	47
2.2.5 Auswertung .....	47
3. Ergebnisse .....	48
3.1 Probenmaterial.....	48
3.1.1 Nebenstudie 1: Stabilität der D-Dimere bei Raumtemperatur.....	48
3.1.1.1 Durchführung.....	48
3.1.1.2 Ergebnis .....	48
3.1.2 Nebenstudie 2: Stabilität der D-Dimere nach dreimonatigem Einfrieren .....	49
3.1.2.1 Durchführung.....	49
3.1.2.2 Ergebnis .....	49
3.1.3 Nebenstudie 3: Materialvergleich von Citrat- und Heparinplasma.....	51
3.1.3.1 Hintergrund.....	51
3.1.3.2 Durchführung.....	51
3.1.3.3 Ergebnis .....	52
3.2 Ermittelte Werte.....	54
3.2.1 Patientinnen mit nachgewiesener Thrombose.....	54
3.2.2 Unplausible Messwerte .....	55
3.2.3 Ergebnisse in Streudiagrammen .....	56
3.2.4 Test auf Normalverteilung .....	57
3.2.5 Ergebnisse in Histogrammen .....	58
3.2.6 Ergebnisse in kumulativen Häufigkeiten.....	59
3.2.7 Deskriptive Statistik .....	60
3.2.8 Ergebnisse in Box-Whisker-Plots .....	61
3.2.8.1 Erläuterung.....	61
3.2.8.2 Box-Whisker-Plot aller Ergebnisse der drei Testsysteme.....	61
3.2.9 Mediane aller drei Testsysteme im Verlauf.....	63
3.2.10 Die 2,5. und 97,5. Perzentile aller drei Testsysteme im Verlauf .....	64
3.2.11 Referenzbereiche der D-Dimere im Verlauf der Schwangerschaft.....	64
3.2.11.1 Einteilung der Schwangerschaftswochen in vier Intervalle .....	64

3.2.11.2	Mediane der Intervalle .....	65
3.2.11.3	Die 2,5. und 97,5. Perzentilen der Intervalle.....	66
3.2.11.4	Probenanzahl über dem cut-off von 500 µg/l je Testsystem.....	67
3.4	Methodenvergleich .....	69
3.4.1	Lineare Regression .....	69
3.4.1.1	Lineare Regression von Tina-quant in Relation zu INNOVANCE.....	69
3.4.1.2	Lineare Regression von Tina-quant in Relation zu HemosIL.....	69
3.4.1.3	Lineare Regression von INNOVANCE in Relation zu HemosIL .....	70
3.4.2	Methodenvergleich: Bland-Altman-Diagramme .....	70
3.4.2.1	Vergleich INNOVANCE und Tina-quant .....	71
3.4.2.2	Vergleich HemosIL und Tina-quant .....	71
3.4.2.3	Vergleich HemosIL und INNOVANCE .....	72
4.	Diskussion .....	73
4.1	Probenmaterial .....	73
4.1.1	Stabilität der D-Dimere bei Raumtemperatur.....	73
4.1.1.1	Hintergrund.....	73
4.1.1.2	Stand der Wissenschaft.....	73
4.1.1.3	Nebenstudie 1 .....	75
4.1.1.4	Ergebnisse .....	75
4.1.2	Stabilität der D-Dimer nach dreimonatigem Einfrieren .....	76
4.1.2.1	Hintergrund.....	76
4.1.2.2	Stand der Wissenschaft.....	76
4.1.2.3	Nebenstudie 2 .....	76
4.1.2.4	Ergebnisse .....	76
4.1.3	Materialvergleich: Citratplasma und Heparinplasma .....	77
4.1.3.1	Hintergrund.....	77
4.1.3.2	Stand der Wissenschaft.....	78
4.1.3.3	Nebenstudie 3 .....	80
4.1.3.4	Ergebnisse .....	80
4.2	Patientenkollektiv .....	81
4.2.1	Hintergrund.....	81
4.2.2	Homogenität des Kollektivs .....	82
4.2.3	Probenanzahl .....	82
4.3	Ausschluss von Proben .....	82

4.3.1 Diagnostizierte Thrombosen.....	82
4.3.2 Unplausible Messwerte .....	82
4.4 Potentielle Fehlerquellen der Messmethoden .....	83
4.4.1 Interferierende Substanzen .....	83
4.4.2 Humane Anti-Maus-Antikörper (HAMA) .....	83
4.4.3 Rheumafaktoren.....	84
4.4.4 Medikamente.....	84
4.4.5 Weitere interferierende Substanzen .....	86
4.4.6 High-dose-hook-Effekt.....	86
4.4.7 Fazit .....	86
4.5 Resultate .....	87
4.5.1 Anstieg der D-Dimere im Verlauf der Schwangerschaft .....	87
4.5.2 Unbestimmte Ursache für den Anstieg der D-Dimere .....	88
4.5.3 Gesicherte Thrombosen.....	89
4.5.4 Sind die D-Dimere auch in der Schwangerschaft zum Ausschluss einer Thromboembolie von Nutzen? .....	91
4.5.5 Probenanzahl über dem cut-off zum Ausschluss von Thromboembolien.....	92
4.6 Referenzbereiche für gesunde Schwangere .....	93
4.6.1 Test auf Normalverteilung der Daten.....	93
4.6.2 Keine Eradikation von Extremwerten .....	93
4.6.3 95%-Vorhersagegrenzen.....	94
4.6.4. Die Ergebnisse in Intervallen.....	94
4.7 Vergleich mit weiteren Studien zur Ermittlung von Referenzbereichen der DDIM in der Schwangerschaft.....	95
4.7.1 Vergleich mit Giavarina et al. 2001.....	95
4.7.2 Vergleich mit Hannemann-Pohl et al. 2005 .....	96
4.7.3 Vergleich mit Szecsi et al. 2010 .....	98
4.7.4 Vergleich mit Kovac et al. 2010 .....	99
4.8 Mangelnde Standardisierung.....	100
4.8.1 Ursachen der Variabilität der Testergebnisse.....	101
4.8.1.1 Heterogenität der D-Dimere .....	101
4.8.1.2 Verwendung verschiedener Kalibratoren .....	102
4.8.1.3 Unterschiedlicher Einsatz von Antikörpern.....	103
4.8.2 Unterschiedliche Sensitivität der Testsysteme .....	104
4.8.2.1 Einfluss des verwendeten Patientenkollektivs .....	105

4.8.3 Fazit .....	106
4.8.4 Versuch der Standardisierung .....	107
4.8.5 Versuch der Harmonisierung.....	107
4.9 Methodenvergleich .....	108
4.9.1 Unterschiedliche D-Dimer-Konzentrationen bei derselben Patientin .....	108
4.9.2 Regressionsanalyse und Bland-Altman-Plots.....	109
4.9.2.1 Lineare Regression .....	109
4.9.2.2 Bland-Altman-Plots.....	110
4.9.3 Fazit .....	111
4.10 Schlussfolgerung.....	112
4.11 Ein Ausblick in die Zukunft .....	114
5. Zusammenfassung.....	115
Literaturverzeichnis .....	118
Abkürzungsverzeichnis .....	132
Abbildungsverzeichnis.....	134
Tabellenverzeichnis.....	136



## 1. Einleitung

### 1.1 Homöostase

Der Begriff Homöostase stammt aus dem Griechischen und bedeutet Gleichstand. Die Selbstregulierung ist ein fundamentales biologisches Funktionsprinzip um den Organismus in einem stabilen Zustand zu halten. Dabei wirken vielerlei Faktoren mit einander in einem ausgewogenen Wechselspiel.

Eines dieser Systeme ist das Gerinnungssystem des menschlichen Körpers. Es dient der Aufrechterhaltung der adäquaten Hämostase, bei der im Blut normalerweise ein Gleichgewicht zwischen Gerinnung und Blutverflüssigung besteht.

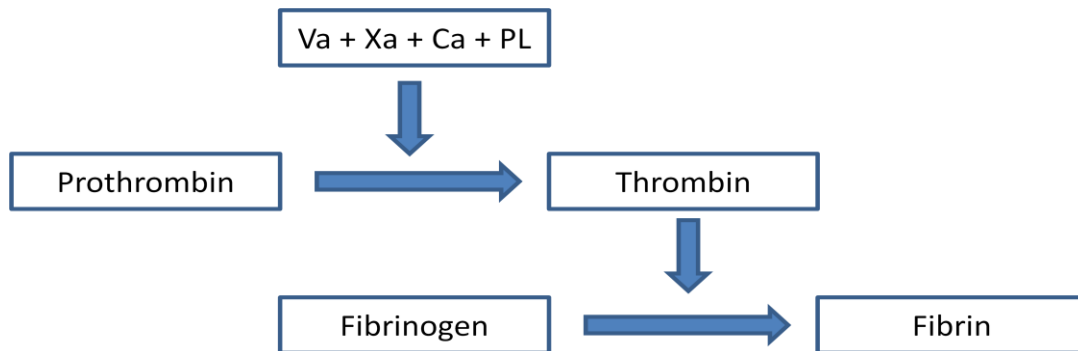
Seine wichtigste Funktion ist die Wiederherstellung der Gefäßintegrität nach einer Verletzung oder Schädigung durch Produktion eines stabilen Blutgerinnsels. Pro- und antikoagulante, zelluläre und humorale sowie fibrinolytische Faktoren formen ein umfangreiches System, das einen Schutz sowohl vor übermäßiger Bildung von Blutgerinnseln als auch vor überschießenden Blutungen gewährleistet. Normalerweise wird auf diese Weise eine optimale Blutstillung bei minimiertem Thromboserisiko erzielt. Bestimmte Erkrankungen, aber auch physiologische Veränderungen des menschlichen Körpers, können jedoch zu einem Ungleichgewicht in der Hämostase führen.

### 1.2 Die plasmatische Gerinnung

Das Blutplasma enthält eine umfangreiche Anzahl von Proteinen, die bei Interaktion mit Faktoren der Gefäßwand oder extrazellulärer Matrix die Bildung eines Gerinnsels auslösen. Das System der plasmatischen Gerinnung stellt kaskadenartig ablaufende, sich wechselseitig beeinflussende Faktoreninteraktionen dar, die in einer Aktivierung des sogenannten Faktor X zu Faktor Xa (a = aktiviert) münden. Zentral ist dabei die Bildung von Fibrin aus Fibrinogen – durch Wirkung des Enzyms Thrombin.

„Ziel der plasmatischen Gerinnung ist die Stabilisierung des Thrombozytenthrombus in dem ein Fibrinnetz ausgebildet wird. Thrombin katalysiert dabei die Fibrinbildung.“ (Luxembourg et al. 2007).

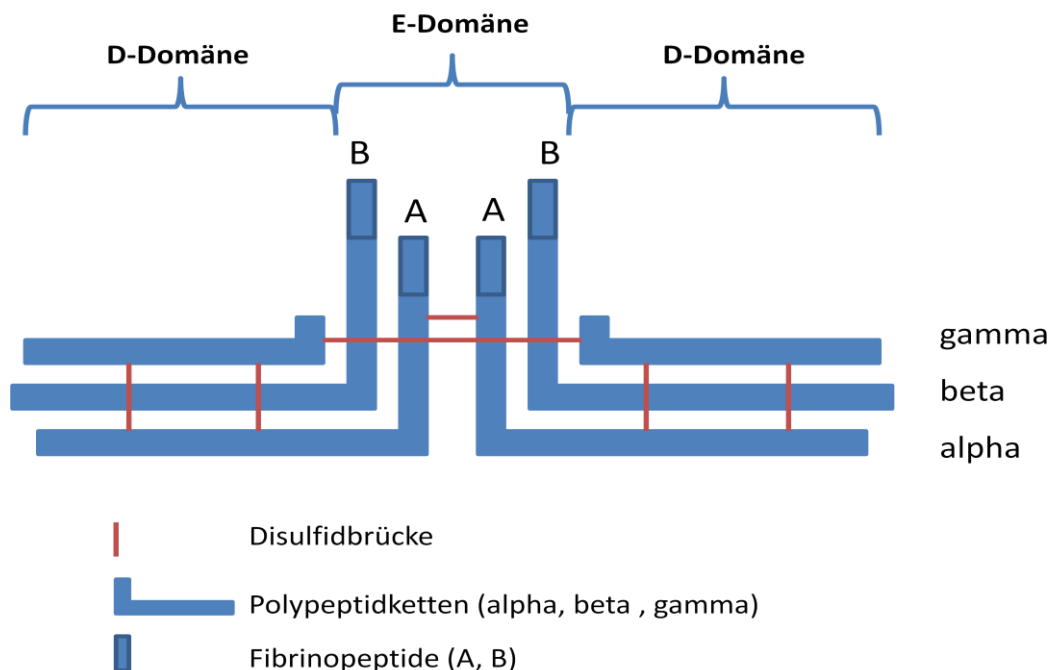
Als Thrombozytenthrombus wird dabei ein Zusammenschluss aus aggregierten Thrombozyten - und teilweise auch Erythrozyten und Fibrin - verstanden, der an der Intima geschädigter Blutgefäße oder am Endokard entsteht.



**Abbildung 1: Bildung von Fibrin**

Das „fibrinbildende“ Enzym Thrombin wird aus der Vorläufersubstanz Prothrombin gebildet. Die Aktivierung des Prothrombins findet durch die Abspaltung eines Prothrombinfragmentes statt und erfolgt unter Einwirkung des sogenannten Prothrombinasekomplexes - bestehend aus den Gerinnungsfaktoren Va, Xa sowie Calcium (Ca) und Phospholipiden (PL) (Hemker und Kahn 1967) – oder in geringerem Maße auch nur durch Einwirkung des Gerinnungsfaktors Xa allein.

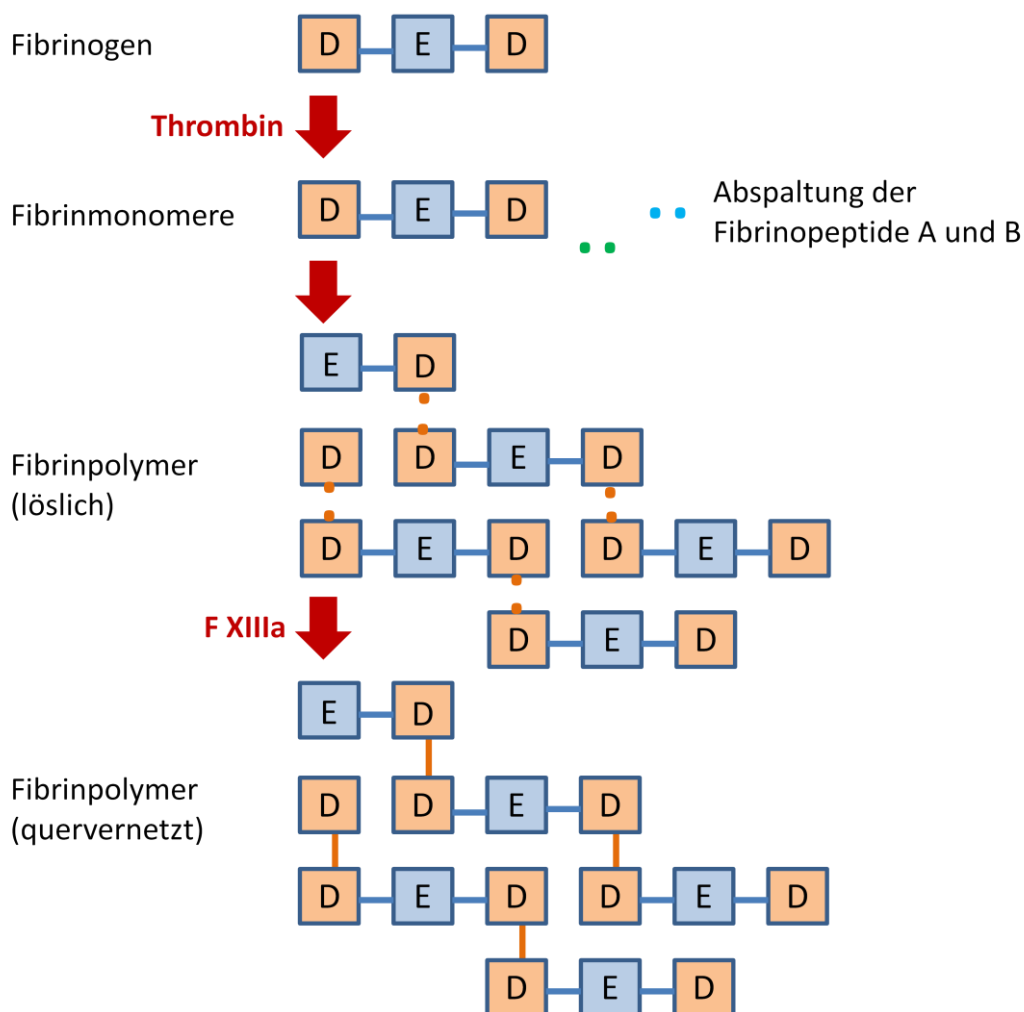
Die wichtigste Funktion des Thrombins ist die Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin. Fibrinogen wird in den Hepatozyten der Leber gebildet und anschließend in die Blutbahn abgegeben. Es handelt sich um ein dimeres Molekül - aufgebaut aus zwei identischen Untereinheiten, die jeweils aus 3 Polypeptidketten bestehen: Aa, Bb und y.



**Abbildung 2: Schematisierter Aufbau von Fibrinogen, modifiziert nach: „DOMAIN STRUCTURE OF FIBRINOGEN“ (Haematologic Technologies, Inc., 57 River Road, Unit 1021, Essex Junction, Vermont 05452 USA)**

Thrombin ist in der Lage beide Untereinheiten zu trennen sowie die Fibrinopeptide A von den a-Ketten zu lösen. Dabei entsteht Fibrin I – auch bekannt als Des-AA-Fibrinogen. Lösliche Komplexe aus Fibrin I und Fibrinogenspaltprodukten stellen sogenannte Fibrinmonomere dar.

In einem weiteren Schritt spaltet Thrombin die Fibrinopeptide B von den b-Ketten des Fibrin I ab, wodurch Des-AABB-Fibrinogen, auch Fibrin II genannt, entsteht. Dieses kann wiederum Aggregate mit längs-paralleler Anordnung der Monomere bilden. Es kommt zur spontanen Polymerisation.



**Abbildung 3: Bildung des unlöslichen Fibrinnetzes, modifiziert nach: Renz H: Gerinnung (Hämostase), in „Praktische Labordiagnostik“, Walter de Gruyter, Berlin 2009; 132.**

Durch Abspaltung sowohl der Fibrinopeptide A als auch der Fibrinopeptide B aus dem Fibrinogenmolekül entstehen Fibrinmonomere, die in der Lage sind unter Wirkung des Faktors XIIIa miteinander kovalente Bindungen einzugehen. Durch Verknüpfung der D-Domänen entstehen quervernetzte und somit unlösliche Komplexe.

Der von Thrombin aktivierte Faktor XIIIa - eine Transglutaminase, die v.a. im Zytosol von Thrombozyten und im Blutplasma vorkommt - sorgt für kovalente Bindung zwischen den  $\alpha$  - und den  $\gamma$  - Ketten der Fibrinmonomere und bewirkt somit eine mechanische Stabilisierung des Gerinnsels. Die entstehenden, quervernetzten Fibrindimere sind in der Lage durch Bindung weiterer Monomere ein unlösliches Polymer zu bilden – sogenannte Fibrinfäden.

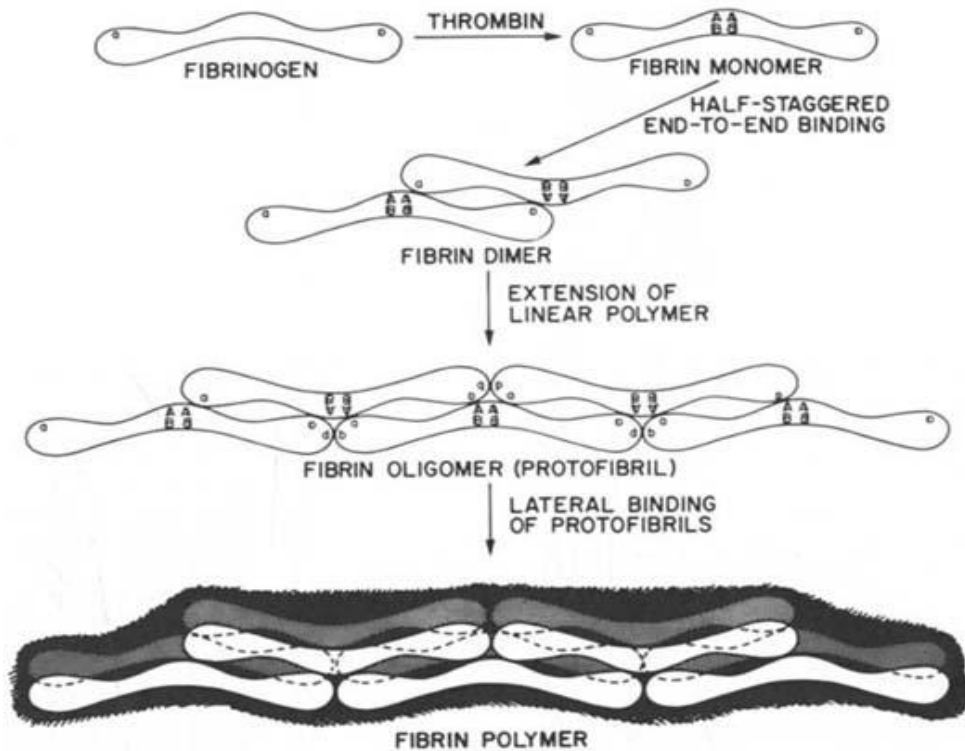


Abbildung 4: Schematisierte Darstellung der Bildung eines Fibrinfadens, aus: Colman RW, Budzynski AZ: "Blood Coagulation and Fibrinolysis" in: Source: Supplement 10: Handbook of Physiology, The Respiratory System, Circulation and Nonrespiratory Functions, 1985.

„Nun ist für die schadensfreie Funktion der Blutstillung die präzise Kontrolle der Thrombinbildung eine unabdingbare Voraussetzung, denn wo immer Thrombin auftritt, kommt es zur Bildung von Fibrin, sprich zur Gerinnung des Bluts und damit zur Gefahr einer Thrombose.“ (Hemker und Poliwoda 1993)

### 1.3 Die Fibrinolyse

Das antagonistische System zur plasmatischen Gerinnung ist die Fibrinolyse. Durch diesen Regulationsmechanismus wird einer überschießenden Fibrinbildung entgegengewirkt und das fibrinvernetztes Blutgerinnsel, der Thrombus, aufgelöst.

„Vergleichbar dem Thrombin in der Gerinnung stellt das Plasmin das zentrale Enzym der Fibrinolyse dar.“ (Renz 2009)

Die Serinprotease Plasmin wird aus Plasminogen gebildet. Dieser Vorgang läuft beschleunigt ab, wenn Plasminogen und dessen Aktivatoren zur selben Zeit über spezifische Bindungsstellen an das Fibrinmolekül binden (Nelles et al. 1990). Plasmin selbst katalysiert den proteolytischen Abbau von Fibrinogen zu Fibrinogenspaltprodukten (Gaffney und Perry 1985; Nieuwenhuizen 1988; Niewiarowski und Gurewick 1971) sowie auch den Abbau von Fibrin zu Fibrin-spaltprodukten – u.a. zu den sogenannten D-Dimeren (Riess 1999) – in dieser Arbeit als „DDIM“ abgekürzt.

Fibrinogen- bzw. Fibrin-Spaltprodukte werden teilweise auch als „FDP“ - Fibrinogen- bzw. Fibrin-Degradationsprodukte - bezeichnet. Die Plasmakonzentration der FDP verhält sich proportional zur Höhe der DDIM (Moresco et al. 2006).

Aus unlöslichem, quervernetztem Fibrin entstehen eine Vielzahl löslicher Derivate, deren Molekulargewicht abhängig vom Grad des Abbaus durch Plasmin ist. Ein Großteil der Abbauprodukte sind hochmolekulare X-Oligomere.

Bedeutsam ist dabei, dass die durch Faktor XIIIa verbindenden D-Domänen nicht durch die Einwirkung von Plasmin voneinander gelöst werden können. Demzufolge enthalten die nun löslichen Fibrin-Spaltprodukte ein „Neoantigen“: die doppelte D-Domäne bzw. D-Dimer-Domäne. Dieses ist weder im ursprünglichen Fibrinogen-Molekül, den entsprechenden Fibrinogen-Spalt-Produkten noch in löslichem Fibrin vorhanden.

„Die D-Dimere sind Plasmamarker, um die Fibrinogenolyse von der Fibrinolyse zu unterscheiden“ (Hemker und Poliwoda 1993), da sie beim Abbau von Fibrin nicht aber beim Abbau von Fibrinogen entstehen.

Bei fortschreitendem Abbau entstehen aus einem Molekül Fibrin zwei D-Fragmente, die vorher die D-Bindungsdomäne darstellten, und ein E-Fragment (ehemals als E-Domäne bezeichnet). Es liegen Fibrinmonomere vor, die als heterogene Gruppe in folgender Konstellation auftreten können: als DD-, DDE-, DDEE- und auch als DED-Fragment.

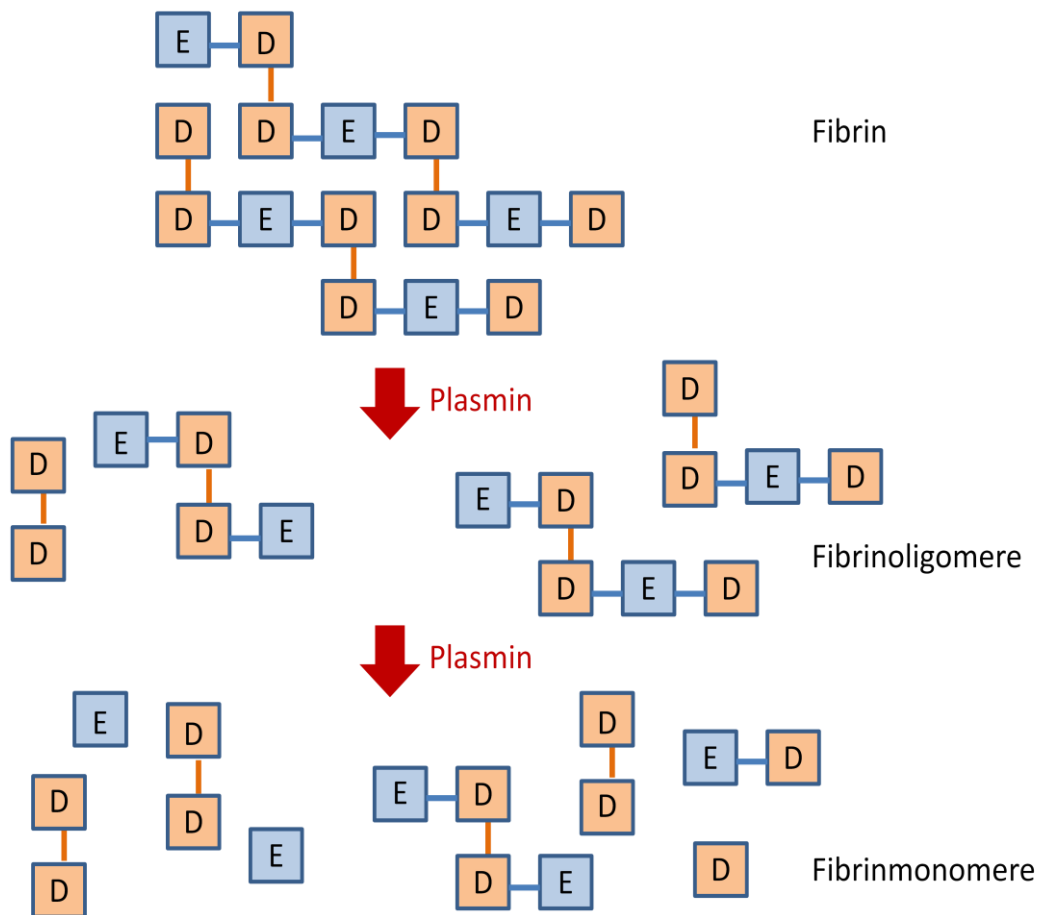


Abbildung 5: Schema der Fibrinolyse, modifiziert nach: Renz H: Gerinnung (Hämostase), in „Praktische Labordiagnostik“, Walter de Gruyter, Berlin 2009; 135.

Es entsteht eine Mischung aus Komplexen unterschiedlichen Molekulargewichts, die D- und E-Domänen enthalten - so z.B. DD mit 195 kD, DDE mit 228 kD etc. (Francis und Marder 1982, Gaffney und Edgell 1995, Niewenhuizen 1997). Diese kleinen Einheiten, die als Spaltprodukte unter der Wirkung von Plasmin aus Fibrin entstehen, werden auch **D-Dimere** genannt, da sie sich aus mindestens zwei D-Fragmenten zusammensetzen (Gaffney et al. 1975, Gaffney und Joe 1979).

Die spezifischen antigenen Determinanten „D-Dimere“ werden demzufolge aus je zwei benachbarten D-Domänen gebildet. (Brill-Edwards und Lee 1999).

## 1.4 D-Dimere

### 1.4.1 D-Dimere als Indikatoren der Gerinnungsaktivität

Wie beschrieben entstehen DDIM bei der Fibrinolyse - der proteolytischen Spaltung des durch F XIIIa stabilisierten, quervernetzten Fibrins durch Plasmin.

„Dimere D-Fragmente (D-Dimere) entstehen nur bei der Spaltung bereits quervernetzter Fibrinmoleküle (nicht bei Fibrinogenspaltung) und sind Ausdruck einer intravasalen Fibrinbildung (bei Thrombose oder Verbrauchs-koagulopathie) mit sekundärer Hyperfibrinolyse, weshalb sie zur Differentialdiagnose von Zuständen mit erhöhtem Gesamt-FSP (Fibrinspaltprodukten) wie Hyperfibrinolyse, septischer Schock, Missed abortion, chronische Thrombosen, Leberzirrhose (...) bestimmt werden.“ (Pschyrembel 1998)

Für klinische Entscheidungen kann es hilfreich sein, eine Beurteilung der Hämostasesituation anhand der Bestimmung von Reaktionsprodukten, die im Rahmen der Gerinnungsvorgänge gebildet werden, vorzunehmen - so z.B. durch die Bestimmung der DDIM.

„D-Dimer-Antigen ist der derzeit einzige allgemein verfügbare Laborparameter für die Bestimmung der Gerinnungsaktivierung“ (Dempfle 2005). D.h. die DDIM geben einen Hinweis auf die Aktivität des Hämostase-Systems. Eine erhöhte Konzentration im Blut spricht für eine Gerinnungsaktivierung, wie es bei einem thromboembolischen Ereignis - wie einer oberflächlichen Thrombophlebitis, einer tiefen Venenthrombose oder einer Embolisierung der Lungengefäße - der Fall sein kann.

Ende der 1980er Jahre wurde die Bestimmung der DDIM in der Diagnostik der TVT und LE eingeführt (Righini et al. 2008). Zurborn und Bruhn stellten 1991 fest, dass die DDIM dabei eine entscheidende Hilfe darstellen (Zurborn und Bruhn 1991).

„Erhöhte D-Dimer-Konzentrationen sind prädiktiv für eine TVT“ (Cushman et al. 2003).

Die DDIM haben bei V.a. eine VTE einen NPW von 99,3% - so Perrier et al. 1999 in einer Studie hinsichtlich nicht-invasiver Diagnostik von Thromboembolien (Perrier et al. 1999). Sie seien somit als Screeningparameter geeignet.

Insgesamt haben sich die DDIM - als gute Marker zur Diagnostik und Verlaufsbeurteilung von Gerinnungsstörungen zunehmend durchgesetzt (Harenberg 1999) und „sind inzwischen der am häufigsten verwendete Aktivierungsparameter des Gerinnungssystems in der klinischen Routinediagnostik“ (Dempfle 2005; vgl. Sié 1995). Righini et al. schrieben 2008: „20 Jahre nach Ihrem ersten Einsatz in der

Diagnostik der VTE, haben die DDIM große Akzeptanz zum Ausschluss dieser Erkrankung erreicht.“ (Righini et al. 2008)

#### 1.4.2 Sensitivität und Spezifität der D-Dimere

Eine Konzentrationserhöhung dieser kleinsten Fibrinolyseprodukte gilt als Hinweis auf eine gesteigerte Fibrinolyse, weswegen sie einen hochsensitiven Marker zur Diagnostik eines thromboembolischen Ereignisses darstellen. Whitaker et al. stellten bereits 1984 in einer Studie fest, dass alle ihrer untersuchten Patienten, die eine TVT, eine LE, eine VTE oder eine DIC erlitten, erhöhte DDIM aufwiesen (Whitaker 1984). „Dies stellte die Basis für einen Screening-Test auf TVT“ (Chapman et al. 1990).

Rowbotham et al. bestimmten 1987 bei 104 Patienten mit V.a. eine TVT mit Hilfe eines Enzymimmunoassay mit monoklonalen Antikörpern die DDIM und ließen anschließend auch jeweils eine venöse Sonographie durchführen. Alle Patienten mit einer sonographisch nachgewiesenen Thrombose hatten erhöhte DDIM, während einige Patienten auch ohne nachgewiesenen Thrombose erhöhte Werte aufwiesen.

„Ein normaler D-Dimer-Wert schließt eine TVT aus, während ein erhöhter Wert diese Diagnose unterstützt“ (Rowbotham et al. 1987).

Auch Perrier et al. wiesen in Studien, bei denen per ELISA die DDIM z. A. einer TVT gemessen wurden, 1996 und 1999 deren hohen Stellenwert nach: 1996 wurde bei 308 Patienten mit V.a. eine LE ein Thoraxröntgenbild und eine venöse Unterschenkel-Sonographie angefertigt - sowie die Konzentration der DDIM im Blutplasma bestimmt (Perrier et al. 1996). Als Grenzwert, der für oder gegen ein thromboembolisches Ereignis sprechen sollte, wurde eine DDIM-Konzentration von 500 µg/l festgelegt. Von den 199 Patienten, bei denen mit Hilfe der genannten Methoden eine TVT und LE ausgeschlossen wurde, hatten im nachfolgenden Beobachtungszeitraum von 6 Monaten auch nur zwei eine VTE entwickelt. Eine Konzentration der DDIM von 500 µg/l sollte demnach ein guter „cut-off“ als testspezifischer Grenzwert bzw. als Entscheidungsgrenze z. A. eines thromboembolischen Ereignisses sein (Perrier et al. 1996). Eine Folgeuntersuchung im Jahr 1999 bestätigte diese Theorie (Perrier et al. 1999): mit Hilfe von 918 Patienten der Genfer Universitätsklinik und des Hôpital Saint-Luc in Montreal in Kanada wurde ein Algorithmus für die Diagnostik einer VTE aufgestellt – basierend auf der Höhe der DDIM, dem Thoraxröntgenbild und der Unterschenkelsonographie, um die Anzahl an invasiven Untersuchungen wie



Phlebographien und Pulmonalangiographien zu reduzieren. Die Patienten, bei denen auf diese Weise eine VTE ausgeschlossen wurde, sind – ohne dass sie eine Therapie erhielten - über die folgenden drei Monate beobachtet worden. Auch hier schloss eine DDIM-Konzentration unter 500 µg/l eine VTE in 31% der Fälle aus. Insgesamt war durch die o.g. Maßnahmen bei 94% der Patienten keine invasive Therapie notwendig geworden. Das Risiko in den folgenden drei Monaten eine Thromboembolie zu erleiden, lag bei nur 1,8%. Eine Kombination aus dem Laborparameter DDIM und den nicht-invasiven Diagnoseverfahren scheint somit ein sicheres Verfahren in der Diagnostik einer TVT und bzw. oder LE darzustellen.

Beobachtet wurde, dass bei einer distalen Thrombose nicht so hohe DDIM gemessen wurden, wie bei einer proximalen (Chapman et al. 1990). Bei thromboembolischen Ereignissen geringeren Ausmaßes wie einer distalen TVT (Jennersjö et al. 2005) oder einer subsegmentalen bzw. peripheren LE (Sijens et al. 2000) kann das DDIM-Ergebnis sogar normal sein.

Sié versuchte für den selteneren Fall, dass ein normaler DDIM-Wert trotz stattgehabter VTE bestimmt wurde, zwei Erklärungsansätze. Zum einen könnte eine unzureichende, defekte Fibrinolyse die Ursache sein. Zum anderen würden kleinere Thrombi vom Test nicht erfasst, da die DDIM-Konzentration proportional zur Fibrinmasse ist (Sié 1995).

Laut Untersuchungen von Rowbotham et al. und Chapman et al. sind bei Patienten mit distaler Thrombose die DDIM niedriger als bei Patienten, die eine proximale Thrombose aufwiesen (Rowbotham et al. 1987, Chapman et al. 1990). So stellten z.B. Jennersjö et al. in einer Studie bei 393 Patienten aus dem Jahr 2005 für distale Thrombosen nur eine Sensitivität von 65% und ein NPW von 84% fest - im Gegensatz zu einer Sensitivität von 96% und einem NPW von 99% bei proximalen Thrombosen. Diese kleineren Thrombi scheinen jedoch nicht zu einem ungünstigen Ausgang für die Patienten zu führen. Die Untersuchenden stellten die Hypothese auf, dass eine normale DDIM-Konzentration alle die Thrombosen ausschließe, die eine Therapie erfordern würden (Jennersjö et al. 2005).

Der Referenzbereich der DDIM im Plasma liegt zwischen 20 und 150 µg/l (Kraus 2008). Insgesamt sollte die Konzentration jedoch nicht über 500 µg/l liegen, denn höhere Werte sprechen für eine venöse Thrombose (Barthels und Poliwoda 1998).

Wobei zu erwähnen ist, dass die Höhe der DDIM nicht immer im Verhältnis zur der Größe des Thrombus steht. „Der D-Dimer-Antigen-Spiegel steht eher in Beziehung zur Intensität der systemischen Gerinnungsaktivierung als zur Ausdehnung der Thrombose“ (Dempfle 2005).

## 1.5 Klinische Vortest-Wahrscheinlichkeit

### 1.5.1 Der Wells-Score

Anhand von Symptomen und der Anamnese der Patientin bzw. des Patienten kann bereits eingeschätzt werden, wie wahrscheinlich das Vorliegen einer TVT ist. Dabei werden anhand eines Klassifikationssystems nach Wells – dem Wells Score – Punkte vergeben, die anschließend addiert werden. Weniger als 1 bis 1 Punkt bedeuten eine niedrige, mehr als 3 Punkte eine hohe Wahrscheinlichkeit für eine TVT (Wells 1997, Wells 1998, Wells et al. 2005).

**Tabelle 1: Wells Score zur Diagnostik der tiefen Beinvenenthrombose, aus: Dempfle CE: Bestimmung des D-Dimer-Antigens in der klinischen Routine. Dtsch Arztebl 2005; 102 (7): A – 429.**

Kriterium		Punkte
maligne Erkrankungen (vorhanden oder in den letzten 6 Monaten therapiert)		1
Paralyse, Parese oder Immobilisation der unteren Extremitäten		1
Bettruhe von > 3 Tagen und/oder größere Operation in den letzten 4 Wochen		1
Schmerzen im Bein		1
Schwellung von Unterschenkel und Oberschenkel		1
Umfangsdifferenz der Unterschenkel von > 3 cm, gemessen 10 cm unterhalb der Tuberositas tibiae		1
Einseitiges Ödem (nur betroffenes Bein)		1
Dilatierte oberflächliche Venen (keine Varizen), nur im betroffenen Bein		1
Alternative Diagnose wahrscheinlicher als tiefe Beinvenenthrombose		-2
Auswertung		
Punkte	Wahrscheinlichkeit einer akuten tiefen Beinvenenthrombose	
< 1	Niedrige Wahrscheinlichkeit	
1–2	Mittlere Wahrscheinlichkeit	
> 3	Hohe Wahrscheinlichkeit	

Da die Konzentration der DDIM nicht nur bei thromboembolischen Ereignissen, sondern auch bei zahlreichen anderen Krankheitszuständen erhöht sein kann, sollte sie nie allein, sondern stets auch unter Einschätzung der klinischen Wahrscheinlichkeit wie dem Wells Score bewertet werden. Die klinische Wahrscheinlichkeit wird auch als Vortestwahrscheinlichkeit, prior clinical probability (PCP) oder auch pretest

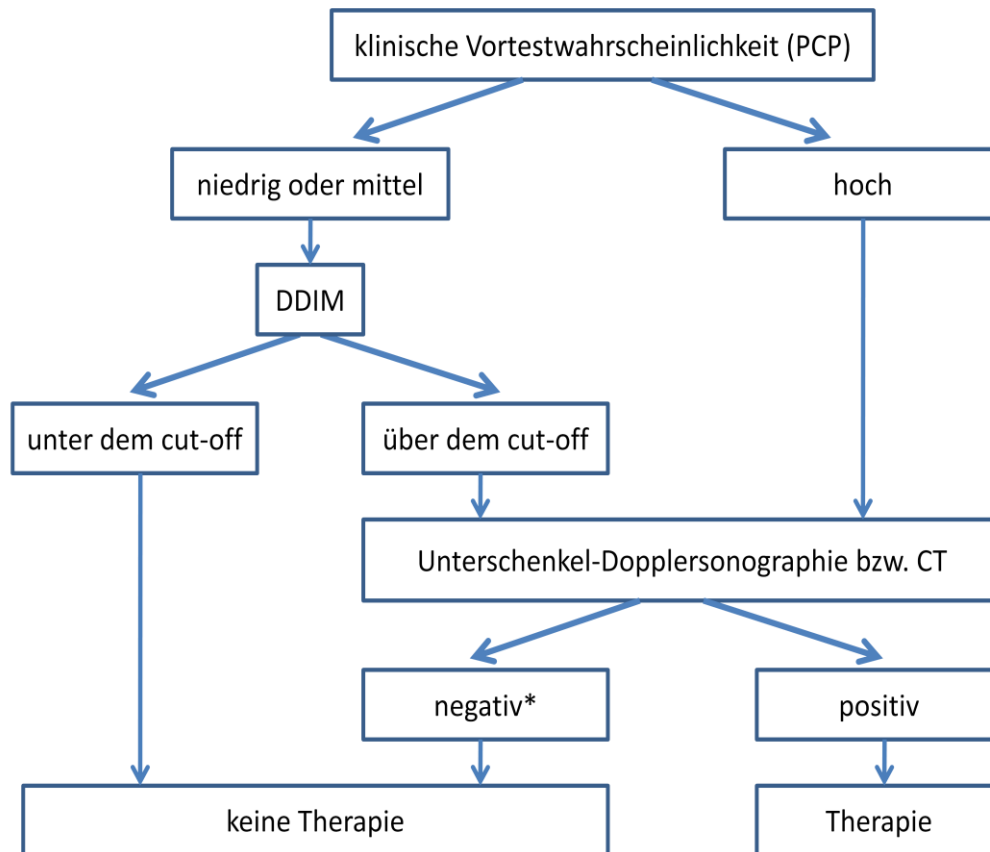
clinical probability (PTP) bezeichnet, da hierbei das Risiko einer stattgehabten Thrombose noch vor Durchführung weiterer Tests anhand der Anamnese und körperlichen Untersuchung eingeschätzt wird.

**Tabelle 2: Wells Score zur Diagnostik der Lungenembolie, aus: Dempfle CE: Bestimmung des D-Dimer-Antigens in der klinischen Routine. Dtsch Ärztebl 2005; 102 (7): A – 430.**

Kriterium		Punkte
Verdacht auf tiefe Beinvenenthrombose		3
Alternative Diagnose ist unwahrscheinlicher als Lungenembolie		3
Herzfrequenz > 100/min		1,5
Immobilisation oder Operation in den vorangegangenen 4 Wochen		1,5
Frühere tiefe Beinvenenthrombose oder Lungenembolie		1,5
Hämoptysen		1
Maligne Erkrankungen (vorhanden oder in den letzten 6 Monaten therapiert)		1
Auswertung		
Punkte	Wahrscheinlichkeit einer akuten tiefen Lungenembolie	
0–2	Niedrige Wahrscheinlichkeit	
3–6	Mittlere Wahrscheinlichkeit	
> 6	Hohe Wahrscheinlichkeit	

Die Bestimmung von DDIM - in Kombination mit einem gut validierten Bewertungssystem für die Vortest-Wahrscheinlichkeit ist ein effizientes Werkzeug z. A. von Thromboembolien (Kelly und Hunt 2003, Wells 2005). Klinische Studien ergaben, dass bei niedriger oder mittlerer klinischer Wahrscheinlichkeit einer TVT - sowie einem DDIM unterhalb eines testspezifischen Grenzwertes - auf weitere technische Untersuchungen und auf eine Antikoagulanzen-therapie verzichtet werden kann (Aguilar et al. 2002, Anderson et al. 2003, Bates et al. 2003, Schutgens et al. 2003). Da die Sensitivität der DDIM sehr hoch ist, hat sich ihre Bestimmung im Algorithmus der Diagnoseverfahren hinsichtlich einer Thromboembolie durchgesetzt (Kelly und Hunt 2003; Bounameaux und Perrier 2006; Wells 2007).

Nachdem die klinische Wahrscheinlichkeit anhand des Wells Score eingeschätzt wurde, empfehlen Righini et al. folgendes Vorgehen (siehe Abbildung 6):



\* Sind Dopplersonographie bzw. CT unauffällig, die PCP jedoch hoch, sind zusätzliche Untersuchungsmethoden (z.B. Phlebographie bzw. Lungenperfusionsszintigraphie) zu empfehlen

**Abbildung 6: Stellenwert der DDIM im Algorithmus bei V.a. TVT bzw. LE, aus: Righini M, Perrier A, De Moerloose P, Bounameaux H: D-dimer for venous thromboembolism diagnosis: 20 years later. J Thromb Haemost. 2008; 6(7): 1065.**

Insgesamt ist die Sensitivität der DDIM mit 96% ausgesprochen gut, ihre Spezifität liegt jedoch nur bei 58% (Heijboer et al. 1991). „Während die DDIM sehr sensitiv und hilfreich für den Ausschluss einer TVT sind, fehlt die Spezifität, die für die Diagnosestellung notwendig ist und die eine Vielzahl zusätzlicher Untersuchungen notwendig macht.“(Barnes et al. 2008).

„D-Dimer (D-Dimer-Antigen) findet sich bei frischer TVT und bei LE als Folge einer körpereigenen Spontanfibrinolyse. In folgenden Fällen kann das D-Dimer auch positiv sein, ohne dass eine TVT bzw. LE vorliegt: Traumen, Operationen, (...) Schwangerschaft u.a.“ (Herold 2008).

### 1.5.2 Mangelnde Spezifität der D-Dimere

Der Stellenwert der DDIM muss dabei stets im engen Zusammenhang mit anderen Diagnosestrategien eingeordnet werden – wie ausführliche Anamneseerhebung, Wells Score, venöse Sonographie, CT etc.

Denn selbst sehr hohe DDIM sind nicht unbedingt ein klares Zeichen für eine stattgehabte TVT oder LE sondern können auch bei diversen Krankheitszuständen auftreten (Ho 2011) - z.B. nach kardiopulmonaler Reanimation, bei Sepsis mit DIC, bei multiplen Traumata, bei Hyperfibrinolyse und bei einem HELLP-Syndrom. Auch nach rupturiertem Aortenaneurysma (Sodeck et al. 2007) oder cerebraler Sinusvenenthrombose (Lalive et al. 2003) wurden hohe DDIM gemessen.

Auch bei Malignomen - insbesondere Ovarialkarzinomen und Lungentumoren – und postoperativ, sowie nach Abstoßung eines Transplantates und anderen körperlichen Stresssituationen können die DDIM erhöht sein (Dempfle 2005). Zu erwähnen ist, dass bei Karzinomkrankungen die Tumorzellen selbst oder deren Proteasen in der Lage sein können eine Fibrinbildung zu initiieren. Erhöhte DDIM liefern dann einen Hinweis auf ein fortgeschrittenes Tumorstadium oder eine Metastasierung (Buccheri et al. 1997 und 2003, Oya et al. 1998 und 2001).

**Tabelle 3: Kein Gebrauch der DDIM z. A. der TVT und LE in folgenden Fällen, modifiziert nach: Dempfle CE: Bestimmung des D-Dimer-Antigens in der klinischen Routine. Dtsch Ärztebl 2005; 102 (7): A – 430.**

**Kein Gebrauch von D-Dimer-Antigen  
zur Ausschlussdiagnostik  
der venösen Thrombose und Lungenembolie  
in folgenden Fällen:**

- Trauma oder Operationen von < 4 Wochen
- Gerinnungshemmende Therapie für > 24 Stunden
- Fibrinolysetherapie vor < 7 Tagen
- Patienten mit disseminierten Malignomen
- Patienten mit bekanntem Aortenaneurysma
- Patienten mit Erysipel
- Patienten mit Sepsis, Pneumonie
- Patienten mit Leberzirrhose
- Schwangere

Da also die DDIM-Konzentration nicht nur bei einem thromboembolischen Ereignis sondern auch u.a. bei oben erwähnten, körperlichen Stresssituationen ansteigen kann, so ist deren Nachweis nicht gleichzusetzen mit dem Beweis einer Thrombose und bzw. oder Embolie. Man ist vielmehr in der Lage diese Erkrankungen im Umkehrschluss auszuschließen, wenn die DDIM-Konzentration im Referenzbereich liegt. Dabei sollen die DDIM stets im Zusammenhang mit Anamnese und

Symptomatik des Patienten interpretiert werden. Das bedeutet, die DDIM sind bei geringer Vortestwahrscheinlichkeit ein bedeutsamer Marker für den Ausschluss einer venösen Thrombose (Wells et al. 2000; Kelly und Hunt 2003, Stein et al. 2004).

„Ein negatives Resultat, d.h. unter dem Richtwert von 500 µg/l, schließt mit guter Sicherheit eine Thromboembolie aus, vorausgesetzt, dass die Bestimmungsmethode für diesen Zweck in klinischen Studien validiert wurde“ (Heim et.al 2004, zitiert in: Tsakiris 2008).

**Tabelle 4: Ursachen erhöhter DDIM-Spiegel, modifiziert nach: Dempfle CE: Bestimmung des D-Dimer-Antigens in der klinischen Routine. Dtsch Ärztebl 2005; 102 (7): A – 429.**

### **Ursachen erhöhter D-Dimer-Antigenspiegel**

#### Zustände mit dauerhafter Erhöhung von D-Dimer-Antigen im Blut

- Aortenaneurysma, andere Gefäßaneurysmen
- Hämangiome, Kasabach-Merritt-Syndrom, andere Gefäßmissbildungen
- portokavale Shunts
- disseminierte Malignome, insbesondere Adenokarzinome und hämatologische Malignome

#### Zustände mit akuter Erhöhung von D-Dimer-Antigen im Blut

- venöse Thrombose, Lungenembolie, Thrombophlebitis
- arterielle Thrombose und Embolie
- Trauma, Operationen, Verbrennungen
- große Hämatome
- Aortendissektion
- Sepsis, schwere Infektionen, Erysipel
- HELLP-Syndrom
- Hämolyse
- Heparin-induzierte Thrombozytopenie (HIT) Typ 2

## **1.6 Entstehung einer Thrombose**

### **1.6.1 Definition einer Thrombose**

Ca. 2 bis 3% des Plasmafibrinogens wird physiologisch ständig zu Fibrin umgebaut und anschließend wieder lysiert, so dass auch bei gesunden Menschen stets geringe Mengen von DDIM im Blutplasma nachweisbar sind (Righini et al. 2008). Eine erhöhte Konzentration spricht für eine erhöhte Fibrinbildung - mit konsekutiv gesteigerter Fibrinolyse, wie es z.B. bei einer Thrombose und bzw. oder Embolie der Fall ist.

Eine Thrombose ist ein „vollständiger oder teilweiser Verschluss von Arterien und Venen sowie der Herzhöhlen durch intravasale Blutgerinnung mit Bildung von Blutkoageln aus Thrombozytenaggregaten und Fibrin“ (Pschyrembel 1998). Nach Brozovic handelt es sich um eine intravitale Blutgerinnung innerhalb des kardio-vaskulären Systems (Brozovic 1979). Sie findet in überhöhtem Maße und am falschen Ort statt. Das Gerinnsel, das als Endprodukt v.a. aus Thrombozyten und Fibrin besteht, wird als Thrombus bezeichnet. Löst sich dieser vom Gefäßendothel und wird in der Blutbahn weiter verschleppt, so wird er Embolus genannt. Verallgemeinernd werden thrombotische und embolische Ereignisse auch unter dem Begriff der Thromboembolie zusammengefasst.

### 1.6.2 Die Virchow Trias

Eine Thrombose entsteht dann, wenn drei Voraussetzungen – die sogenannte Virchow Trias- erfüllt sind:

- a) **herabgesetzte Strömungsgeschwindigkeit des Blutes**, die zu einer Zirkulationsstörung führt
- b) **Verlust der Gefäßintegrität** im Sinne einer Wandschädigung - sei es durch Entzündung, Trauma oder Arteriosklerose - sowie
- c) **veränderte Blutzusammensetzung** im Sinne einer Hyperkoagulabilität (Virchow 1856).



Abbildung 7: Schematisierte Darstellung der Entstehung einer Thrombose in einem venösen Gefäß – die Virchow Trias

### 1.6.3 Hyperkoagulabilität

Mit Hyperkoagulabilität ist laut Rosenberg ein Zustand gemeint, der – mit oder ohne stattgehabte Thrombose – objektive Hinweise auf eine Thrombozytenaktivierung und bzw. oder Aktivierung des Gerinnungssystems gibt (Rosenberg 1975). Laut einer Definition von Bertina ist dies eine „Ansammlung konstitutioneller und erworbener Zustände, von denen man weiß oder annimmt, dass sie mit einer Hyperaktivität des Gerinnungssystems und bzw. oder der Entwicklung thromboembolischer Ereignisse assoziiert sind.“ (Bertina 1997).

Ein Zustand erhöhter Aktivierung des Gerinnungssystems ist die Schwangerschaft. In dieser Zeit besteht eine physiologische Hyperkoagulabilität (Barthels und Poliwoda 1998), die auch mit erhöhten D-Dimer-Antigen-Spiegeln einhergeht (Dempfle 2005). „Die Ergebnisse legen nahe, dass die normale Schwangerschaft mit Hyperkoagulabilität assoziiert ist, welche in einem moderaten Risiko für eine Thrombose während der verschiedenen Trimester der Schwangerschaft resultiert.“ (Borrelli et al. 2006).

„Außer bei Thrombosen oder LE können viele andere Erkrankungen die Konzentration der D-Dimere erhöhen. Dies ist aber auch bei physiologischen Zuständen, wie z.B. Schwangerschaft, möglich.“ (Herold 2008).

## 1.7 Physiologische Veränderungen der Hämostase in der Schwangerschaft

Im Verlauf der Schwangerschaft werden die großen venösen Blutgefäße - wie die Vena iliaca communis und die Vena cava inferior - zunehmend komprimiert, da der Uterus an Größe und Gewicht zunimmt (Rudigoz et al.1979). Außerdem verringert sich unter dem Einfluss von Progesteron und Prostazyklin der Venentonus, was eine Vasodilatation und somit eine verringerte Fließgeschwindigkeit des Blutes zur Folge hat (Toglia und Weg 1996).

Obwohl Gegenregulationsmechanismen wie physiologische Hydrämie, bei der das Plasmavolumen im Verhältnis zum Hämatokrit gesteigert ist (Rath und Heyl 1995), und gesteigerte Mikrozirkulation (Rath et al. 1991) erfolgen, kommt es zu einer gesteigerten Aktivierung des Gerinnungssystems.

„Die normale Schwangerschaft ist verbunden mit tiefgreifenden Veränderungen im Gerinnungs- und Fibrinolysesystem. Während diese physiolo-



gischen gerinnungsfördernden Veränderungen darauf abzielen den Blutverlust unter der Geburt zu minimieren, erhöhen sie das Risiko einer Thromboembolie während der Schwangerschaft (...)“ (Franchini 2006).

Ab der 20. SSW ist ein Anstieg von plasmatischen Gerinnungsfaktoren nachweisbar - mit parallel gesteigerter, jedoch nicht adäquat erhöhter Fibrinolyse (Schneider et al. 1995). Die Dysbalance im Gerinnungssystem äußert sich in einer gesteigerten Hyperkoagulabilität (Dati et al. 1998, Brenner 2004, Franchini 2006). Diese Hyperkoagulabilität, die zu einer Plasmaviskositätserhöhung führt, scheint für das erhöhte Thromboembolierisiko maßgebend zu sein (Heyl et al. 1998).

Insgesamt führen die veränderte Blutzusammensetzung, kleine Gefäßverletzungen, beeinträchtigte Fibrinolyse und Hyperkoagulabilität zu einem erhöhten Risiko für Thromboembolien (Hellgren 2003, Arya 2011).

Zusätzlich können erworbene Faktoren wie z.B. die Immobilisierung der Patientin bei Placenta previa, eine Östrogentherapie zur Laktationssuppression oder eine Dehydratation bei Hyperemesis gravidarum das Risiko in der Schwangerschaft eine Thromboembolien zu erleiden, erhöhen (Winkler 1997).

### 1.8 Thromboembolien in der Schwangerschaft

Thrombosen und Blutungen stellen die beiden häufigsten Todesursachen werdender Mütter dar (Welsch 1998, Eichinger et al. 2003, Eichinger 2004).

„Die Thromboembolie bleibt nach wie vor die Hauptursache der Müttersterblichkeit in der westlichen Welt“ (Robert-Ebadi und Righini 2011, Pajor 2011). Sie stellt mit fast 20% die Hauptursache für den Tod schwangerer Patientinnen in Großbritannien dar (Giavarina et al. 2001).

„Die Schwangerschaft ist ein Hyperkoagulabilitätszustand mit einem 5- bis 10fach höherem Risiko einer venösen Thromboembolie“ (Hansen et al. 2011).

Nordstrom et al. beschrieben in einer prospektiven Studie im Jahre 1987 in Malmö (Schweden) die Inzidenz einer TVT mit 1,6 pro 1000 Einwohner pro Jahr - sowohl bei Frauen als auch bei Männern. Verifiziert wurde die TVT dabei per venöser Dopplersonographie. Allerdings wurden dabei keine schwangeren Patientinnen untersucht.

Das Risiko in der Schwangerschaft eine Thrombose zu erleiden, ist – bei einer Inzidenzrate von 10 auf 10000 Schwangere - um das 3fache (Heyl et al. 1999) bis

5fache (Mc Coll et al. 1997, Bauersachs et al. 1998) höher als außerhalb der Gravidität. Schon Kierkegaard beschrieb in einer Untersuchung aus dem Jahr 1983, das Risiko einer VTE sei in der Schwangerschaft annähernd sechsmal höher als bei nicht schwangeren Frauen derselben Altersklasse.

In einem Bericht der Deutschen Gefäßliga 2010 beschreibt Diehm die Häufigkeit einer Thrombose in der Schwangerschaft ebenfalls mit 50-100 pro 100.000 Schwangerschaften (Diehm 2010). Dies entspräche einem Ereignis pro 1000 - 2000 Schwangerschaften. Auch Pajor gibt in einer Untersuchung von 2011 für ein thromboembolisches Ereignis in der Schwangerschaft eine Prävalenz von 1 zu 1000 an (Pajor 2011).

Szecsí et al. erklären in einer Studie aus dem Jahre 2010 die Inzidenz einer Thrombose in der Schwangerschaft mit „4 – 50 mal höher im Vergleich zu nicht-schwangeren Frauen“. Vor allem im dritten Trimenon (Heinrich 2000) und kurz vor dem Entbindungstermin (Macklon und Greer 1996, Mc Coll et al. 1997) kommt es zu Thrombosen, wobei in der ersten Schwangerschaftshälfte eher distale Thrombosen und später - im dritten Trimenon - eher Beckenvenenthrombosen auftreten (Bergqvist et al. 1983).

„In den letzten 20 Jahren hat sich die Thrombosehäufigkeit in der Schwangerschaft sogar verdoppelt, was möglicherweise mit dem zunehmenden Alter der Schwangeren zu erklären ist (Diehm 2010).“

Besonders Frauen, bei denen schon einmal eine Thrombose auftrat, haben in der folgenden Schwangerschaft ein erhöhtes Risiko ein Rezidiv zu erleiden (Brill-Edwards et al. 2000, Pabinger et al. 2002). Im Jahr 2000 wurde die Häufigkeit eines Thromboserezidivs in der Schwangerschaft mit 2,4% angegeben (Brill-Edwards et al. 2000). Allerdings konnte weder diese Studie noch die Untersuchung von Pabinger et al. zwei Jahre später anhand einer Bestimmung laborchemischer, traditioneller Risikofaktoren für eine Thrombophilie - bei thrombosegefährdeten Frauen- eine klare Aussage zur Vorhersage einer erneuten Thrombose treffen.

Die DDIM sind bei nicht-schwangeren Patientinnen ein guter Vorhersagemarker für ein Thromboserezidiv (Eichinger et al. 2003). Niedrige DDIM haben einen hohen negativ prädiktiven Wert für ein Thromboserezidiv nach vorangegangener idiopathischer Thromboembolie (Palareti et al. 2002).

2004 führten Rathbun et al. eine Studie zum Ausschluss einer TVT durch – bei 300 Patienten, die anamnestisch schon einmal eine TVT durchgemacht hatten. 134 der 300 Patienten wiesen ein DDIM-Ergebnis unterhalb des cut-off-Wertes auf (Rathbun et al. 2004). Von diesen entwickelte im folgenden Beobachtungszeitraum von drei Monaten nur ein Patient ein Thromboserezidiv.

Auch in der Schwangerschaft könnten die DDIM von Nutzen sein, um Frauen mit erhöhtem Risiko für ein Thromboserezidiv zu identifizieren (Eichinger et al. 2003, Eichinger 2004).

Eine der dramatischsten Komplikationen einer Venenthrombose ist die Lungenembolie. Sie gilt als die zweithäufigste Todesursache in der Schwangerschaft. Etwa jede fünfte bis jede dritte Schwangere mit einer TVT erleidet zusätzlich eine pulmonale Embolie. Die Inzidenzrate wird mit 0,01 bis 0,2 % angegeben (Jackisch et al. 1995, Heinrich 2000).

### **1.9 Diagnostik einer Thromboembolie in der Schwangerschaft**

Zunächst ist stets entscheidend, welche Symptome die Patientin bietet. Bei der charakteristischen Trias Varikosis, Schwellung und Schmerz ist eine Thrombose wahrscheinlich (Hull et al. 1990, Wells et al. 1997). Wobei zu bemerken ist, dass schwangere Patientinnen oftmals Unterschenkelödeme oder auch durch Magnesiummangel bedingte Wadenschmerzen aufweisen können, die die Diagnostik erschweren (Heyl und Rath 1999). Die Symptome der normalen Schwangerschaft können diejenigen einer Thromboembolie „nachahmen“ (Arya 2011).

„Die Ähnlichkeit zwischen einigen physiologischen Symptomen in der Schwangerschaft und Symptomen einer VTE erschweren die Diagnose“ (Robert-Ebadi und Righini 2011).

Für eine stattgehabte Thrombose bleibt die Nachweismethode der Wahl nach wie vor die farbdopplersonographische Darstellung der Venen (Heyl und Rath 1999, Diehm 2010). Verfahren, die mit Kontrastmitteln oder radioaktivmarkierten Tracern vollzogen werden, wie Phlebographie und Szintigraphie, werden in der Schwangerschaft nur selten durchgeführt. Zum Ausschluss einer LE ist auch eine CT zwar möglich, besser sollte aber eine MRT durchgeführt werden (Spritzer et al. 1995). Allerdings sei - so Robert-Ebadi und Righini - die Strahlung, die auf den Fetus wirke, sowohl bei der Szintigraphie als auch bei der CT sehr gering. Zudem rechtfertige der potentiell

tödliche Ausgang einer undiagnostizierten LE auch in der Schwangerschaft die Durchführung dieser Diagnoseverfahren (Robert-Ebadi und Righini 2011).

Da jedoch weiterhin bei Schwangeren diagnostische Verfahren wie Phlebographie oder Szintigraphie sehr zurückhaltend angewendet werden und die Thrombose von der oberflächlichen Thrombophlebitis anhand der klinischen Zeichen nur schwer abzugrenzen ist, driften – wie oben beschrieben - die Angaben hinsichtlich Inzidenz und Prävalenz einer Thrombose bei diesen Patientinnen weit auseinander.

Bei einer stattgehabten VTE kann im Blutplasma der Patientin eine erhöhte DDIM-Konzentration auffällig sein. Hinsichtlich der Aussagekraft erhöhter DDIM existieren für Schwangere in der Literatur unterschiedliche Auffassungen.

Francalani et al. stellten in einer Untersuchung aus dem Jahr 1997 fest, dass die Höhe der DDIM in der Schwangerschaft nur eingeschränkt zur Diagnosefindung einer Thrombose zu verwerten ist, da sie insbesondere nach der 20. SSW physiologisch ansteigen. Heyl et al. unterstützen diese These, indem sie festhielten, die DDIM besäßen „in der Schwangerschaft nur einen geringen negativ prädiktiven Wert“ (Heyl und Rath 1999). Auch Dempfle betont: „(...) bei Schwangeren ist die Bestimmung von D-Dimer-Antigen zur Ausschlussdiagnostik der venösen Thrombose oder Lungenembolie (...) nicht hilfreich.“ (Dempfle 2005).

„Die D-Dimere steigen (...) während einer normalen, komplikationsfreien Schwangerschaft physiologisch über den Normbereich an und können somit als Thromboseausschluss-Parameter nicht verwendet werden.“ (Tsakiris 2008).

Eichinger sowie Chunilal und Bates teilen diese Auffassung. Die DDIM seien z. A. thromboembolischer Ereignisse in der Schwangerschaft nicht so aussagekräftig wie außerhalb, deswegen müssten sich Kliniker oft auf andere diagnostische Methoden stützen (Eichinger 2009, Chunilal und Bates 2009). Auch Szecsi et al. halten fest, dass die Wahrscheinlichkeit, mit Hilfe der DDIM eine Thrombose bei einer schwangeren Frau ausschließen zu können, zu gering ist (Szecsi et al. 2010).

Allerdings existieren auch verschiedene Untersuchungen, deren Autoren anderer Ansicht sind.

Chan et al. äußern 2007, man könne - ungeachtet dessen, dass die DDIM in der Schwangerschaft ansteigen - sie auch in dieser Lebensphase z. A. einer TVT benutzen, da sie in ihrer Studie mit Schwangeren mit V. a. TVT für die DDIM eine Sensitivität von 100% und auch ein NPV von 100% feststellten (Chan et al. 2007).

Obwohl die DDIM in der Schwangerschaft erhöht sind, können sie dennoch als Gerinnungsparameter zur Einschätzung eines thromboembolischen Risikos eingesetzt werden, wenn sie in besonders hohen Konzentrationen auffällig sind (Eichinger et al. 1999).

Chen et al. wiesen einen signifikanten Unterschied in der DDIM-Konzentration bei schwangeren und nicht-schwangeren Frauen nach ( $p < 0,008$ ) (Chen et al. 2011).

Robert-Ebadi und Righini halten fest, man könne die DDIM auch in der Schwangerschaft z. A. einer VTE nutzen, allerdings – aufgrund ihres Anstiegs im Verlauf der Schwangerschaft - nur in den ersten beiden Trimestern (Robert-Ebadi und Righini 2011).

Zusammenfassend lässt sich feststellen - Referenzbereiche in Bezug zur jeweiligen SSW müssen anhand einer Studie mit einer angemessenen, repräsentativen Anzahl schwangerer Frauen etabliert werden – solange diese Daten nicht verfügbar sind, haben die DDIM nur einen geringen Wert in der Diagnostik der VTE während der Schwangerschaft. (Eichinger et al. 2003., Eichinger 2004, Giavarina et al. 2001).

## 1.10 Methoden zur Bestimmung der Konzentration der D-Dimere

### 1.10.1 Historie

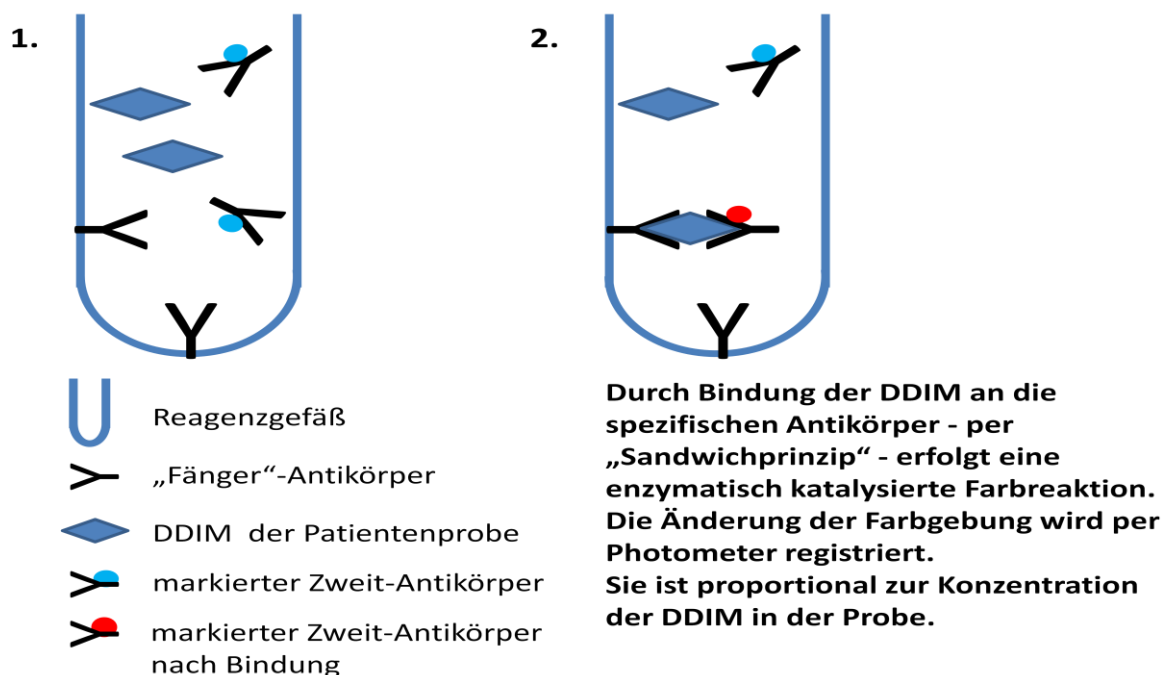
Die Spaltprodukte des Fibrinogens wurden anfangs immunologisch über polyklonale Antikörper oder per SCT (Hawiger et al. 1970) bestimmt. Allerdings gingen beide Reagenzien sowohl mit den Spaltprodukten als auch mit deren Ausgangsmolekülen Fibrinogen bzw. Fibrin eine Bindung ein. So dass zunächst eine zeitaufwändige Defibrinierung durchgeführt werden musste, die zudem eine hohe Fehlerquelle aufwies (Gaffney und Perry 1985).

Durch Immunisierung von Mäusen mit DDIM wurden spezifische Antikörper erzeugt (Elms et al. 1983, Rylatt et al. 1983). Whitaker et al. erklärten 1984, dass bei der Fibrinolyse viele antigene Determinanten entstehen. Gegen sie gerichtete Antikörper

könnten spezifisch mit ihnen reagieren, ohne eine Verbindung mit dem Ausgangsmolekül einzugehen (Whitaker et al. 1984).

Anfangs waren lediglich Mikroplatten-ELISAs erhältlich, denen in der Bestimmung der DDIM eine Pionierrolle zu kommt, da mit ihrer Hilfe der hohe Stellenwert der DDIM in der Diagnostik der TVT nachgewiesen wurde (Reber und de Moerloose 2000). „Ihre Sensitivität und ihr negativ prädiktiver Wert waren hoch genug, um sie zum Ausschluss einer TVT oder LE anzuwenden“ (Righini et al. 2008). Allerdings passte diese aufwändige Bestimmungsmethode nicht in die tägliche Routine, da meist nur in „batches“, also gruppenweise, gemessen wurden und Einzelbestimmungen nicht schnell genug Ergebnisse lieferten (Elms et al. 1983, Hart et al. 1994).

Mitte der 90er Jahre wurden schnellere, vollautomatische ELISAs entwickelt, bei denen die Probengefäße bereits mit den Antikörpern beschichtet waren, sodass nach Einbringen des Serums die Reaktion unmittelbar stattfinden konnte (Pittet et al. 1996). ELISA-Verfahren basieren auf einer enzymatischen Farbreaktion. Die gesuchten Substanzen, in diesem Fall die DDIM, reagieren mit den Antikörpern des Testsystems, wodurch es zu einer Farbänderung kommt, die photometrisch gemessen werden kann. Der ELFA unterliegt demselben Prinzip, weist den zu finden Analyten jedoch nicht per Farbreaktion sondern per Fluoreszenz nach.



**Abbildung 8: Prinzip des Nachweises der DDIM per ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)**

Die Sensitivität eines ELISAs z. A. einer TVT bzw. LE wurde mit 96,8% angegeben (Bounameaux et al. 1994). Wobei die Spezifität z. A. einer LE 45,1% und z. A. einer TVT nur 35,2% betrug (Bounameaux et al. 1994). Einige Studien ergaben ein ähnliches Ergebnis: Sensitivität von 98% bis 99% (Perrier et al. 1999, Oudega et al. 2005). Für ELISAs wurde aber auch bereits - im Vergleich zu den Resultaten einer venösen Sonographie – eine Sensitivität von 100% nachgewiesen (van der Graaf et al. 2000).

Ein weiteres schnelleres ELISA-Verfahren ist die Immunofiltration, bei der monoklonale Antikörper auf einer permeablen Membran aufgebracht sind und die Reaktionspartner eine passive Filtration unterlaufen. Die DDIM in der Probe reagieren mit den auf der Membran fixierten Antikörpern, so dass sich die Lichtbrechung der beschichteten Membran verändert. Dieses Verfahren basiert z.B. auf goldmarkierten Antikörpern (Gogstad et al. 1993) oder auf einer Peroxidase-Reaktion (Vissac et al. 1995). Das Ergebnis, das bei dieser Art von Schnelltest bereits nach weniger als 10 Minuten vorliegt, wird zunächst mit dem bloßen Auge, danach per Reflektometer abgelesen. Diese membranbasierten Immunoassays wurden als Schnelltests entwickelt, um die Konzentration der DDIM als sogenannte Point-of-Care-Diagnostik noch vor Ort am Krankenbett oder in der Arztpraxis bestimmen zu können. Diese Technik benötigt keinen größeren maschinellen Aufwand, allerdings gibt es auch hierbei entscheidende individuelle Unterschiede beim Ablesen des Ergebnisses (Cini et al. 2003).

Vollblut-Methoden bedienen sich eines doppelt spezifischen Antikörpers, der gegen die DDIM und gegen ein Membranoberflächenprotein der Erythrozyten gerichtet ist (John et al. 1990). Die Agglutination der roten Blutkörperchen wird mit dem Auge abgelesen, wobei der cut-off-Wert als Grenze zwischen agglutiniert und nicht agglutiniert festgelegt ist. Das Ergebnis ist demnach abhängig vom Ablegenden und „wird für den Routineeinsatz kontrovers diskutiert“ (Reber und de Moerloose 2000). Studien ergaben eine Sensitivität zwischen 51% und 96% (Janssen et al. 1997, Legnani et al. 2004). Für den Test SimpliRED, als Beispiel für eine solche Vollblutagglutinations-Methode, wurde bereits eine Sensitivität von 100% nachgewiesen – innerhalb einer Studie von Chan et al. 2007, bei der die DDIM bei Schwangeren mit V.a. TVT bestimmt worden waren (Chan et al. 2007).



### 1.10.2 Gegenwärtige Testmethoden

Heutzutage gibt es eine Vielzahl verschiedener Methoden zur quantitativen Bestimmung der DDIM, denn die nun verwendeten monoklonalen Antikörper binden an Epitope der DDIM-Fragmente und nicht an Epitope von Fibrinogen oder Fibrin, so dass keine Kreuzreaktionen mehr auftreten. Zum Nachweis der DDIM stehen dabei u.a. ELISA-Verfahren, Immunfluoreszenz-Immunoassays (ELFA), Vollblut-Methoden und Latex-Teste zur Verfügung (Nolan et al. 1993, Brill-Edwards und Lee 1999, Tsakiris 2008).

**Tabelle 5: Eigenschaften verschiedener, kommerzieller DDIM-Assays, aus: Righini M, Perrier A, De Moerloose P, Bounameaux H: D-dimer for venous thromboembolism diagnosis: 20 years later. J Thromb Haemost. 2008; 6(7): 1060.**

Technique	Examples	Sensitivity	Specificity	Comments
Microplate ELISA	Asserachrom® Ddi (Stago) Enzygnost® (Dade-Behring)* Dimertest Gold (Agen)*	High	Low	Considered as the gold standard; suitable for batch analysis and not useful for real-time single testing; observer-independent
ELISA and fluorescence (ELFA)	Vidas® DD (bioMérieux) AxSym® D-dimer (Abbott) Stratus® D-dimer (Dade-Behring)	High	Low	Similar sensitivity as classic microplate ELISA; quantitative; suitable for real-time use; observer-independent
ELISA and chemiluminescence	Immulite (Siemens) Pathfast (Mitsubishi)	High	Low	Similar sensitivity as classic microplate ELISA; quantitative; suitable for real-time use; observer-independent
ELISA and time-resolved fluorescence	Innotrac Aio!	–	–	No clinical study available; observer-independent
Immunofiltration and sandwich-type	NycoCard® (Nycomed),	High-intermediate	Low-intermediate	Reduced sensitivity compared with classic microplate ELISAs; quantitative; suitable for real-time use; observer-independent
	Cardiac D-dimer® (Roche)	High	High	Few clinical studies available, promising results
Semi-quantitative latex agglutination	Dimertest® latex (IL); Fibrinosticon® (bioMérieux) Ddi latex® (Stago)	Intermediate	Intermediate	Rapid, but insufficiently sensitive to be clinically useful; observer-dependent
Manual whole-blood agglutination	SimpliRED® (Agen) Clearview Simplify D-dimer® (Agen)	High-intermediate	Intermediate	Rapid, can be performed on whole blood. Exclusion of VTE only in association with low clinical probability; observer dependent
Second-generation latex agglutination (immuno-turbidimetric)	TinaQuant® (Roche) Liatest® (Stago) Automated Dimertest® (Agen) MDA® D-dimer (bioMérieux) Turbiquant® (Dade-Behring) Miniquant® D-dimer (Trinity) HemosIL® Dimertest HS (IL) Innovance D-dimer® (Dade-Behring)	High	Intermediate	Rapid and quantitative; comparable sensitivity to microplate ELISA; observer-independent

\*No longer available.

Die Empfindlichkeit und Präzision der neueren Tests „sind um ein Vielfaches höher als die der alten Teste.“ (Barthels und Poliwoda 1998).

Am weitesten verbreitet sind Latex-Teste (Dempfle 2005). Mittlerweile bieten nahezu alle Hersteller von Gerinnungsanalyse-Geräten solche Teste an. Sie beruhen auf der



Agglutination von Latexpartikeln, die mit monoklonalen Antikörpern gegen DDIM beschichtet sind, wobei die Zunahme der Agglutination proportional zur DDIM-Konzentration in der Probe ist. Bei vollautomatisierter, hochsensitiver Latex-Turbidimetrie, wie sie auch in dieser Studie verwendet wurde, sind die Ergebnisse bereits innerhalb von 5 bis 10 Minuten zur Hand. Ihre Sensitivität z. A. von Thromboembolien ist mit der der ELISAs vergleichbar (Brown et al. 2003) – 98% bis 99% - während ihre Spezifität zwischen 44% und 51% liegt (Schutgens et al. 2003, Oudega et al. 2005).

**Tabelle 6: Zusammenfassung der Sensitivitäten und Spezifitäten verschiedener DDIM-Nachweismethoden bei V.a. TVT bzw. LE, aus: Righini M, Perrier A, De Moerloose P, Bounameaux H: D-dimer for venous thromboembolism diagnosis: 20 years later. J Thromb Haemost. 2008; 6(7): 1060.**

Type of assay	Deep vein thrombosis		Pulmonary embolism	
	Sensitivity (95% CI)	Specificity (95% CI)	Sensitivity (95% CI)	Specificity (95% CI)
ELISA Microplate	94 (86-97)	53 (38-68)	95 (84-99)	50 (29-71)
ELFA	96 (89-98)	46 (31-61)	97 (88-99)	43 (23-65)
Membrane Immunofiltration	89 (76-95)	53 (37-68)	91 (73-98)	50 (29-72)
Latex				
Qualitative	69 (27-93)	99 (94-100)	75 (25-96)	99 (92-100)
Semiquantitative	85 (68-93)	68 (53-81)	88 (66-97)	66 (43-83)
Quantitative	93 (89-95)	53 (46-61)	95 (88-98)	50 (36-64)
Manual whole-blood assays	83 (67-93)	71 (57-82)	87 (64-96)	69 (48-84)

Es wird ersichtlich, dass der Mikroplatten-ELISA, der ELFA und die quantitative Latex-Methode die höchste Sensitivität und die niedrigste Spezifität aufweisen. „Die Vollblutmethode ist spezifischer, was bei einer Population mit einer geringen Inzidenz für eine Thromboembolie den sicheren Ausschluss dieser Erkrankung erlaubt.“ (Righini et al. 2008).

### 1.11 D-Dimere in der Schwangerschaft

Während der Schwangerschaft können im Blut höhere DDIM-Werte als außerhalb der Gravidität auffällig sein (Eichinger et al. 1999). „Die D-Dimere steigen (...) während einer normalen, komplikationsfreien Schwangerschaft physiologischerweise über den Normbereich an (...)“ (Tsakiris 2008). Es sind sogar ohne stattgehabte Thromboembolie so hohe DDIM-Konzentrationen möglich, die sonst nur bei tiefen Venenthrombosen (Boneu et al. 1991), bei Lungenembolien (Yamada et al. 1995)

oder bei Myokardinfarkten (Merlini et al. 1994, van der Putten et al. 2006) nachweisbar sind.

„Selbst eine unkomplizierte Schwangerschaft wird von einer beträchtlichen Aktivierung des Hämostasesystems begleitet, die durch eine Plasmakonzentrationserhöhung der Gerinnungsmarker, wie (...) die D-Dimere angezeigt wird.“ (Eichinger et al. 1998).

Die erhöhten DDIM können eine erhöhte Gerinnungsaktivität bzw. Thrombinbildung oder eine erhöhte Fibrinolyse widerspiegeln – oder eine Kombination aus beiden (Eichinger et al. 2003, Eichinger 2004).

„Ungeachtet der Relevanz und der Komplexität der Erstellung adäquater DDIM-Referenzintervalle für schwangere Frauen, haben sich erst ein paar Studien diesem Problem gewidmet. Van Wersch et al. stellten - unter Benutzung eines ELISAs - 1991 mit zunehmender SSW einen signifikanten Anstieg der DDIM-Konzentration fest, wobei fast 80% aller Werte über der Obergrenze des Referenzintervalls von 450 µg/l lagen“ (Giavarina et al. 2001). An der betreffenden Studie nahmen 56 schwangere Probandinnen teil. Francalani et al. bestätigten 1997 den DDIM-Anstieg während einer normalen Schwangerschaft mit Hilfe einer Studie, an der 63 Frauen teilnahmen. Auch Chabloz et al. wiesen 2001 einen Anstieg der DDIM im Verlauf der Schwangerschaft nach (Chabloz et al. 2001).

Ab SSW 21 - 25 bis zum Entbindungstermin kommt es zu einem kontinuierlichen Anstieg (Mc Crae und Cines 1997, Stirling et al. 1984).

Besonders Komplikationen wie schwangerschaftsassozierte arterielle Hypertonie (Cadroy et al. 1993, Francalani et al. 1995), Gestationsdiabetes (Bellart et al. 1998), Präeklampsie (Proietti et al. 1991, Cadroy et al. 1993, Bellart et al. 1999, Kobayashi et al. 1999), Plazentalösung (Nolan et al. 1993) und HELLP-Syndrom (Padden 1999) gehen mit einer Veränderung der Gerinnungsparameter und einer Erhöhung der DDIM einher. Padden erklärte 1999, dass eine DDIM-Bestimmung bei Schwangeren vielleicht auch nützlich sein könnte, um eine Präeklampsie oder ein HELLP-Syndrom frühzeitig erkennen zu können.

Zur Höhe der DDIM gibt es in der Literatur unterschiedliche Angaben: So kann es zu einem Anstieg der DDIM um ein Viertel des Ausgangswertes kommen (Nolan et al.

1993). Andere Untersuchungen ergaben zum Ende der Schwangerschaft DDIM-Anstiege um das Dreifache (Merzelina-Roumans et al. 1996) bis um das Fünffache (Eichinger et al. 1999). Außerdem fand man heraus, dass die DDIM-Konzentration bereits gegen Ende des ersten Trimenons um ein Drittel - gegenüber der Konzentration drei Monate nach Entbindung - ansteigen kann (Eichinger et al. 1999).

Es wurde nachgewiesen, dass bei schwangeren Patientinnen das Verhältnis von Frauen, die DDIM unterhalb des cut-offs hatten, zu denen mit erhöhten DDIM vor der 30. SSW bei 39 zu 100, also 39%, lag (Chabloz et al. 2001) – während es vor der 42. SSW 25% betrug (Epiney et al. 2005). Ein großer Anteil der Patientinnen würde demnach während der Schwangerschaft normale DDIM aufweisen, was bei ihnen weitere radiologische Untersuchungen entbehrlich machen könnte.

### 1.11.1 Stand der Wissenschaft

2001 führten Giavarina et al. bereits eine ähnlich Studie wie die hier vorliegende durch. Sie bestimmten mit Hilfe eines Latexagglutinations-Testes bei 340 gesunden schwangeren Frauen die DDIM, wobei die Probandinnen in zwei Gruppen - A: SSW 1 bis 20 und B: SSW 21 bis 40 – eingeteilt wurden. Gruppe A wies DDIM von weniger als 220 µg/l bis 1275 µg/l und Gruppe B von weniger als 220 µg/l bis 3130 µg/l auf. Auffällig war eine hohe positive Korrelation zwischen der Höhe der DDIM-Konzentration und der SSW ( $r = 0,509$ ;  $p < 0,0001$ ) (Giavarina et al. 2001).

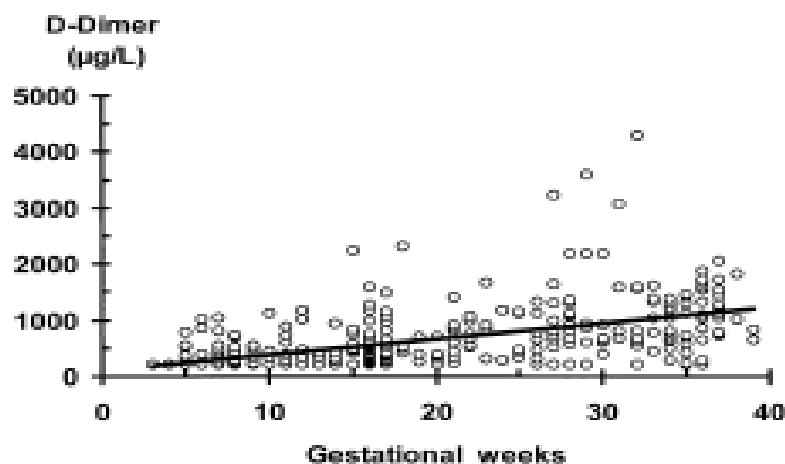


Abbildung 9: Verhältnis zwischen DDIM-Plasmakonzentration und SSW, aus: Giavarina D, Mezzana G, Dorizzi RM, Soffiati G: Reference interval of D-dimer in pregnant women. Clin Biochem 2001; 34: 332.

Giavarina et al. stellten fest, dass die DDIM v.a. gegen Ende der Schwangerschaft stark ansteigen. Sie betonten auch dass, wendete man nun Referenzbereiche, die

durch Untersuchungen nicht-schwangerer Frauen erstellt wurden, bei Schwangeren an, die DDIM folglich von den behandelnden Ärzten fehlinterpretiert würden - was ihr eigentliches Potential verringere. Weiterhin legten sie dar, dass Referenzintervalle als Entscheidungsgrenzen für Diagnostik und Therapie schwangerer Patientinnen anhand einer Studie mit einer größeren Anzahl an gesunden Probandinnen unterschiedlicher SSW etabliert werden sollten.

Eine Untersuchung von Hannemann-Pohl et al. im Marienkrankenhaus der Universität Hamburg beschäftigte sich 2005 ebenfalls mit der Höhe der DDIM im Verlauf der Schwangerschaft von 183 gesunden Patientinnen von SSW 5 bis 42. Auch hier wurde mit Hilfe eines ELISA-Verfahrens ein Anstieg der DDIM festgestellt: erstes Trimenon 141- 780 µg/l, zweites Trimenon 289- 1355 µg/l, drittes Trimenon 589 – 2722 µg/l (angeben ist jeweils die 5. bis 97,5. Perzentile). Das letzte Trimenon wurde daraufhin nochmalig in zwei Untergruppen aufgeteilt: erste Hälfte des 3. Trimenons 438- 1922 µg/l, zweite Hälfte des 3. Trimenons 685- 2822 µg/l. Obwohl es keinen Hinweis auf eine Thromboembolie gab, fielen besonders im letzten Trimenon deutlich erhöhte DDIM-Konzentrationen auf (Hannemann-Pohl et al. 2005).

Auch Szecsi et al. wiesen 2010 einen Anstieg der DDIM im Verlauf der Schwangerschaft nach. Für eine Studie, bei der verschiedene Gerinnungsparameter – u.a. auch die DDIM – zur Erstellung von Referenzbereichen gemessen wurden, rekrutierten sie 391 gesunde, schwangere Patientinnen, denen im Verlauf der Schwangerschaft viermalig Blut abgenommen wurde. Dabei wurden die DDIM per Immunoassay mit Latexpartikeln in folgender Konzentration bestimmt - SSW 13-20: 0,2- 1,4 mg/l, SSW 21 – 28: 0,3- 1,7 mg/l, SSW 29-34: 0,3 – 3,0 mg/l, SSW 35- 42: 0,4- 3,1 mg/l. Auffällig war, dass in SSW 13- 20 über 25% der Frauen DDIM-Level über dem cut-off von 0,5 mg/l aufwiesen, ohne nachweislich eine Thrombose oder Embolie erlitten zu haben. Ab SSW 36 hatten dann sogar alle Patientinnen DDIM-Werte über diesem Referenzwert (Szecsi et al. 2010).

Ein weiterer Versuch, Referenzbereiche für DDIM in der Schwangerschaft zu etablieren, wurde von Kovac et al. durchgeführt, indem bei 89 schwangeren Patientinnen die DDIM-Konzentration bestimmt wurden (Kovac et al. 2010). Im ersten Trimester hatten 84% der Frauen DDIM-Werte unterhalb des gesetzten cut-offs von 230 ng/ml. Im zweiten Trimester lagen noch 33% darunter, im dritten nur noch 1%. Der cut-off von 230 ng/ml schien also ohne praktischen Nutzen zu sein. Kovac et al.

boten folgende Schwellenwerte z. A. einer schwangerschaftsassozierten VTE an: 1. Trimester 286 ng/ml, 2. Trimester 457 ng/ml und 3. Trimester 644 ng/ml.

Hansen et al. wiesen 2011 einen signifikanten DDIM-Anstieg vom ersten zum zweiten Trimester und ebenso vom zweiten zum dritten Trimester der Schwangerschaft nach ( $p$  jeweils  $< 0,0001$ ) (Hansen et al. 2011).

„Weitere klinische Studien zur Klärung eines klinisch nützlichen cut-off-Punktes für D-Dimere in der Schwangerschaft werden gebraucht.“ (Hansen et al. 2011).

### 1.11.2 Bisher fehlen Referenzbereiche

Die Etablierung von Referenzbereichen bzw. ein Algorithmus gestaltet sich dahingehend schwierig, als dass die DDIM mit zunehmender SSW ansteigen. Die genaue Höhe der DDIM wurde in diesem Patientenkollektiv bislang nicht adäquat untersucht, da die Interpretation vieler Studien durch inhomogene Kohorten mit unterschiedlichen Krankheitsbildern und eine zu geringe Anzahl an Probandinnen begrenzt wird.

Zudem wurde bei einigen Studien, wie z.B. bei der Giavarinas et al. 2001 oder Szecsi et al. 2010 bzw. Hansen et al. 2011, zur Bestimmung der DDIM-Konzentration nur eine einzige Testmethode eingesetzt, was den Vergleich mit anderen Nachweisverfahren erschwert.

„Obwohl einige schwangerschaftswochen-spezifische Referenzintervalle berichtet wurden, wurden bei vielen der Studien nicht-standardisierte Analysemethoden benutzt und bzw. oder es gab eine Vermischung von komplizierten und unkomplizierten Schwangerschaften in ihrer Kohorte.“ (Szecsi 2010, Abbassi-Ghanavati 2009).

### 1.12 Ziel dieser Studie

Mit Hilfe der Konzentration der DDIM, als molekulare Marker des Gerinnungssystems, kann das Risiko für ein thromboembolisches Ereignis eingeschätzt werden. Die DDIM wurden dafür in zahlreichen Studien bei diversen Patientenkollektiven bestimmt. Da ihre Sensitivität sehr hoch ist, hat sich ihre Bestimmung im Algorithmus für die Diagnostik einer VTE durchgesetzt. Konzentrationen im Normbereich schließen eine Thrombose oder Embolie weitestgehend aus, erhöhte Werte sprechen für eine signifikante Aktivierung des Gerinnungssystems.

Das Risiko eine Thrombose oder Embolie zu erleiden, ist in der Schwangerschaft aufgrund physiologischer Veränderungen der Hämostase erhöht. Vor allem bei Patientinnen, die anamnestisch bereits ein solches Ereignis erlitten bzw. auch dann, wenn bereits eine Störung des Gerinnungssystems wie z.B. eine Thrombophilie bekannt ist.

Aktuell werden die DDIM in der Schwangerschaft zur Verlaufsbeurteilung verwendet, um dramatische Entwicklungen zu erkennen und abzuwenden. Sehr hohe Konzentrationen werden zur Empfehlung einer Heparinprophylaxe hinzugezogen. Die Einführung einheitlicher Therapiestrategien und die Einschätzung des individuellen Risikos für eine Thromboembolie ist Gegenstand aktueller Untersuchungen. Denn die Ermittlung der DDIM könnte auch während der Schwangerschaft hilfreich für Diagnose und Prognose einer Thromboembolie oder einer schwangerschafts-assoziierten Komplikation sowie auch für die Überwachung einer antithrombotischen Therapie sein (Eichinger et al. 2003, Eichinger 2004).

„Existierende Referenzintervalle für D-Dimer (...) basieren auf (Werten) nicht-schwangerer Frauen (...)“ (Hansen et al 2011).

Jedoch fehlen weiterhin Referenzwerte zur Einschätzung des Thromboembolierisikos gesunder, schwangerer Frauen. Die meisten Referenzintervalle basieren auf Daten, die bei männlichen Patienten oder nicht-schwangeren Patientinnen (Szecsi et al. 2010) erhoben wurden.

Physiologische Referenzbereiche im Verhältnis zur jeweiligen SSW für gesunde Schwangere - ohne thromboembolische Symptome oder dahingehend bekannte Vorerkrankungen - fehlen derzeit.

In der aktuellen Untersuchung werden die DDIM gesunder, schwangerer Frauen mit Hilfe von drei marktführenden Testsystemen verschiedener Hersteller im Vergleich bestimmt. Die Tests beruhen alle auf derselben Nachweismethode und wurden bereits in großen Studien evaluiert.

Diese Studie erfüllt den Zweck, Normwerte für die DDIM-Konzentrationen in Abhängigkeit von der SSW zu etablieren, damit schwangere Patientinnen in Zukunft besser betreut und behandelt werden können – für einen unkomplizierten Verlauf für Mutter und Kind.

## 2. Materialien und Methodik

### 2.1 Materialien

#### 2.1.1 Patientenkollektiv

In dieser experimentellen Laborstudie umfasste das Probandenkollektiv 1075 schwangere Patientinnen von SSW 5 bis 36.

Im Rahmen der Beratungstätigkeit der Laborärzte erfuhren wir durch Telefonate mit den einsendenden Gynäkologen, dass sechs der Patientinnen eine mittlerweile durch weitere Diagnoseverfahren - wie z.B. Dopplersonographie - gesicherte Unterschenkelthrombose erlitten hatten. Da in dieser Studie Referenzbereiche für gesunde Schwangere ausgearbeitet werden sollen, wurden diese sechs Patientinnen aus der Studie ausgeschlossen, so dass letztendlich 1069 Proben zur weiteren Analytik verblieben.

#### 2.1.2 Probenanzahl pro Schwangerschaftswoche

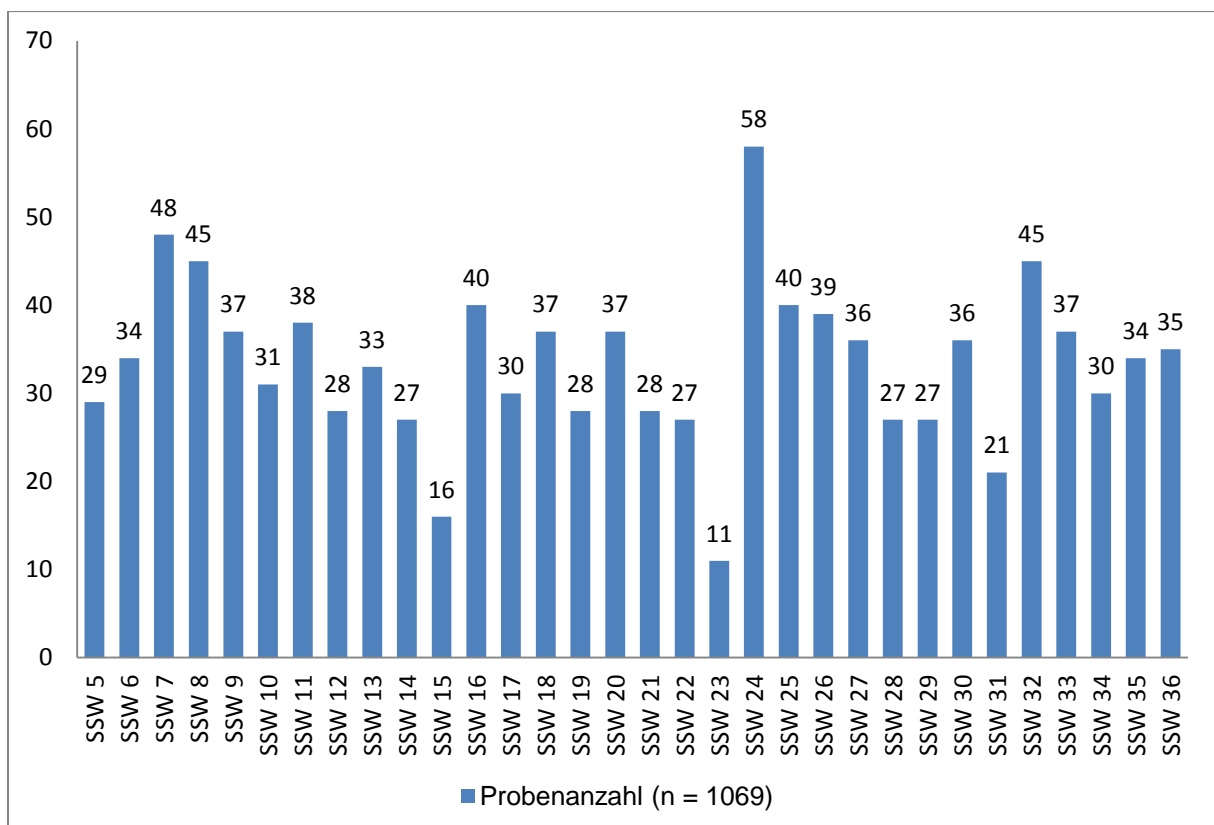
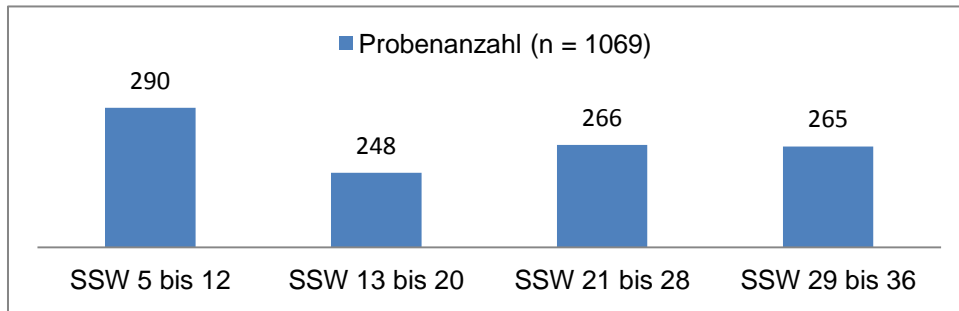


Abbildung 10: Probenanzahl pro SSW

Im Histogramm ist die Probenanzahl jeder einzelnen SSW dargestellt.

Für die nach Abschluss der Ergebnisse zur Ermittlung von Referenzbereichen verwendeten SSW-Intervalle gilt die in Abbildung 11 dargestellte Probenverteilung.



**Abbildung 11: Probenanzahl pro SSW-Intervall**

Wobei das letzte Intervall anschließend in zwei weitere Gruppen von 129 Proben für die SSW 29 bis 31 und 136 Proben für die SSW 32 bis 36 aufgeteilt wurde.

Durch Anonymisierung des Materials ist es möglich, dass in der Gesamtheit der Proben dieselbe schwangere Patientin mehrfach vorkommt. Dies ist dann allerdings nicht in derselben SSW der Fall, sondern im weiteren Verlauf. Material von derselben Patientin kann demnach beispielsweise einmal in SSW 7, einmal in SSW 13 und einmal in SSW 28 erfasst worden sein.

### 2.1.3 Probenmaterial

Bei den verwendeten Proben handelte es sich um heparinisiertes Vollblut in Monovetten der Firma Sarstedt, die von den behandelnden Gynäkologen im Rahmen der Mutterschaftsvorsorgeuntersuchungen in unser Labor eingesandt wurden.

Die Blutproben erreichten unser Labor stets am späten Nachmittag desselben Tages der Entnahme und wurden unverzüglich bei 3000 g für 10 Minuten zentrifugiert - so dass von einer Zentrifugation im Zeitraum von fünf bis sieben Stunden nach der Blutentnahme ausgegangen wird. Das Plasma jeder Probe wurde 13 bis 15 Stunden nach Zentrifugation auf drei Aliquots verteilt, verschlossen und zur späteren Messung bei - 18 bis - 22°C tiefgefroren. Die Sammlung der Proben erfolgte von Juli 2010 bis September 2010. Die Messungen fanden 11 Wochen nach Einfrieren der ersten Proben im Oktober 2010 statt. Dazu wurden die Plasmaaliquots innerhalb von 10 Minuten bei 37°C im Wärmebecken aufgetaut und durch Schwenken auf dem Vortex-Reagenzglasrührer ohne Schaumbildung homogenisiert. Unmittelbar danach fand die DDIM-Bestimmung statt.



### 2.1.4 Datenschutz

Bei Erstellen der Messwerte waren alle Patientendaten (wie Alter, Gewicht, ethnische Zugehörigkeit, Vorbefunde inklusive aller weiteren Laborwerte, Adressdaten etc.) durch Zuteilung der Proben zu anonymisierenden Zahlencodes nicht mehr zugänglich. Durch manuelles Erfassen bei Eingang der Probe, blieb lediglich die SSW der Patientin bekannt. Die Studie wurde gemäß den Richtlinien der Ethikkommission durchgeführt, deren Genehmigung vorliegt.

## 2.2 Methodik

### 2.2.1 Testsysteme

Die Ermittlung der Konzentration der DDIM wurde mit drei marktführenden Testsystemen verschiedener Firmen und dem jeweils dafür vom Hersteller empfohlenen Analysegerät durchgeführt.

Zum einen wurden Aliquots am Gerät Modular analytics P per „Tina-quant D-DI2“ von Roche analysiert. Zweites Analysegerät war der BCS XP der Firma „SIEMENS Healthcare Diagnostics Products GmbH, Marburg“, auf dem mit dem Test „INNOVANCE D-Dimer“ gemessen wurde. Als dritter Test wurde der „HemosIL D-Dimer HS 500“ auf dem ACL Top der Firma Instrumentation Laboratory verwendet. Bei allen drei Tests handelt es sich um quantitative Lateximmunoassays.

**Tabelle 7: Name der verwendeten Methode, zugehöriges Laborgerät und Testhersteller**

<b>Name des Tests</b>	<b>Analysegerät</b>	<b>Hersteller</b>
Tina-quant D-DI2	Modular analytics P	Roche
INNOVANCE D-Dimer	BCS XP	SIEMENS Healthcare Diagnostics Products GmbH, Marburg
HemosIL D-Dimer HS 500	ACL Top	Instrumentation Laboratory

Alle drei Tests basieren auf der immunologischen Trübungsmethode der Turbidimetrie. Diesem Verfahren liegt eine Antigen-Antikörper-Reaktion im sogenannten Sandwich-Prinzip zugrunde, bei der der gesuchte Analyt zwischen zwei gegen ihn gerichteten Antikörpern gebunden wird. Im Reagenz befinden sich stets Polystyrol-Latexpartikel einheitlicher Größe, die kovalent mit monoklonalen Antikörpern gegen das DDIM-Epitop beschichtet sind (Holvoet et al. 1989).

Bei diesen Antikörpern handelt es sich in allen drei Fällen um Anti-Human-D-Dimer-Antikörper der Maus.

### 2.2.2 Testprinzip des turbidimetrischen Immunoassays

Sind DDIM im Probenmaterial vorhanden, so findet zwischen ihnen und den Antikörperfragmenten auf den Latexpartikeln eine Antigen-Antikörper-Reaktion statt. Die beschichteten Partikel agglutinieren. Die Aggregation der Komplexe führt zu einer Trübung in der Probenküvette. Die Abnahme der Lichtdurchlässigkeit der Probe wird per Extinktionsmessung detektiert (Newman et al. 1992).

Entscheidend ist der Grad der Agglutination bzw. die Extinktionsänderung pro Zeiteinheit. Bestimmt wird die Zunahme der Extinktionsänderung pro Minute. Die Geschwindigkeit der Trübungszunahme ist proportional zur Konzentration der DDIM-Epitope in der Probe. Das DDIM-Ergebnis ist quantitativ und wird an den Analysegeräten in  $\mu\text{g/ml}$  bzw.  $\text{mg/l}$  angegeben. Letztendlich werden in dieser Arbeit zur besseren Vergleichbarkeit alle Ergebnisse in der Einheit  $\mu\text{g/l}$  angegeben werden.

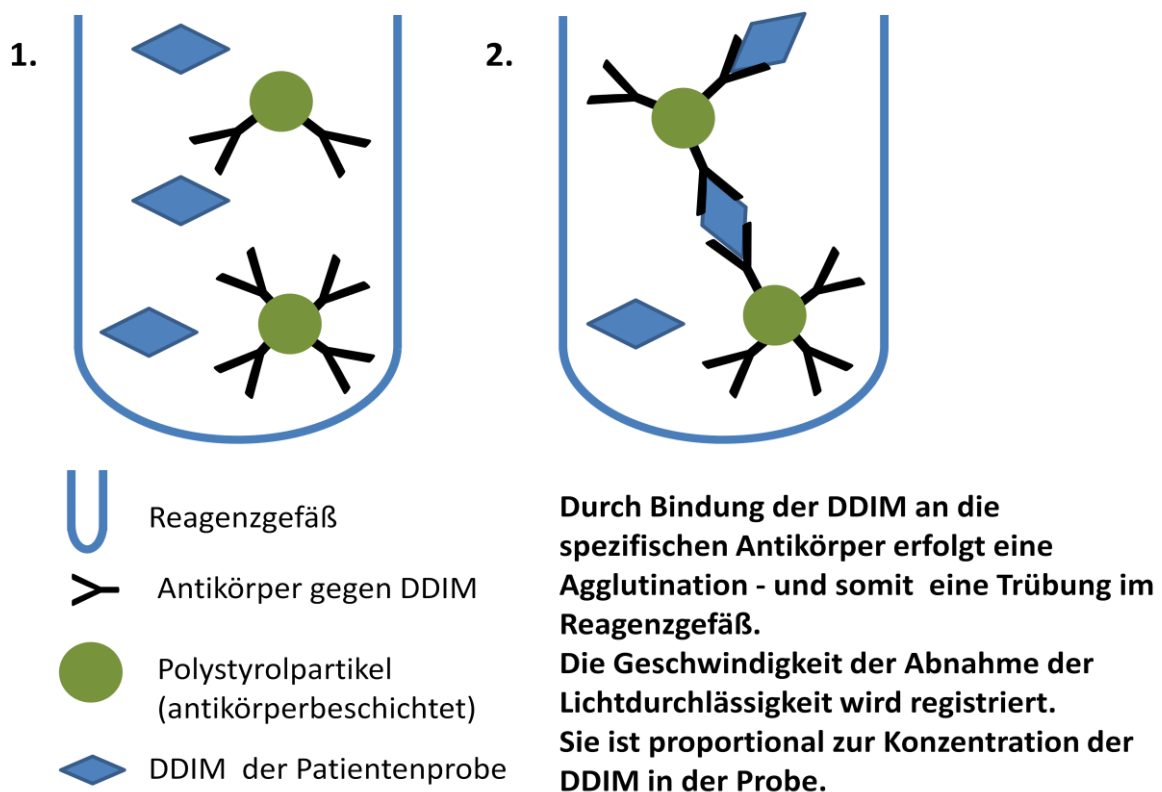


Abbildung 12: Schematische Darstellung der Latex-Agglutinations-Methode

## 2.2.3 Eigenschaften der drei Testsysteme

### 2.2.3.1 „Tina-quant D-Dimer Gen. 2 (D-DI2)“

Der Test wurde gegen die vorherige Asserachrom-Methode von Boehringer Mannheim standardisiert (Adema und Gebert 1995) und 1996 evaluiert (Dempfle et al. 1996).

Der cut-off z. A. einer TVT beträgt 0,5 µg/ml. In verschiedenen Studien wurde die Bedeutung des Tina-quant in der Ausschlussdiagnostik der TVT bzw. der LE eruiert: Schutgens et al. bestimmten die DDIM bei Patienten mit V.a. TVT. Bei einer niedrigen Wahrscheinlichkeit nach Wells und einem DDIM-Wert von unter 0,5 µg/ml wurde eine TVT mit einer Sensitivität von 99,3% und einem NPW von 99,4% ausgeschlossen (Schutgens et al. 2003). Die Fehlerrate lag bei 0,6%, d. h. 1 Patient von 176 erlitt in den folgenden 3 Monaten dennoch eine Thrombose. Zwei Jahre später bestätigten sie diese Ergebnisse (Schutgens et al. 2005).

Auch der cut-off z. A. einer LE liegt bei 0,5 µg/ml. Bei einer Untersuchung an 202 Patienten z. A. einer LE wurde sowohl eine Sensitivität als auch ein NPW von 100% ermittelt (Fehlerrate 0%) (LeClerq et al. 2003). Huisman et al. stellten eine Sensitivität von 97,3% z. A. einer LE fest - und einen NPW von 99,4% (Fehlerrate 0,62%) - ebenfalls unter der Voraussetzung eines niedrigen Wells-Scores und einem DDIM-Wert von unter 0,5 µg/ml (Huisman et al. 2006). Zahlreiche weitere Studien bekräftigten diese Ergebnisse (Janssen et al. 1997, Lindahl et al. 1999, van der Graaf et al. 2000, Fünfsinn et al. 2001, Schutgens et al. 2003, Karami Djurabi et al. 2009).

**Tabelle 8: Sensitivität und Spezifität des Tina-quant z. A. einer TVT bzw. LE in verschiedenen Studien (bei einem cut-off von 0,5 µg FEU/ml z. A. einer TVT bzw. LE)**

	<b>Schutgens et al. (2003)</b>	<b>LeClerq et al. (2003)</b>	<b>Huisman et al. (2006)</b>
	<b>zum Ausschluss einer TVT</b>	<b>zum Ausschluss einer LE</b>	
<b>Sensitivität</b>	99,3 %	100 %	97,3 %
<b>NPW</b>	99,4 %	100 %	99,4 %
<b>Spezifität</b>	45,8 %	50,4 %	60,7 %
<b>PPW</b>	42,0 %	40,5 %	24,9 %
<b>Fehlerrate</b>	0,6 %	0,0 %	0,62 %

Die Präzision wurde mit Humanplasmaproben und Kontrollen vom Hersteller bestimmt. Dabei wurde innerhalb eines Messdurchlaufs ein VK von 0,5% (im hohen Bereich) bis 1,8% (im niedrigen Messbereich) erzielt (siehe Tabelle 9).

**Tabelle 9: Präzision des Tina-quant innerhalb einer Serie und von Tag zu Tag (MW = Mittelwert, VK = Variationskoeffizient)**

Probe	Präzision innerhalb einer Serie		Präzision von Tag zu Tag	
	MW in µg/ml	VK in %	MW in µg/ml	VK in %
<b>Plasma 1</b>	0,37	1,8	0,40	4,4
<b>Plasma 2</b>	0,96	0,8	1,52	3,0
<b>Plasma 3</b>	2,50	0,5	5,34	1,4
<b>Kontrolle A</b>	0,93	0,8	0,96	2,9
<b>Kontrolle B</b>	3,80	0,5	3,87	1,9

### 2.2.3.2 „INNOVANCE D-Dimer“

Auch hier wird bei konstantem Anstieg der Extinktionsänderung (Trübungszunahme)  $\Delta E/\text{min}$  ermittelt. Die erste Messung findet nach 180 Sekunden statt – danach alle 2 Sekunden.

2008 wurde dieser Test an verschiedenen Analysegeräten im Vergleich mit den Testen „Status CS D-Dimer“ und „Vidas D-Dimer Exclusion“ anhand von 1543 Patientenproben validiert (de Moerloose et al. 2008) – mit einer Sensitivität von über 99% z. A. einer TVT und von 98,9% z. A. eine LE. Abschließend wurde festgestellt, dass „dieser Assay zum Ausschluss einer venösen thromboembolischen Erkrankung eingesetzt werden kann“ (de Moerloose et al. 2008).

Khalafallah et al. bestimmten die DDIM-Konzentration schwangerer Frauen mit INNOVANCE und „D-Dimer Plus“ - und verglichen anschließend die Ergebnisse (Khalafallah et al. 2008). Bei ansteigender DDIM-Konzentration mit zunehmender SSW, „scheint es sich so zu verhalten, dass der INNOVANCE D-Dimer Assay für schwangere Frauen wahrscheinlich sensitiver als der D-Dimer Plus Assay ist.“ (Khalafallah et al. 2008).

Auch bei diesem Test wurde vom Hersteller die Präzision mit Humanplasmaproben und Kontrollen getestet. Bei Messungen innerhalb einer Serie wurde ein Variationskoeffizient von 1,4% (im hohen Bereich) bis 7,8% (im niedrigen Bereich) bestimmt (siehe Tabelle 10).

**Tabelle 10: Präzision des INNOVANCE innerhalb einer Serie und von Tag zu Tag (MW = Mittelwert, VK = Variationskoeffizient)**

Probe	MW in µg/ml	Präzision innerhalb der Serie	Präzision von Tag zu Tag
		VK in %	VK in %
Plasma 1	0,2	7,8	7,9
Plasma 2	0,8	3,4	4,5
Plasma 3	3,6	1,5	2,6
Kontrolle A	0,3	4,1	4,3
Kontrolle B	2,6	1,4	2,2

### 2.2.3.3 „HemosIL D-Dimer HS 500“

Dieser Test wurde gegen seinen Vorgänger „HemosIL D-Dimer“ validiert, wobei sich beim Methodenvergleich eine gute Übereinstimmung mit einer Regression von 0,961 nach Passing Bablok zeigte (Morelli et al. 2005).

Die Kalibration wurde gegen einen internen „Hausstandard“ durchgeführt. Die Werte ermittelte man gemäß den von Nieuwenhuizen vorgeschlagenen Harmonisationskriterien, die im weiteren Text noch erläutert werden. (Nieuwenhuizen 1997)

Zur Evaluation wurden die DDIM bei 401 Patienten mit V.a. TVT und bei 346 Patienten mit V. a. LE bestimmt (Legnani et al. 2010). Die Spezifität wurde bei einer geringen bis mittleren PTP z. A. einer TVT mit 42,1% und z. A. einer LE mit 48,3% angegeben. Bei einem cut-off von 500 ng/ml (FEU) lagen Sensitivität und NPW bei 100% - es gab demnach keine falsch negativen Resultate. „Basierend auf seiner Sensitivität und NPW kann er als Einzeltest bei Patienten mit nicht hoher PCP angewendet werden“ (Legnani et al. 2010).

Die Präzision wurde vom Hersteller mit einem Humanplasmapool und Kontrollen getestet. Bei Messungen innerhalb einer Serie wurde ein VK von 2,5% (im hohen Bereich) bis 7,9% (im niedrigen Bereich) festgestellt (siehe Tabelle 11).

**Tabelle 11: Präzision des HemosIL innerhalb einer Serie und von Tag zu Tag (MW = Mittelwert, VK = Variationskoeffizient)**

Probe	MW in µg/ml	Präzision innerhalb der Serie	Präzision von Tag zu Tag
		VK in %	VK in %
Plasmapool	423	7,2	9,5
Kontrolle A	877	7,9	8,9
Kontrolle B	2469	2,5	7,3

### 2.2.3.4 Tabellarische Übersicht der Eigenschaften der drei Testsysteme

Tabelle 12: Zusammenfassung testspezifischer Eigenschaften der drei verwendeten Systeme

	<b>Tina-quant</b>	<b>INNOVANCE</b>	<b>HemosIL</b>
Polystyrol-Latexpartikel	x*	x	x
Monoklonale Anti-Human-DDIM-Antikörper der Maus	x	x (Name: 8D3)	x
monoklonale Antikörper bestehen aus F(ab') <sub>2</sub> Fragmenten	x	-	x
Nachweis von Fibrinspaltprodukten mit DDIM-Domäne (einschließlich DDIM und X-Oligomeren)	x	x	x
FEU als Kalibrator	x	x	x
Einheit	µg/ml	mg/l	µg/ml
Messgrenzen und nach Verdünnung (im automatisierten Rerun <sup>o</sup> ) bis:	0,15 – 9,0	0,17 – 4,40	0,20 – 7,65
cut-off z. A. einer TVT und LE	21,0	35,2	128,0
z. A. einer TVT:	0,5	0,5	0,5
Sensitivität	99,3 %	99,4 %	100,0%
NPW	99,4 %	99,5 %	100,0%
Spezifität	45,8 %	38,2 %	42,1 %
z. A. einer LE:			
Sensitivität in	97,3 – 100 %	98,9 %	100,0%
NPW	99,4 – 100 %	99,6 %	100,0%
Spezifität	50,4 – 60,7 %	39,6 %	48,3 %
Wellenlänge in nm	800	570	671
Start- und Endpunkt der Messung (in Sekunden)	340 s, 587 s	180 s, danach alle 2 s	50 s, 210 s
Verdünnungsmedium ist Natriumchlorid	x	x (und Imidazol)	x

\* : x = ja

<sup>o</sup> : Der Messbereich aller drei Tests kann durch Verdünnung der Proben erweitert werden. Im Falle sehr hoher DDIM-Konzentrationen wird vom Analysegerät über eine Rerun-Funktion die Probe in einem bestimmten Verhältnis verdünnt. Beim Tina-quant beispielsweise 1 : 2,3. Das Ergebnis wird vom Gerät am Ende mit dem Faktor 2,3 multipliziert - so dass Ergebnisse bis 21 µg/ml bestimmt werden können.

### 2.2.4 Qualitätskontrolle

Qualitätskontrollen wurden jeweils im unteren und oberen Messbereich vor jedem neuen Messdurchlauf gemäß den Herstellervorgaben bestimmt. Zudem wurden alle Proben je Test jeweils mit derselben Charge gemessen. Die Kalibrationskurve war somit an einem Gerät für alle Proben gleich.

Die Kalibrationskurve wird per barcode-reading von den Herstellern bereitgestellt. Der cut-off zum Ausschluss einer TVT ist in der Mitte des Messbereichs, was den Testsystemen eine hohe analytische Sensitivität verleiht.

Alle Teste wurden gemäß der Herstellerspezifikationen und unter akkreditierten Laborstandards durchgeführt (Akkreditierungsnummer des Labors: D-ML-13131-01-00; ISO 9001, 12 100 18145 TMS / TÜV-Süd).

### 2.2.5 Auswertung

Die deskriptive, statistische Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe der Programme JMP Statistical Discovery Software Version 3.2.1.und WinSTAT Version 2009.1. Anschließend folgte die Erarbeitung von Referenzbereichen unter Angabe der 2,5. und 97,5. Perzentilen – sowie ein Vergleich mit anderen Studien. Abschließend wurden die Endergebnisse der drei Testsysteme im Methodenvergleich gegenübergestellt.

### 3. Ergebnisse

In den folgenden Tabellen und graphischen Darstellungen wurde zur besseren Vergleichbarkeit der Testsysteme als Einheit der DDIM-Konzentration stets  $\mu\text{g/l}$  gewählt.

#### 3.1 Probenmaterial

##### 3.1.1 Nebenstudie 1: Stabilität der D-Dimere bei Raumtemperatur

###### 3.1.1.1 Durchführung

Bei den für die Zusatzuntersuchung verwendeten Proben handelte es sich um 10 Probenpaare aus der täglichen Laborroutine - jeweils bestehend aus einer Citrat- und einer Heparinmonovette desselben Patienten. Die Proben wurden unmittelbar nach Probeneingang bei 3000 g für 10 Minuten zentrifugiert - so dass auch hier von einer Zentrifugation von fünf bis sieben Stunden nach Entnahme ausgegangen wird. Anschließend wurden die DDIM am BCS per INNOVANCE gemessen. Die zweite Messung fand statt, nachdem die Proben 24 Stunden bei 18- 22°C aufbewahrt worden waren.

###### 3.1.1.2 Ergebnis

**Tabelle 13: Konzentration der DDIM im Citratplasma (CP) und Heparinplasma (HP) bei Erstmessung und nach 24 Stunden bei Raumtemperatur (inklusive Konzentrationsunterschiede in %)**

Nr.	DDIM im CP	DDIM im HP		DDIM im CP nach 24 h	Differenz im CP	DDIM im HP nach 24 h	Differenz im HP
	in $\mu\text{g/l}$	in $\mu\text{g/l}$		in $\mu\text{g/l}$	in %	in $\mu\text{g/l}$	in %
1	256	314		240	- 6,3	305	- 2,9
2	344	422		341	- 0,9	388	- 8,1
3	532	615		555	4,1	628	2,1
4	718	861		772	7,0	902	4,6
5	783	959		803	2,5	1036	7,4
6	1243	1498		1205	- 3,1	1504	0,4
7	1367	1599		1481	7,7	1734	7,8
8	1374	1701		1413	2,8	1809	6,0
9	1860	2241		1845	- 0,8	2095	- 6,5
10	2204	2612		2077	- 5,8	2407	- 7,9

Nach 24 Stunden wurden im Citratplasma DDIM-Konzentrationen gemessen, die 6,3% niedriger bis 7,7% höher lagen als der Vorwert. Im heparinisierten Plasma konnten Werte, die 8,1% niedriger bis 7,8% höher lagen, festgestellt werden.



### 3.1.2 Nebenstudie 2: Stabilität der D-Dimere nach dreimonatigem Einfrieren

#### 3.1.2.1 Durchführung

Hierfür wurde die Konzentration der DDIM aus heparinisierem Plasma von 45 schwangeren Patientinnen unterschiedlicher SSW bestimmt. Es handelt sich nicht um Proben der aktuellen Studie, sondern um zusätzliche Heparinmonovetten der täglichen Laborroutine, die unter denselben Bedingungen gewonnen, transportiert und bearbeitet wurden. Nach Eingang wurde bei 3000g für 10 Minuten zentrifugiert. Auch hierbei wird von einer Bearbeitung von fünf bis sieben Stunden nach Blutentnahme ausgegangen. Die Messung der DDIM fand unmittelbar danach per INNOVANCE am BCS statt. Anschließend wurden die Proben bei - 22 °C bis - 18°C eingefroren. Nach 12 Wochen wurden sie für zehn Minuten im Warmwasserbecken bei 37°C aufgetaut und auf dem Vortex-Reagenzglas mischer homogenisiert. Anschließend wurden die DDIM mit Hilfe des INNOVANCE am BCS erneut ermittelt.

#### 3.1.2.2 Ergebnis

**Tabelle 14: Konzentration der DDIM im Heparinplasma bei Erstmessung (DDIM 1) und nach drei Monaten bei - 22°C bis - 18°C (DDIM 2) (inklusive Konzentrationsunterschiede in %)**

Probennummer	SSW	DDIM 1	DDIM 2	Differenz in %
1	12	424	388	- 8,5
2	15	1150	1115	3,0
3	16	1306	1272	- 2,6
4	16	742	690	- 7,0
5	16	1225	1192	- 2,7
6	19	1029	1086	5,3
7	20	755	720	- 4,6
8	22	514	469	- 8,8
9	24	1016	975	- 4,0
10	24	1845	1837	- 0,4
11	24	2057	1990	- 3,6
12	24	1676	1651	- 1,5
13	25	874	868	- 0,7
14	25	876	822	- 6,2
15	25	1034	998	- 3,5
16	25	1335	1351	1,2
17	25	437	450	2,9
18	25	513	489	- 4,7
19	25	1431	1351	- 5,6
20	25	975	923	- 5,3

21	26	972	933	- 4,0
Probennummer	SSW	DDIM 1	DDIM 2	Differenz in %
22	26	638	608	- 4,7
23	26	1026	996	- 2,9
24	26	651	609	- 6,5
25	26	1654	1599	- 3,3
26	27	1716	1659	- 3,3
27	27	628	612	- 2,6
28	27	770	773	0,4
29	27	2274	2291	0,7
30	27	878	868	- 1,1
31	27	1019	1026	0,7
32	28	1281	1263	- 1,4
33	28	1120	1084	- 3,2
34	31	1610	1555	- 3,4
35	32	1829	1766	- 3,4
36	32	1330	1263	- 5,0
37	33	1491	1517	1,7
38	33	3033	3091	1,9
39	33	2929	2865	- 2,2
40	33	3394	3223	- 5,0
41	34	1822	1777	- 2,5
42	34	3116	3076	- 1,3
43	34	2102	2054	- 3,3
44	34	1567	1490	- 4,9
45	34	2830	2768	-2,2
		<b>durchschnittliche Differenz:</b>		<b>- 3,6</b>

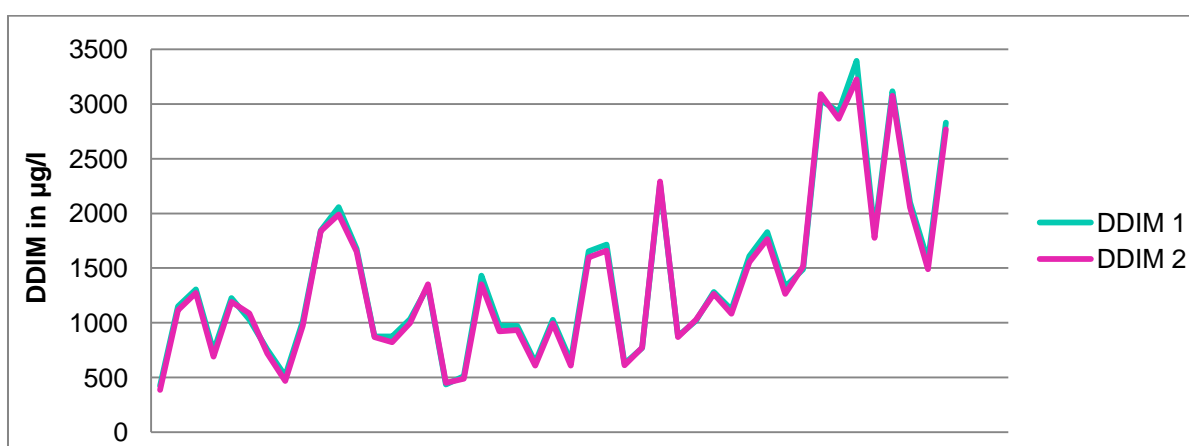


Abbildung 13: Konzentration der DDIM in Heparinplasma vor (DDIM 1) und nach (DDIM 2) dem Einfrieren für drei Monate

Die DDIM-Konzentration hat sich in den Proben, die 3 Monaten tiefgefroren waren, nicht wesentlich verändert. Im Vergleich zur Erstmessung wurden Konzentrations-

unterschiede von minus 8,8% bis plus 5,3% festgestellt. Durchschnittlich wurde bei der zweiten Messung ein Konzentrationsabfall von 3,6% festgestellt.

### **3 1.3 Nebenstudie 3: Materialvergleich von Citrat- und Heparinplasma**

#### **3.1.3.1 Hintergrund**

Für die Bestimmung der DDIM aus heparinisiertem Blutplasma wurde am Modular per Tina-quant von Roche eine gesonderte, vom Hersteller speziell für dieses Material entwickelte Kalibration verwendet.

Für INNOVANCE und HemosIL existiert diese noch nicht. Da hierbei die Kalibration für die Messung der DDIM aus Citratplasma verwendet wurde, ist aufgrund der geringeren Verdünnung in der Heparinmonovette von höheren Werten auszugehen.

#### **3.1.3.2 Durchführung**

Als Material dienten 11 Probenpaare der täglichen Laborroutine - jeweils eine Citrat- und eine Heparinmonovette derselben Patientin bzw. desselben Patienten. Es handelte sich nicht zwangsläufig um schwangere Frauen.

Eine erhöhte Konzentration der DDIM war bei diesen Proben bereits durch Messungen per Tina-quant im Citratplasma auffällig. Nun wurden die DDIM per INNOVANCE am BCS und per HemosIL am ACL Top bestimmt.

Nach Eingang der Proben wurden diese bei 3000g für 10 Minuten zentrifugiert. Wieder wird von einer Bearbeitung von fünf bis sieben Stunden nach Blutentnahme ausgegangen. Die Messung der DDIM fand unmittelbar danach statt. Sie wurden im Original sowie in drei weiteren Verdünnungsstufen von 1:2, 1:4 und 1:6 bestimmt. Nur komplette Verdünnungsreihen wurden in das Endergebnis einbezogen, bei Materialmangel wurde die betreffende Probe aus der Berechnung ausgeschlossen.

### 3.1.3.3 Ergebnis

Tabelle 15: Konzentration der DDIM im Citratplasma (CP) und Heparinplasma (HP) im Original (Orig.) und in drei weiteren Verdünnungsstufen; CP HP Diff. = Konzentrationsunterschiede in %, \* = kein Material mehr vorhanden,  $\emptyset$  = durchschnittlich

	Tina-quant	INNOVANCE			HemosIL		
		CP	HP	CP HP Diff.	CP	HP	CP HP Diff.
<b>Nr. 1</b>	<b>CP</b>	<b>CP</b>	<b>HP</b>	<b>CP HP Diff.</b>	<b>CP</b>	<b>HP</b>	<b>CP HP Diff.</b>
Orig.	3199	3840	4689	18%	5327	4265	-19%
1 zu 2		1938	2313	16%	*	*	
1 zu 4		978	1191	18%	*	*	
1 zu 6		683	815	16%	*	*	
				$\emptyset + 17\%$			
<b>Nr. 2</b>	<b>CP</b>	<b>CP</b>	<b>HP</b>	<b>CP HP Diff.</b>	<b>CP</b>	<b>HP</b>	<b>CP HP Diff.</b>
Orig.	3551	4638	5658	18%	5158	6695	23%
1 zu 2		2518	3094	19%	2367	3793	38%
1 zu 4		1293	1531	16%	1390	1557	11%
1 zu 6		841	1039	19%	1063	1165	9%
				$\emptyset + 18\%$			$\emptyset + 20\%$
<b>Nr. 3</b>	<b>CP</b>	<b>CP</b>	<b>HP</b>	<b>CP HP Diff.</b>	<b>CP</b>	<b>HP</b>	<b>CP HP Diff.</b>
Orig.	2065	2672	3377	21%	2433	*	
1 zu 2		1397	1778	21%	1372	*	
1 zu 4		708	893	21%	862,00	*	
1 zu 6		488	605	19%	608	*	
				$\emptyset + 21\%$			
<b>Nr. 4</b>	<b>CP</b>	<b>CP</b>	<b>HP</b>	<b>CP HP Diff.</b>	<b>CP</b>	<b>HP</b>	<b>CP HP Diff.</b>
Orig.	3654	4984	5898	16%	5641	6438	12%
1 zu 2		2566	3218	20%	*	*	
1 zu 4		1352	1607	16%	*	*	
1 zu 6		937	1031	9%	*	*	
				$\emptyset + 15\%$			



<b>Nr. 10</b>		<b>CP</b>	<b>HP</b>	<b>CP HP Diff.</b>	<b>CP</b>	<b>HP</b>	<b>CP HP Diff.</b>
Orig.		7505	9442	21%	7887	9978	21%
1 zu 2		4151	4757	13%	4721	5719	18%
1 zu 4		2213	2521	12%	2647	3211	18%
1 zu 6		1303	1522	14%	1640	1841	11%
				ø + 15%			ø + 17%
<b>Nr. 11</b>		<b>CP</b>	<b>HP</b>	<b>CP HP Diff.</b>	<b>CP</b>	<b>HP</b>	<b>CP HP Diff.</b>
Orig.		12245	15936	23%	*	*	
1 zu 2		6286	8162	23%	*	*	
1 zu 4		3246	3864	16%	*	*	
1 zu 6		2426	2866	15%	*	*	
				ø + 19%			
				im HP:			im HP:
				ø + 17 %			ø + 17 %

In heparinisierem Blutplasma wurden per INNOVANCE und auch per HemosIL ca. 17% höhere DDIM-Konzentrationen als im Citratplasma ermittelt.

Aufgrund dieses Ergebnisses folgte die Anpassung der Messwerte für INNOVANCE und HemosIL für die DDIM-Bestimmung aus heparinisierem Plasma. Die im Folgenden angegebenen Ergebnisse des Tina-quant entsprechen den original ermittelten Rohdaten. Bei INNOVANCE und HemosIL wurden von allen Ergebnissen 17% subtrahiert und anschließend auf einen Wert ohne Dezimalstellen gerundet, so dass im Weiteren alle Ergebnisse für einunddasselbe Material gelten.

## 3.2 Ermittelte Werte

### 3.2.1 Patientinnen mit nachgewiesener Thrombose

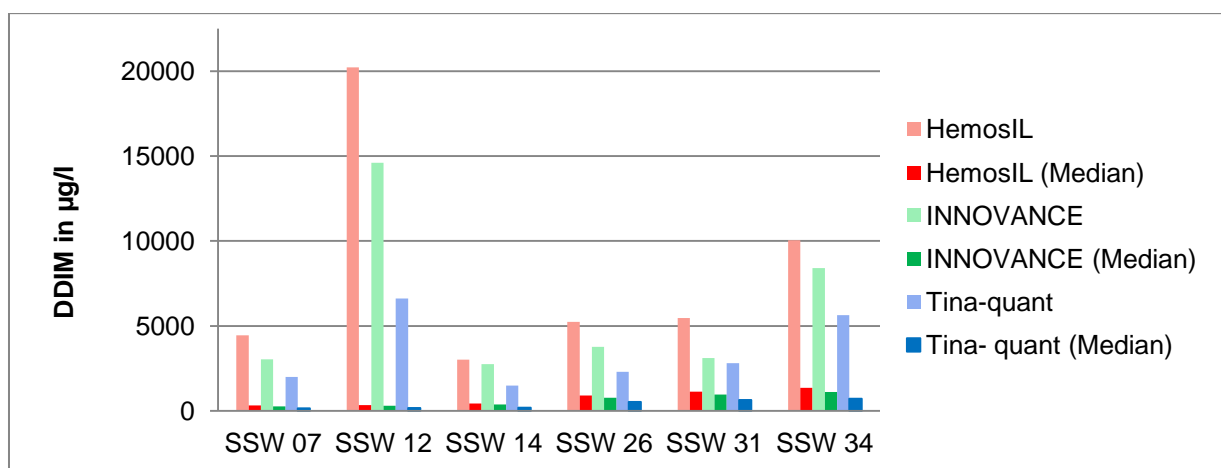
Sechs der 1075 Patientinnen erlitten im Laufe der Studie eine TVT. Bei diesen Patientinnen wurden im Vergleich zur Referenzgruppe derselben SSW deutlich erhöhte DDIM-Werte nachgewiesen.

Beim Tina-quant waren Werte von über dem 4fachen bis über dem 39fachen des Medians der entsprechenden SSW-Gruppe auffällig, beim INNOVANCE waren es Werte, die über dem 3- bis 49fachen des Medians lagen. Per HemosIL wurden

DDIM-Konzentrationen über dem 5- bis 60fachen des Medians der SSW-Gruppe gemessen.

**Tabelle 16: DDIM-Konzentrationen der drei Testsysteme im Vergleich zum Median der entsprechenden SSW - bei sechs Patientinnen mit nachgewiesener TVT**

SSW	Tina-quant	Tina- quant Median	INNOVANCE	INNOVANCE Median	HemosIL	HemosIL Median
	DDIM in µg/l	DDIM in µg/l	DDIM in µg/l	DDIM in µg/l	DDIM in µg/l	DDIM in µg/l
7	1990	146	3030	267	4437	323
12	6606	168	14601	300	20209	336
14	1478	192	2742	382	3010	427
26	2301	529	3764	762	5235	901
31	2797	645	3109	959	5467	1122
34	5627	720	8395	1111	10048	1349



**Abbildung 14: DDIM-Konzentrationen der Testsysteme im Vergleich zum Median der entsprechenden SSW - bei sechs Patientinnen mit nachgewiesener TVT**

Da Referenzbereiche für gesunde Schwangere etabliert werden sollen, schlossen wir diese sechs Patientinnen aus der Studie aus, womit 1069 Proben verblieben.

### 3.2.2 Unplausible Messwerte

Bei 47 Proben verschiedener SSW wurden mit einem der drei Testsysteme Werte bestimmt, die in Relation zu denen der beiden anderen Tests deutlich vom zu erwartenden Wert abwichen. Die folgende Tabelle 13 zeigt sechs Beispiele, wobei die unplausiblen Werte in blauer Kursivschrift abgedruckt sind.

Tabelle 17: Mit Hilfe der drei Testsysteme gemessene DDIM-Konzentrationen - sechs Beispiele unplausibler Werte in verschiedenen SSW

SSW	Tina-quant	INNOVANCE	HemosIL
07	154 µg/l	296 µg/l	<i>1571 µg/l</i>
08	<i>1207 µg/l</i>	2125 µg/l	3258 µg/l
19	538 µg/l	<i>3475 µg/l</i>	1270 µg/l
27	1901 µg/l	<i>175 µg/l</i>	2513 µg/l
31	368 µg/l	638 µg/l	<i>1579 µg/l</i>
33	492 µg/l	737 µg/l	<i>72 µg/l</i>

Nach Entfernung dieser Proben aus der Gesamtzahl blieben 1022 Proben zur weiteren Berechnung.

### 3.2.3 Ergebnisse in Streudiagrammen

Die folgenden Diagramme zeigen die mit den drei Testsystemen gemessenen DDIM-Konzentrationen der 1022 Proben – in Relation zur jeweiligen SSW.

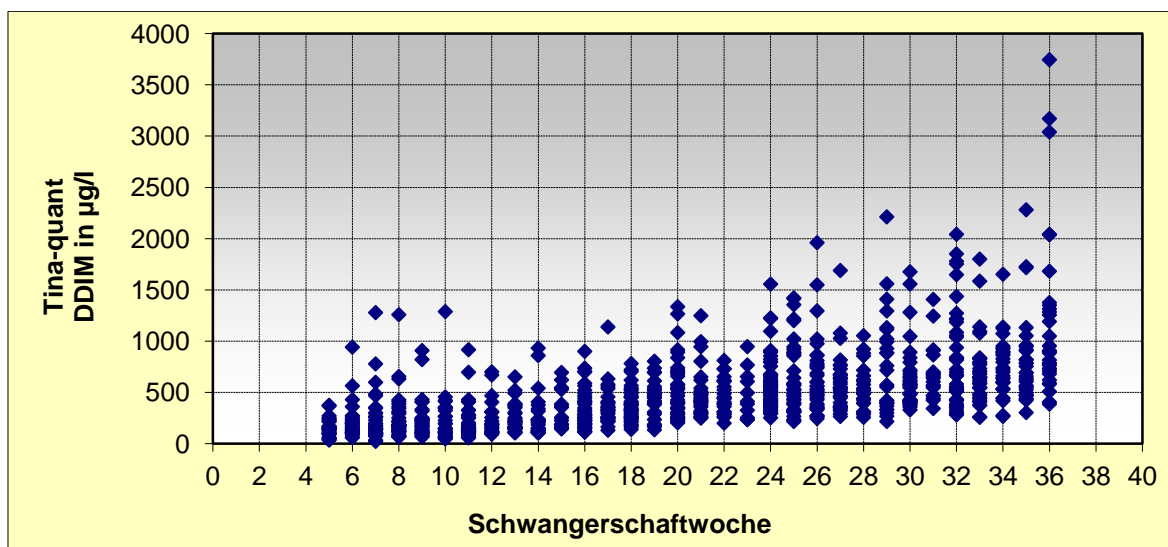


Abbildung 15: Streudiagramm der Messwerte per Tina-quant (DDIM in µg/l in Relation zur SSW)



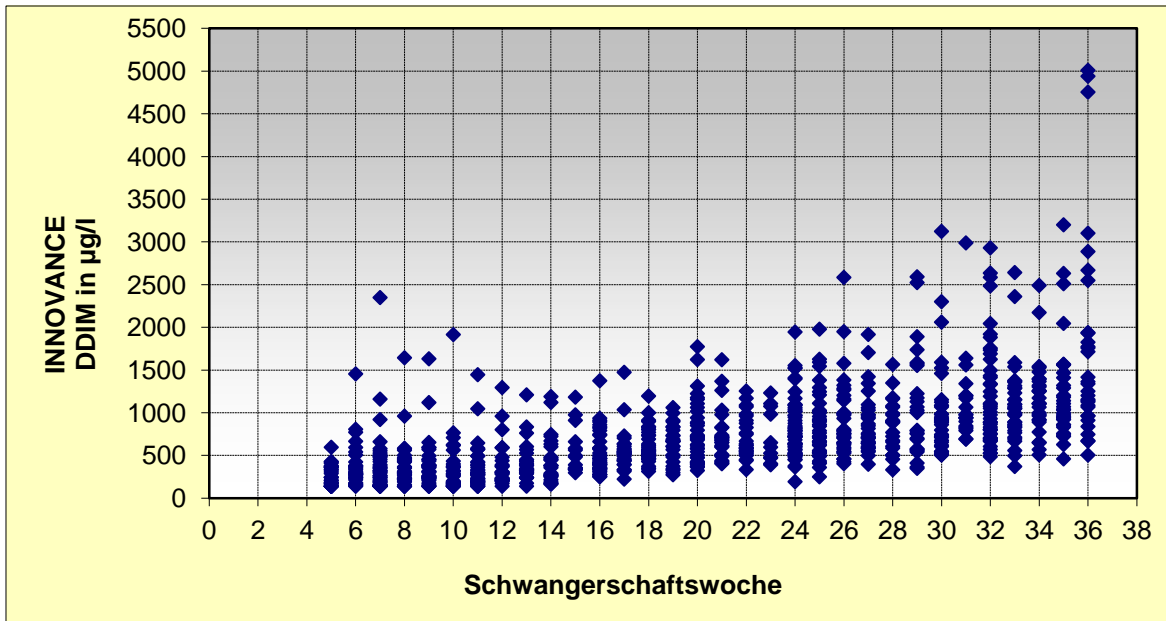


Abbildung 16: Streudiagramm der Messwerte per INNOVANCE (DDIM in µg/l in Relation zur SSW)

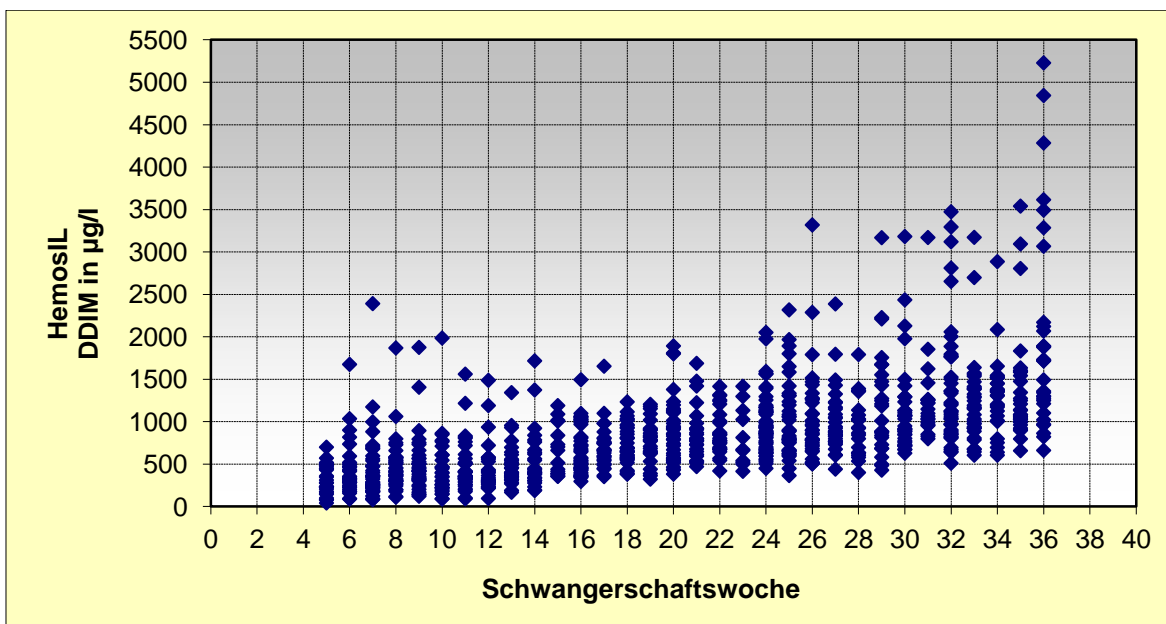


Abbildung 17: Streudiagramm der Messwerte per HemosIL (DDIM in µg/l in Relation zur SSW)

### 3.2.4 Test auf Normalverteilung

Bei Anwendung des Shapiro-Wilk-Tests sollte die Wahrscheinlichkeit  $p$  zur Annahme der Normalverteilung der gemessenen Werte größer als 0,05 sein. Für den gesamten Wertebereich gilt für alle drei Testsysteme:  $p < 0,05$ .

Auch nach Anwendung des Kolmogorov-Smirnov-Tests für kontinuierliche Variable wird eine Wahrscheinlichkeit  $p$  zur Annahme der Normalverteilung von weniger als 0,05 für alle drei Tests erreicht.

Für den gemessenen Wertebereich gilt für alle drei Testsysteme:  $p$  tendiert gegen 0. Die Annahme auf normalverteilte Werte muss abgelehnt werden.

### 3.2.5 Ergebnisse in Histogrammen

Im Folgenden sind von allen drei Testsystemen die absoluten Häufigkeiten der Werte in Relation zur Normalverteilung (rot hinterlegt) graphisch dargestellt.

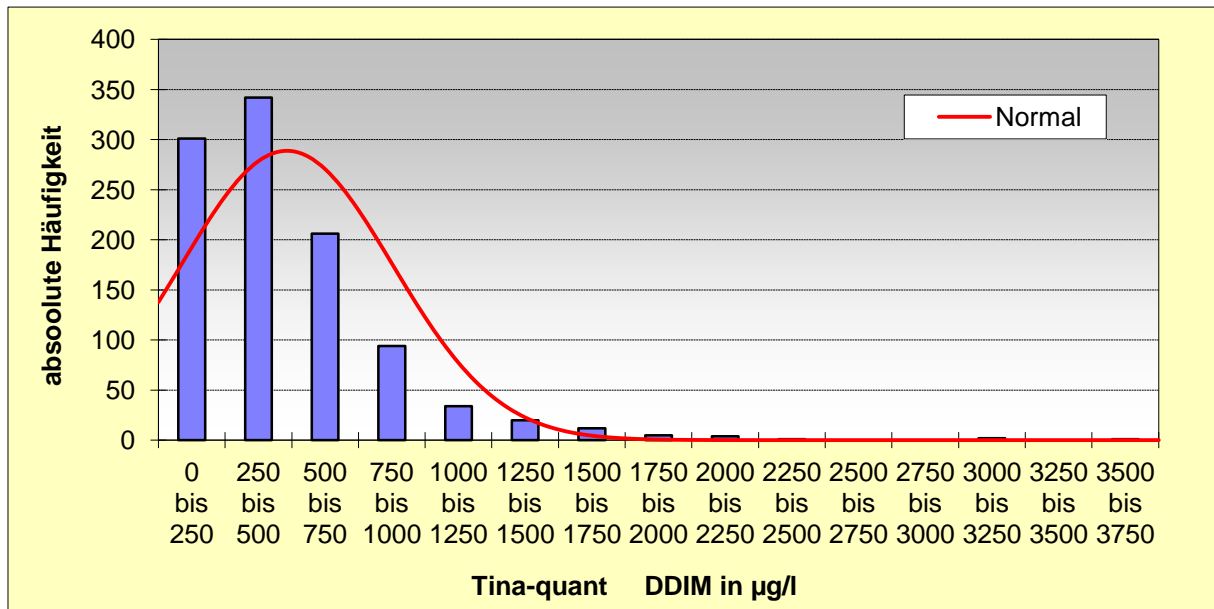


Abbildung 18: absolute Häufigkeiten der per Tina-quant gemessenen DDIM-Konzentrationen in µg/l – in Relation zur Normalverteilung (rot)

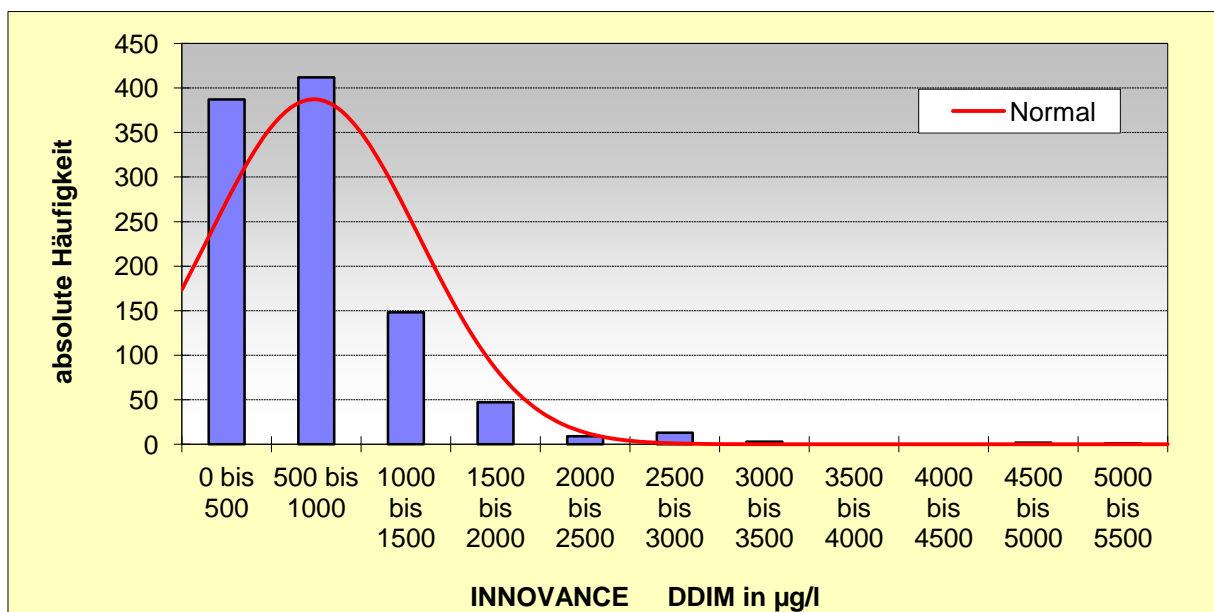


Abbildung 19: absolute Häufigkeiten der per INNOVANCE gemessenen DDIM-Konzentrationen in µg/l – in Relation zur Normalverteilung (rot)

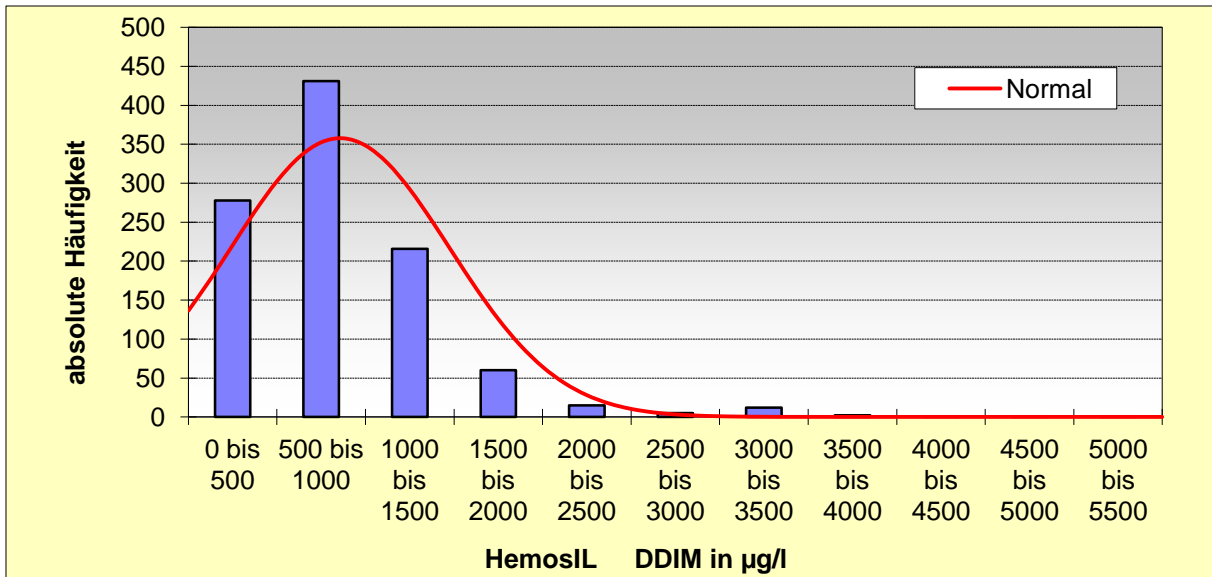


Abbildung 20: absolute Häufigkeiten der HemoSL gemessenen DDIM-Konzentrationen in µg/l – in Relation zur Normalverteilung (rot)

### 3.2.6 Ergebnisse in kumulativen Häufigkeiten

Im Folgenden sind von allen drei Testsystemen die kumulativen Häufigkeiten in Prozent in Relation zur Normalverteilung graphisch dargestellt.

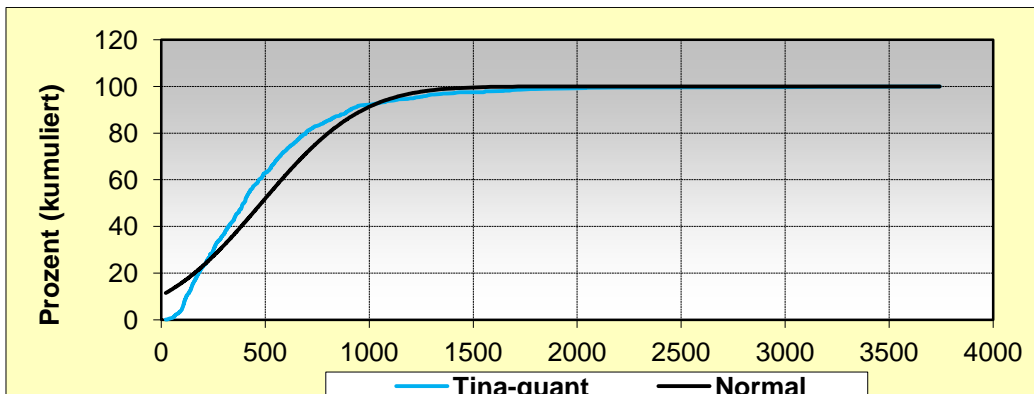


Abbildung 21: kumulative Häufigkeiten der per Tina-quant gemessenen DDIM-Konzentrationen in µg/l – in Relation zur Normalverteilung (schwarz)

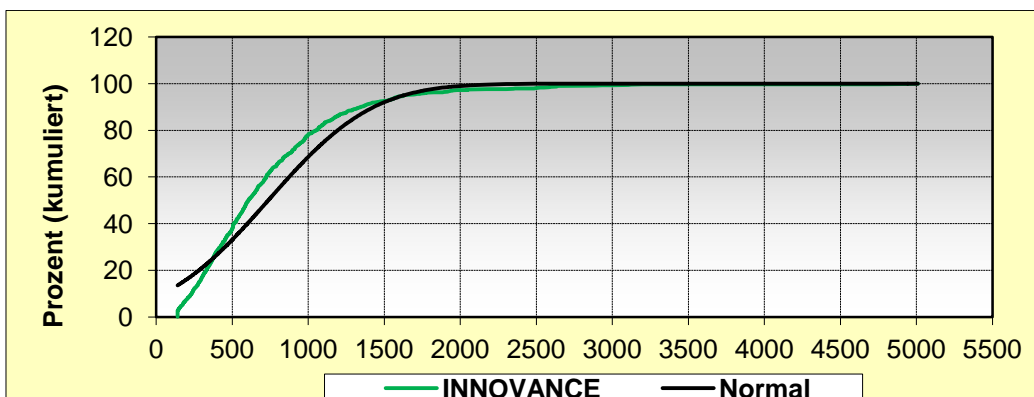


Abbildung 22: kumulative Häufigkeiten der per INNOVANCE gemessenen DDIM-Konzentrationen in µg/l – in Relation zur Normalverteilung (schwarz)

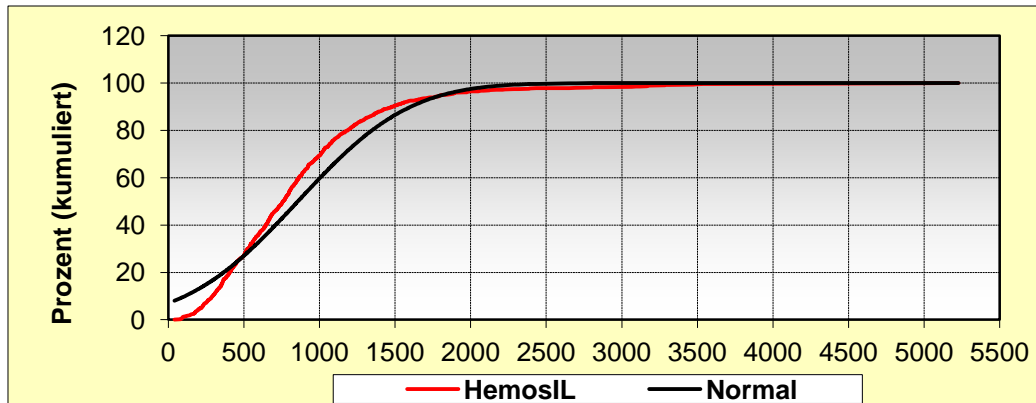


Abbildung 23: kumulative Häufigkeiten der per HemosIL gemessenen DDIM-Konzentrationen in  $\mu\text{g/l}$  – in Relation zur Normalverteilung (schwarz)

### 3.2.7 Deskriptive Statistik

Tabelle 18: Beschreibende, statistische Daten aller drei Testsysteme im Vergleich

	Tina-quant	INNOVANCE	HemosIL
gültige Fälle	1022	1022	1022
Mittelwert (MW)	481	737	856
Standardfehler des MW	12	17	18
Varianz	146001	293592	340028
Standardabweichung	382	542	583
Variationskoeffizient (VK)	0,8	0,7	0,7
relativer VK in %	2,5	2,3	2,1
Schiefe	2	3	2
Kurtosis	11	12	9
Minimum	21	141	41
Maximum	3744	5011	5228
Spannweite	3723	4870	5188
Summe	491403	753467	875052
1. Perzentil	55	141	93
2,5. Perzentil	78	141	168
5. Perzentil	100	168	216
10. Perzentil	119	232	293
25. Perzentil	217	374	461
Median	396	606	759
75. Perzentil	630	961	1082
90. Perzentil	907	1344	1484
95. Perzentil	1215	1632	1829
97,5. Perzentil	1455	2054	2301
99. Perzentil	1838	2664	3261
geometrischer Mittelwert	364	589	696

### 3.2.8 Ergebnisse in Box-Whisker-Plots

#### 3.2.8.1 Erläuterung

Bei den im Folgenden verwendeten Box-Whisker-Plots stellt das Ende des oberen „Whiskers“ jeweils die 95. Perzentile und das untere Ende des unteren „Whiskers“ jeweils die 5. Perzentile dar. Die Box enthält stets die mittleren 50% der Werte. Die roten Kreuze markieren den gesamten Messbereich: von 0 bis 100%.

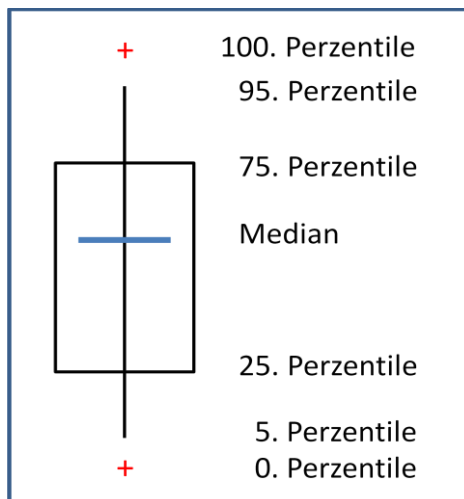


Abbildung 24: Erläuterung der Darstellung der verwendeten Box-Whisker-Plots

#### 3.2.8.2 Box-Whisker-Plot aller Ergebnisse der drei Testsysteme

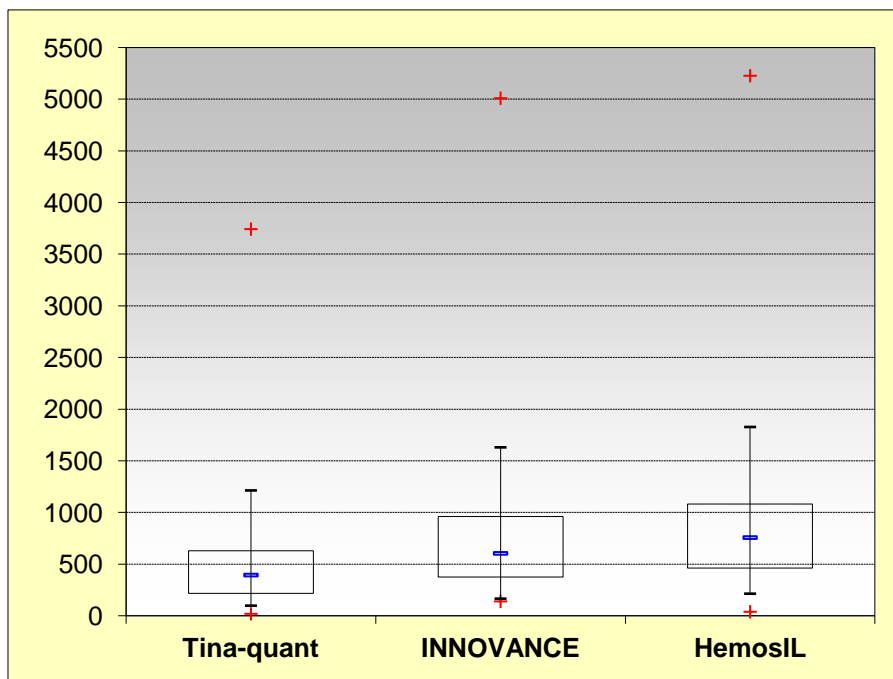


Abbildung 25: Box-Whisker-Plot der gemessenen Werte für alle drei Testsysteme

Die Messwerte reichen beim Tina-quant von 21 bis 3744  $\mu\text{g/l}$ . Beim INNOVANCE von 141 bis 5011  $\mu\text{g/l}$  – und beim HemosIL von 41 bis 5228  $\mu\text{g/l}$ .

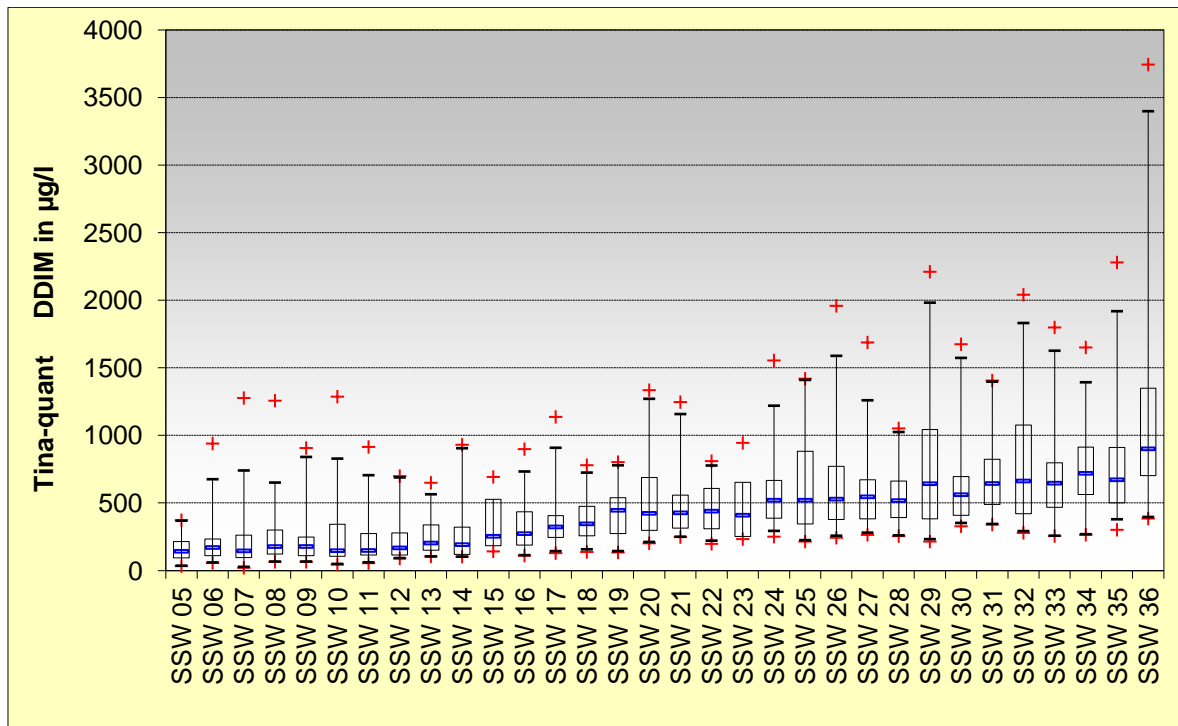


Abbildung 26: Box-Whisker-Plot der per Tina-quant gemessenen DDIM-Konzentrationen in  $\mu\text{g/l}$  - im Verlauf der Schwangerschaft

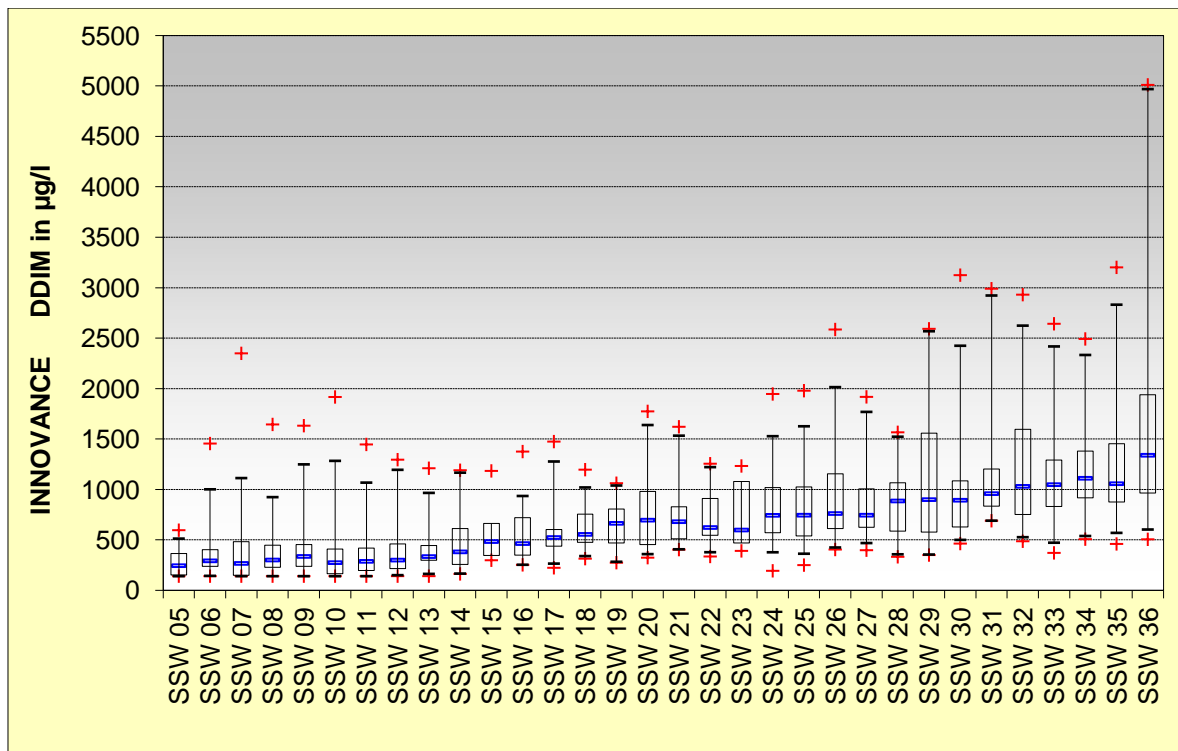


Abbildung 27: Box-Whisker-Plot der per INNOVANCE gemessenen DDIM-Konzentrationen in  $\mu\text{g/l}$  - im Verlauf der Schwangerschaft

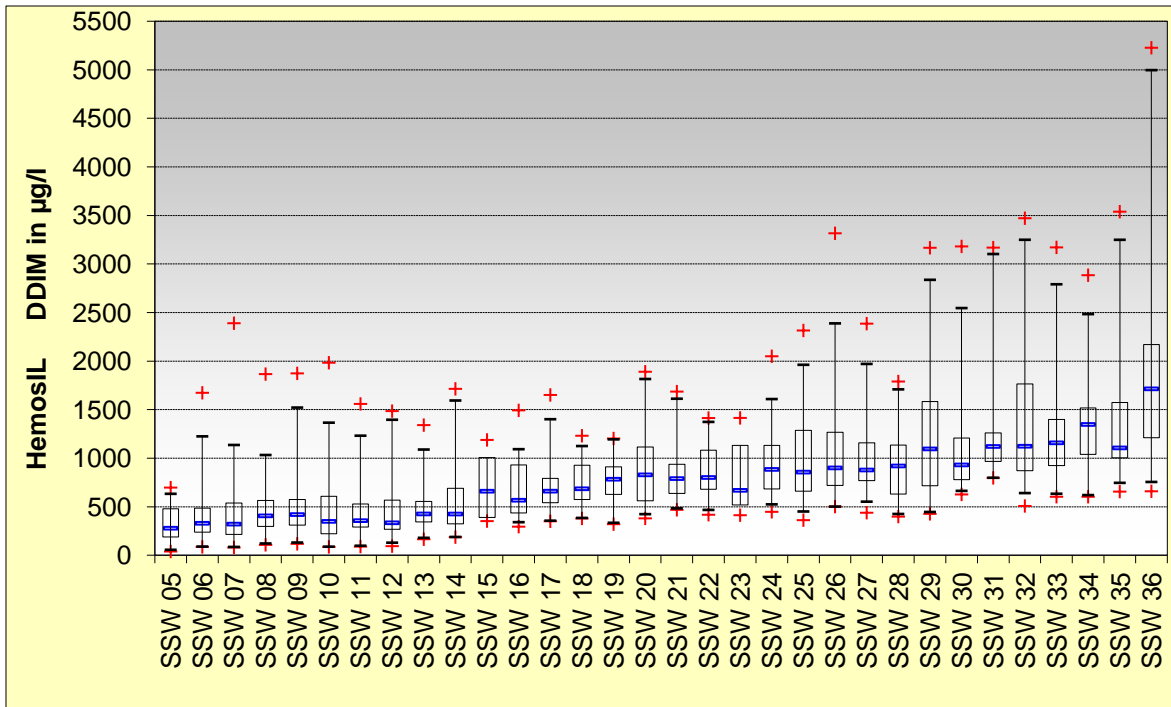


Abbildung 28: Box-Whisker-Plot der per HemosIL gemessenen DDIM-Konzentrationen in µg/l - im Verlauf der Schwangerschaft

### 3.2.9 Mediane aller drei Testsysteme im Verlauf

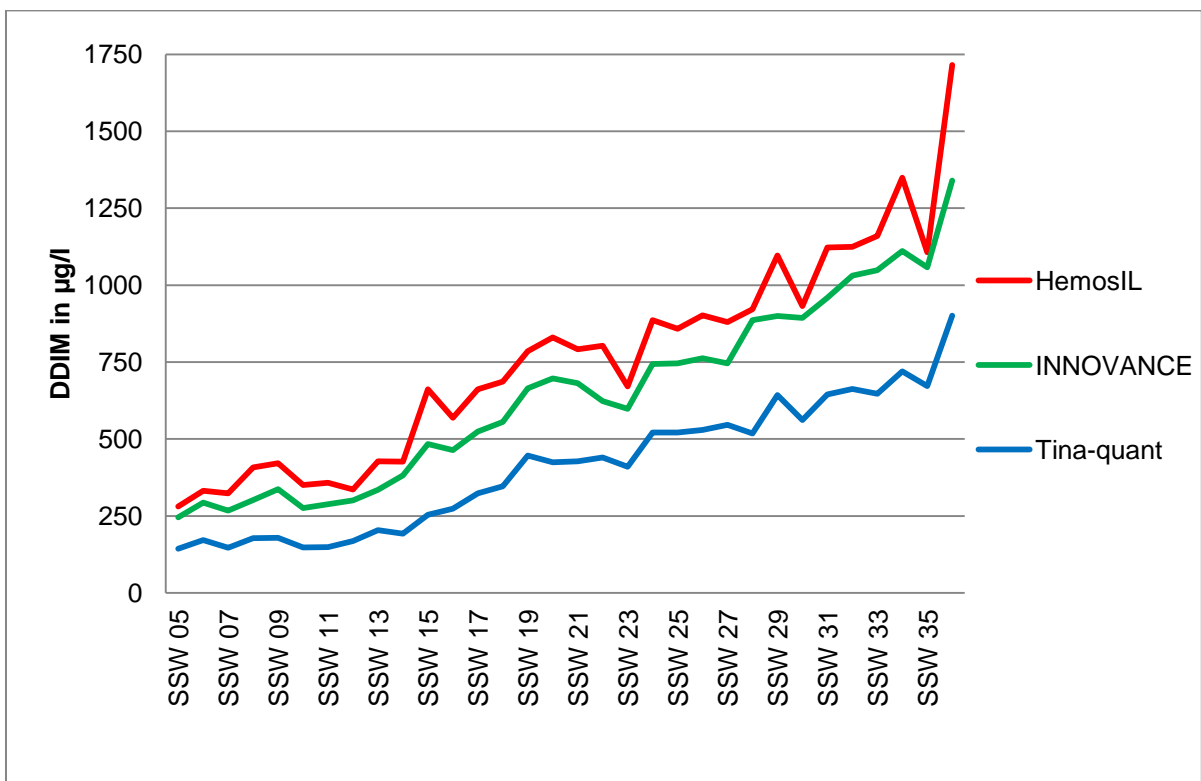


Abbildung 29: Mediane der gemessenen DDIM-Konzentrationen aller drei Testsysteme in µg/l - im Verlauf der Schwangerschaft

### 3.2.10 Die 2,5. und 97,5. Perzentile aller drei Testsysteme im Verlauf

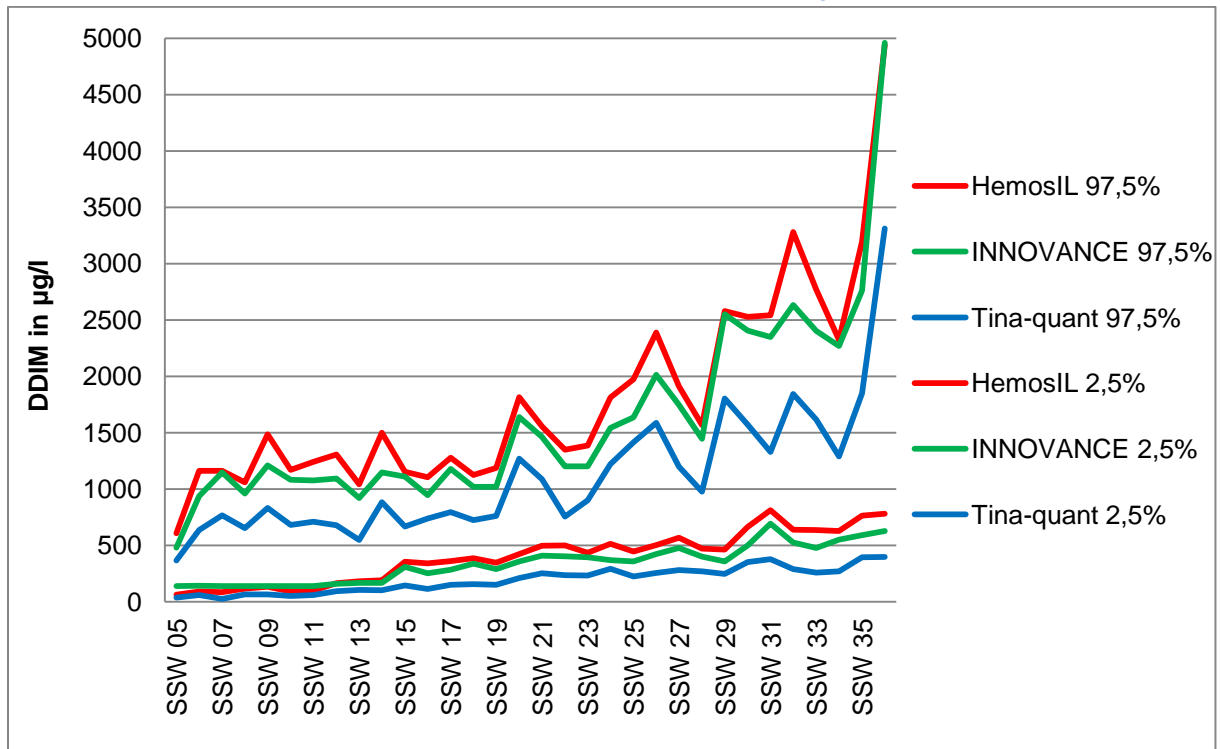


Abbildung 30: 2,5. und 97,5. Perzentilen der gemessenen DDIM-Konzentrationen aller drei Testsysteme in µg/l - im Verlauf der Schwangerschaft

### 3.2.11 Referenzbereiche der D-Dimere im Verlauf der Schwangerschaft

#### 3.2.11.1 Einteilung der Schwangerschaftswochen in vier Intervalle

Orientiert an den Schwangerschaftstrimestern wurden die einzelnen SSW in vier Intervalle unterteilt, wobei das letzte Intervall erneut in zwei Gruppen geteilt wurde (siehe Tabelle 19).

Tabelle 19: Einteilung der SSW in Intervalle – orientiert an den Schwangerschaftstrimestern

Intervall	SSW	Bemerkung
1	5 bis 12	SSW des 1.Trimesters einer Schwangerschaft
2	13 bis 20	entspricht der 1.Hälfte des 2.Trimesters
3	21 bis 28	entspricht der 2.Hälfte des 2.Trimesters
4	29 bis 36	SSW des 3.Trimesters einer Schwangerschaft
4	A	29 bis 32
4	B	33 bis 36



Tabelle 20 gibt die 2,5., 50. und 97,5. Perzentile der oben erwähnten SSW-Intervalle wieder.

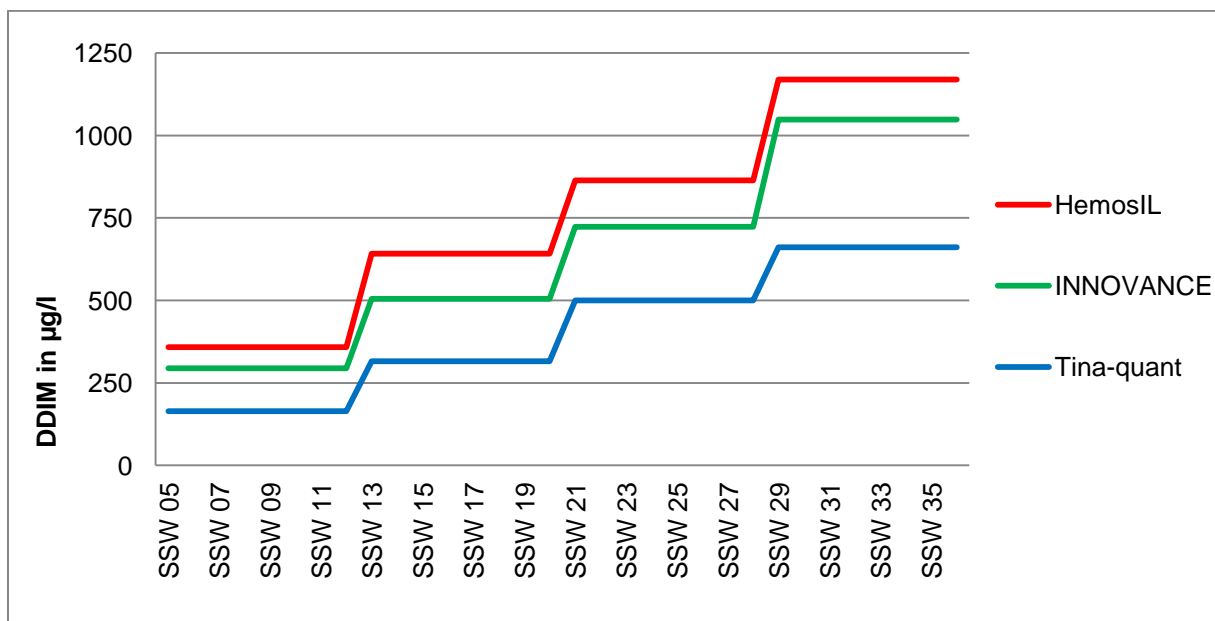
**Tabelle 20: 2,5. Perzentilen, Mediane und 97,5. Perzentilen der SSW-Intervalle - alle drei Testsysteme im Vergleich**

SSW	Tina-quant	INNO-VANCE	Hemos-IL	Tina-quant	INNO-VANCE	Hemos-IL	Tina-quant	INNO-VANCE	Hemos-IL
	2,5. Perzentile			Median			97,5. Perzentile		
5 - 12	51	141	91	164	294	358	785	1188	1421
13 - 20	109	216	277	316	505	642	899	1211	1379
21 - 28	245	383	4556	500	723	864	1333	1626	1941
29 - 36	282	490	611	661	1048	1170	2040	2973	3419

29 - 32	290	467	519	582	942	1068	1774	2631	3170
33 - 36	278	507	645	720	1109	1273	2244	3187	3604

### 3.2.11.2 Mediane der Intervalle

Abbildung 31 stellt den Verlauf der Mediane der in Punkt 3. 2. 11. 1. erwähnten vier Intervalle dar.



**Abbildung 31: Mediane der DDIM-Konzentrationen der Intervalle 1 bis 4 im Verlauf der Schwangerschaft**

Bei erneuter Teilung des letzten Intervalls in die Gruppen A (SSW 29 bis 32) und B (SSW 33 bis 26) ergibt sich folgende Darstellung:

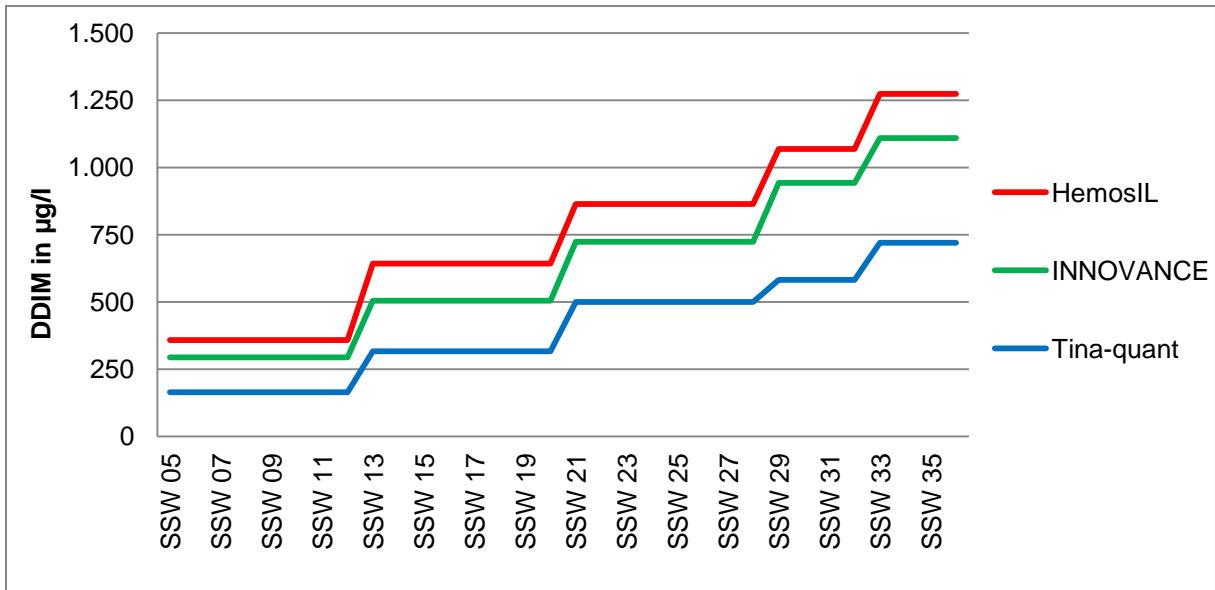


Abbildung 32: Mediane der DDIM-Konzentrationen der Intervalle 1 bis 4 im Verlauf der Schwangerschaft – Unterteilung des 4. Intervalls

### 3.2.11.3 Die 2,5. und 97,5. Perzentilen der Intervalle

Abbildung 33 zeigt den Verlauf der 2,5. und 97,5. Perzentilen der vier SSW-Intervalle. Diese stellen im Weiteren die ermittelten Referenzbereiche dar.

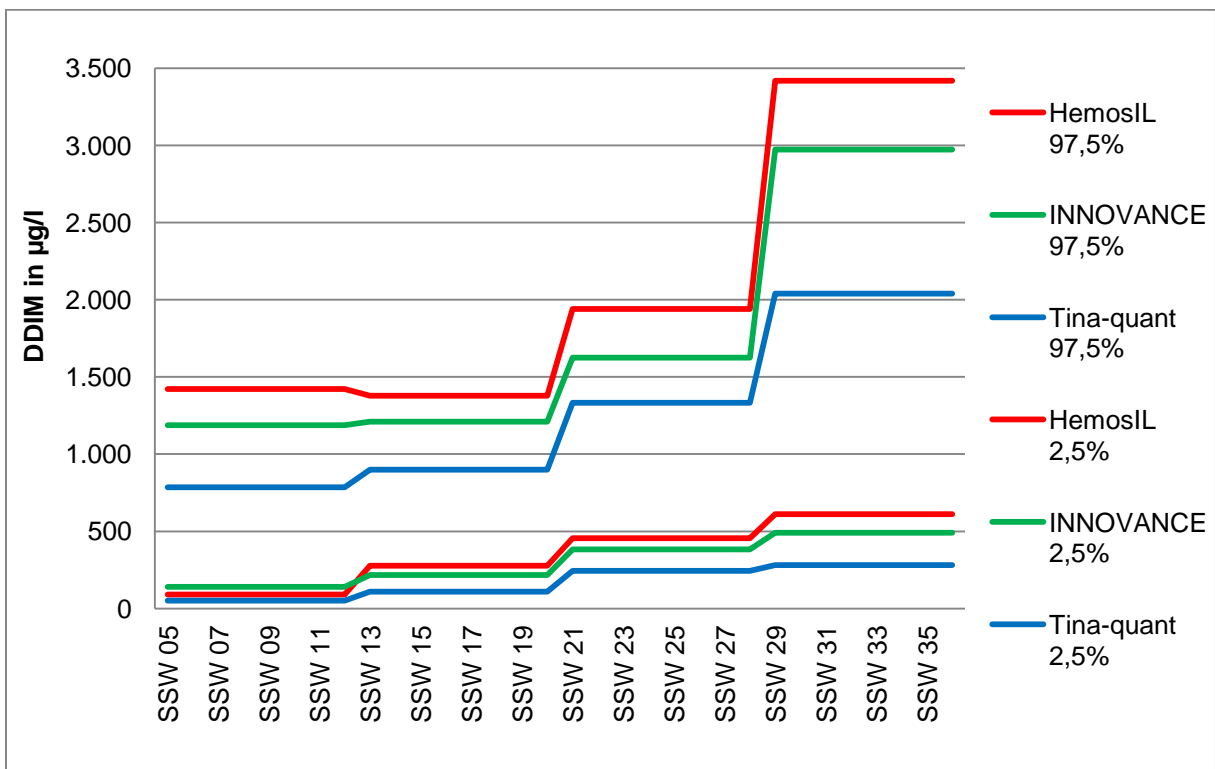


Abbildung 33: 2,5. und 97,5. Perzentilen der DDIM-Konzentrationen der Intervalle 1 bis 4 im Verlauf der Schwangerschaft

Nach Unterteilung des vierten Intervalls in die Gruppen A und B zeigen sich folgende Verhältnisse der 2,5. und 97,5. Perzentilen der drei Methoden (Abbildung 34).

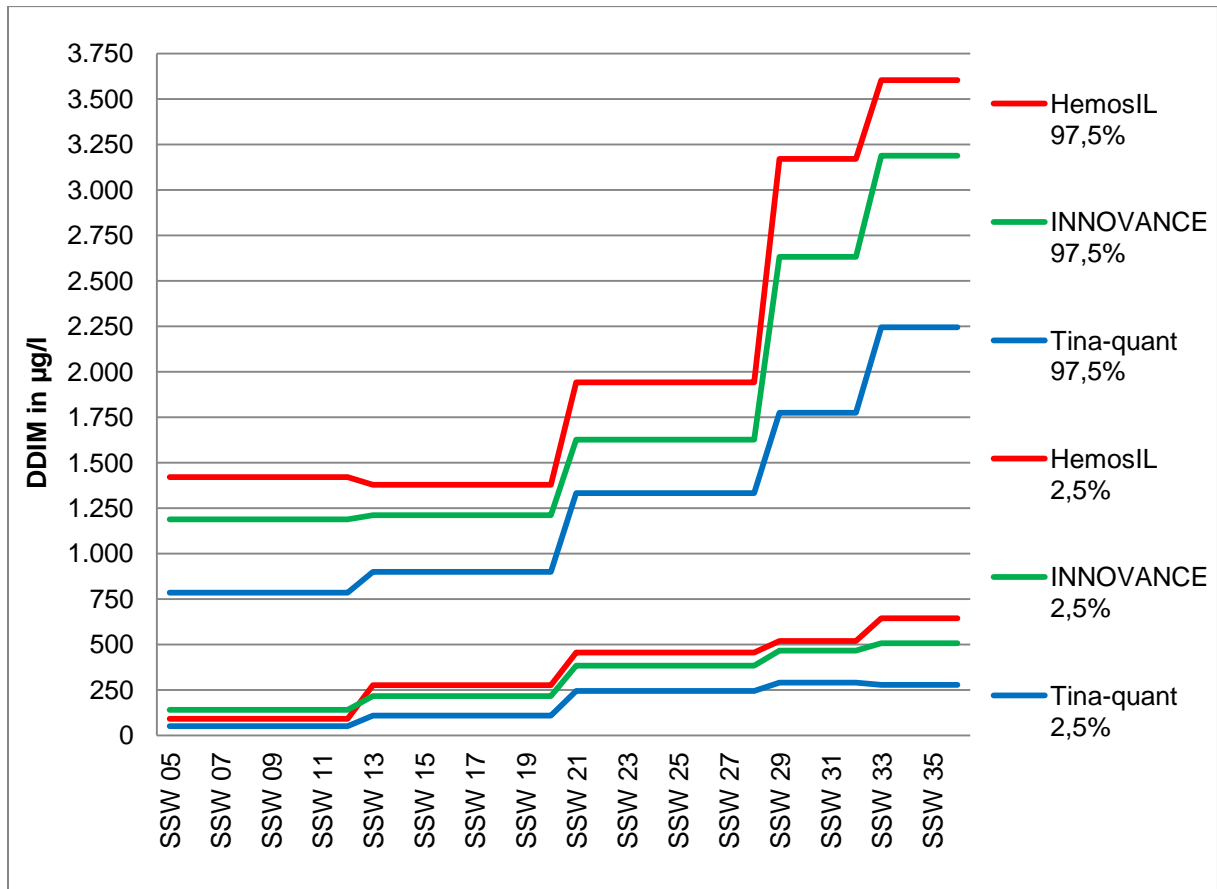


Abbildung 34: 2,5. und 97,5. Perzentilen der DDIM-Konzentrationen der Intervalle 1 bis 4 im Verlauf der Schwangerschaft - Unterteilung des 4. Intervalls

### 3.2.11.4 Probenanzahl über dem cut-off von 500 µg/l je Testsystem

Tabelle 21: Anzahl der Proben der Gesamtprobenanzahl mit einer DDIM-Konzentration über dem cut-off von 500 µg/l (inklusive Anteil an der Gesamtprobenanzahl in %)

	Tina-quant	INNOVANCE	HemosIL
Anzahl der Proben > 500 µg/l	350 von 1022	634 von 1022	743 von 1022
Anzahl der Proben > 500 µg/l (in %)	34 %	62 %	73 %

Ab SSW 15 hatten beim HemosIL über 50% der Schwangeren DDIM-Werte über dem cut-off von 500 µg/l. Beim INNOVANCE war dies ab SSW 17 der Fall. Beim Tina-quant lagen erst ab der 24. SSW 50% der Werte über 500 µg/l (siehe Tabelle 22).

**Tabelle 22: Anzahl der Proben je SSW mit einer DDIM-Konzentration über dem cut-off von 500 µg/l (inklusive Anteil an der Gesamtprobenanzahl in %)**

In roter Schrift wurde markiert, ab welchem Zeitpunkt der Schwangerschaft bei über 50 % der Patientinnen DDIM-Konzentrationen von über 500 µg/l gemessen wurden.

SSW	Anzahl	Tina-quant		INNOVANCE		HemosIL	
		Anzahl der Proben mit DDIM > 500 µg/l	in %	Anzahl der Proben mit DDIM > 500 µg/l	in %	Anzahl der Proben mit DDIM > 500 µg/l	in %
5	29	0	0	1	4	4	14
6	33	2	6	7	21	6	18
7	43	3	7	8	19	11	26
8	41	3	7	6	15	14	34
9	34	2	6	6	18	13	38
10	30	1	3	6	20	9	30
11	38	2	5	6	16	12	32
12	25	2	8	5	20	8	32
13	32	2	6	6	19	12	38
14	26	3	12	7	27	11	42
15	15	4	27	6	40	9	60
16	40	7	18	16	40	25	63
17	28	5	18	17	61	21	75
18	37	8	22	26	70	33	89
19	26	8	31	19	73	23	89
20	37	16	43	26	70	33	89
21	26	8	31	21	81	26	100
22	27	9	33	24	89	26	96
23	11	4	36	7	64	11	100
24	58	32	62	51	88	57	98
25	40	21	53	34	85	38	95
26	37	22	60	32	87	37	100
27	33	20	61	32	97	32	97
28	23	12	52	21	91	22	96
29	26	15	58	23	89	23	89
30	36	20	56	35	97	36	100
31	20	15	75	20	100	20	100
32	44	31	71	43	98	44	100
33	35	25	71	32	91	35	100
34	29	24	96	29	100	29	100
35	32	24	75	31	97	32	100
36	31	29	94	31	100	31	100

### 3.4 Methodenvergleich

#### 3.4.1 Lineare Regression

##### 3.4.1.1 Lineare Regression von Tina-quant in Relation zu INNOVANCE

Rangkorrelationskoeffizient nach Kendels Tau:  $T = 0,834$

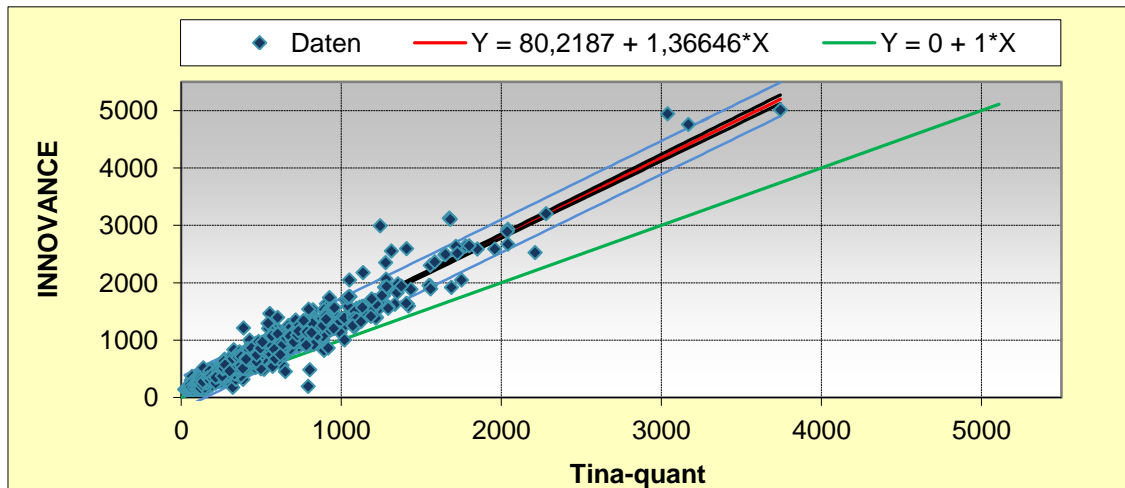


Abbildung 35: Lineare Regression: Ergebnisse von Tina-quant in Relation zu den Ergebnissen von INNOVANCE

- Regressionsgerade
- 95 % - Vertrauensbereich der Daten
- 95 % - Vertrauensbereich der Regressionsgeraden
- „line of equality“ ( $x = y$ )

##### 3.4.1.2 Lineare Regression von Tina-quant in Relation zu HemosIL

Rangkorrelationskoeffizient nach Kendels Tau:  $T = 0,838$

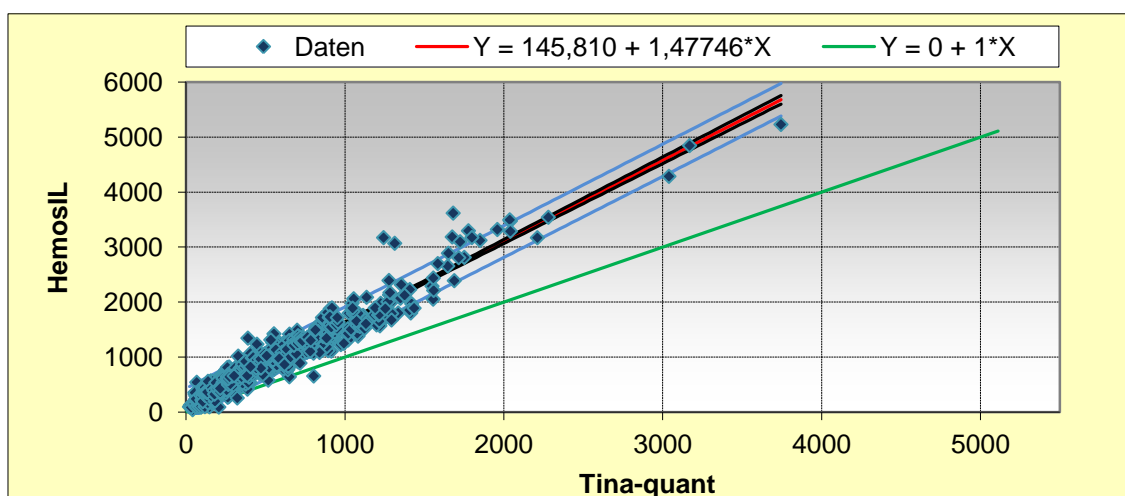


Abbildung 36: Lineare Regression: Ergebnisse von Tina-quant in Relation zu den Ergebnissen von HemosIL

- Regressionsgerade
- 95 % - Vertrauensbereich der Daten
- 95 % - Vertrauensbereich der Regressionsgeraden
- „line of equality“ (x = y)

### 3.4.1.3 Lineare Regression von INNOVANCE in Relation zu HemosIL

Rangkorrelationskoeffizient nach Kendels Tau:  $T = 0,875$

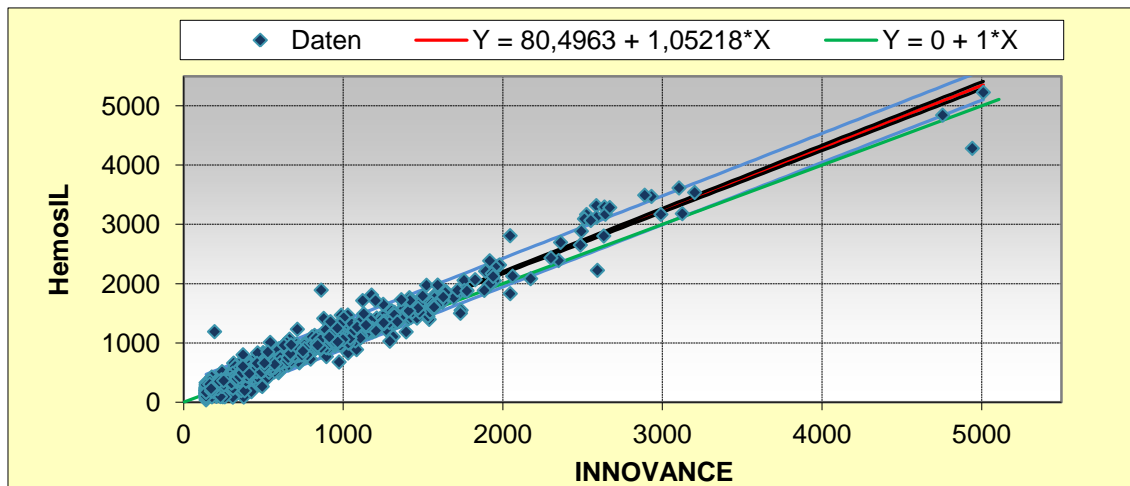


Abbildung 37: Lineare Regression: Ergebnisse von INNOVANCE in Relation zu den Ergebnissen von HemosIL

- Regressionsgerade
- 95 % - Vertrauensbereich der Daten
- 95 % - Vertrauensbereich der Regressionsgeraden
- „line of equality“ (x = y)

### 3.4.2 Methodenvergleich: Bland-Altman-Diagramme

Zur Gegenüberstellung der Messwerte wurden alle Ergebnisse zur Basis 10 logarithmiert, um eine gleichförmigere Variabilität zu erreichen und somit einer zu großen Streuung der Daten entgegenzuwirken.

Dargestellt ist für jeden Messwert jeweils der Mittelwert aus beiden Methoden (x-Achse) im Bezug zur Differenz beider Methoden (y-Achse). Die rote Gerade stellt die mittlere Differenz zwischen den Methoden dar. Die violetten Geraden sind die „Übereinstimmungsgrenzen“ der Testsysteme. Sie markieren den Bereich zwischen der mittleren Differenz der Methoden plus bzw. minus der 1,96fachen Standardabweichung der Differenzen. Sie geben somit das 95%-Konfidenzintervall der Daten wieder.

### 3.4.2.1 Vergleich INNOVANCE und Tina-quant

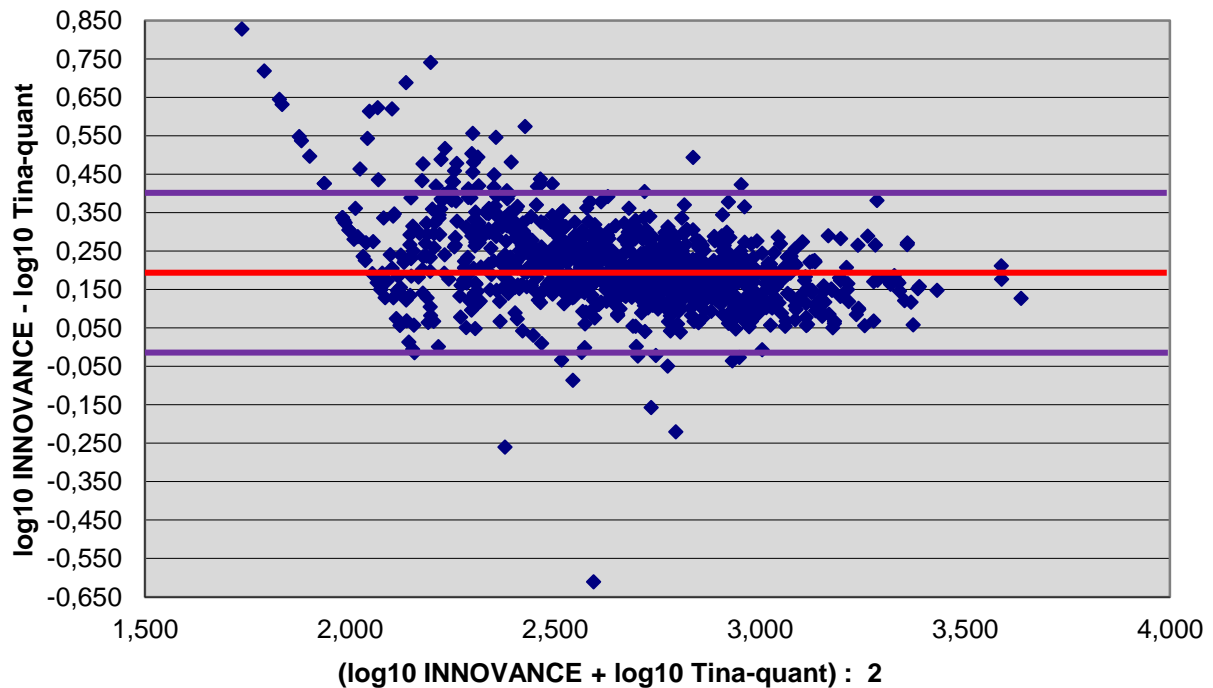


Abbildung 38: Bland-Altman-Diagramm des Methodenvergleichs von Tina-quant und INNOVANCE (rote Gerade: mittlere Differenz der Methoden; violette Geraden: mittlere Differenz der Methoden  $\pm$  1,96fache Standardabweichung der Differenzen)

### 3.4.2.2 Vergleich HemosIL und Tina-quant

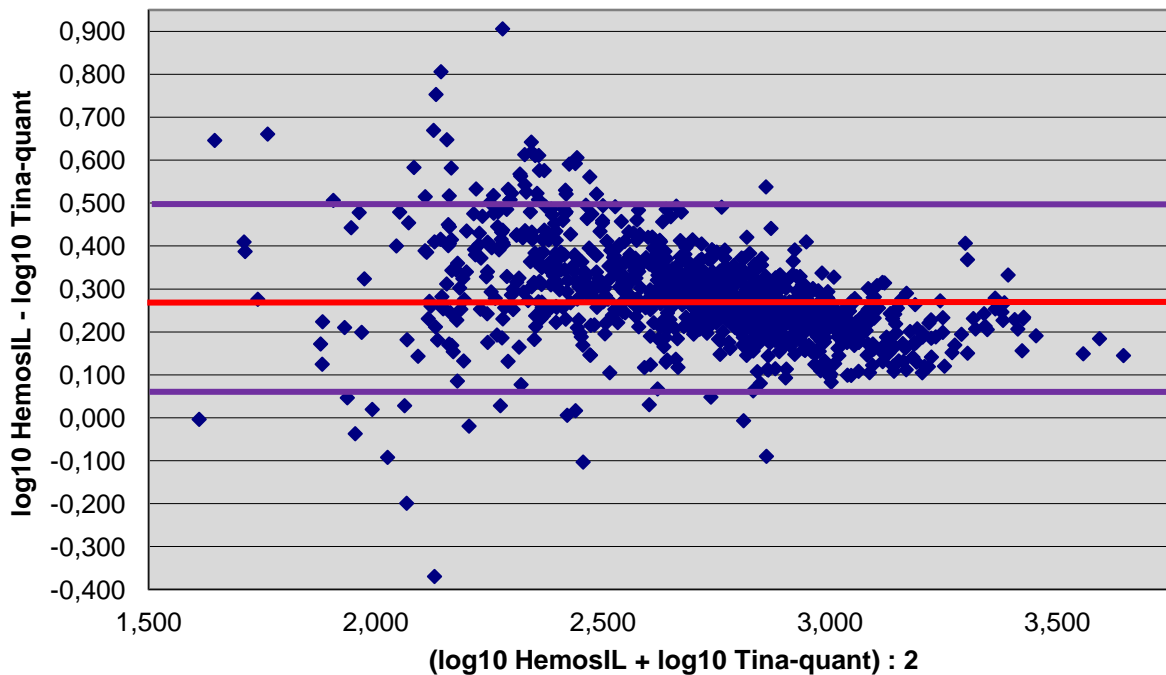


Abbildung 39: Bland-Altman-Diagramm des Methodenvergleichs von HemosIL und Tina-quant (rote Gerade: mittlere Differenz der Methoden; violette Geraden: mittlere Differenz der Methoden  $\pm$  1,96fache Standardabweichung der Differenzen)

### 3.4.2.3 Vergleich HemosIL und INNOVANCE

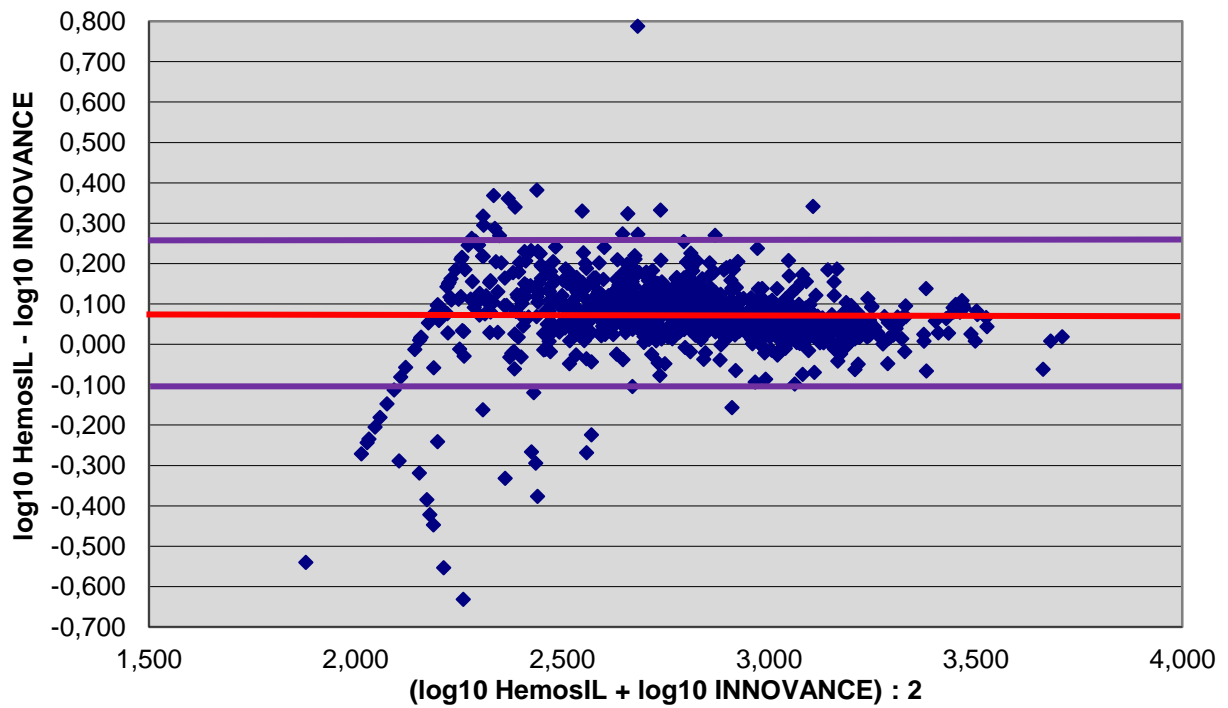


Abbildung 40: Bland-Altman-Diagramm des Methodenvergleichs von INNOVANCE und HemosIL (rote Gerade: mittlere Differenz der Methoden; violette Geraden: mittlere Differenz der Methoden  $\pm 1,96$ fache Standardabweichung der Differenzen)



## 4. Diskussion

### 4.1 Probenmaterial

#### 4.1.1 Stabilität der D-Dimere bei Raumtemperatur

##### 4.1.1.1 Hintergrund

Die aktuell verwendeten Proben erreichten unser Labor fünf bis sieben Stunden nach der Blutentnahme, wurden unmittelbar danach zentrifugiert und standen anschließend weitere 13 bis 15 Stunden bei RT über den sedimentierten Zellbestandteilen. Ist dieses Material - nach 18 bis maximal 22 Stunden nach Blutentnahme - für die Bestimmung der DDIM geeignet?

##### 4.1.1.2 Stand der Wissenschaft

Insbesondere bei Studien, die sich mit Gerinnungsparametern beschäftigen, ist die Präanalytik aufgrund von geringen Halbwertszeiten vieler Parameter ein entscheidender Faktor.

Für die DDIM wurde bei RT (15- 25°C) eine Stabilität von acht Stunden festgestellt (Guder et al. 1996). Guder et al. zentrifugierten die Proben zur DDIM-Bestimmung unmittelbar nach Probeneingang, was somit ca. fünf bis sieben Stunden nach der Blutentnahme stattfand. Das Plasma verblieb über den sedimentierten Zellbestandteilen und wurde nach weiteren 13 bis 14 Stunden abgetrennt und tiefgefroren. Somit gleichen die Voraussetzungen denen der aktuellen Studie.

Die Stabilität einzelner Gerinnungsparameter war bis 2008 zunächst nur in wenigen Studien erörtert worden. Caliezi et al. wiesen eine Stabilität der DDIM im Vollblut bei RT von mindestens 24 Stunden nach. Diese ist unabhängig vom Probentransport (Caliezi et al. 2000). Ohne Einfluss bleibt ebenfalls, ob die Probe sofort oder erst nach 24 Stunden zentrifugiert wird (Caliezi et al. 2000). Auch Tsakiris stellte 2008 fest: „Eine sofortige Bestimmung ist nicht notwendig, da die D-Dimere in vitro im Röhrchen artifiziell nicht so schnell entstehen können.“ (Tsakiris 2008).

Zürcher et al. führten 2008 eine Untersuchung bezüglich der Stabilität von Gerinnungsparametern durch. Dabei bestimmten sie u.a. die Konzentrationen der DDIM in Blutproben, die bis kurz vor der Messung noch un zentrifugiert waren und bis zu zwei Tage bei RT gelagert wurden. Festgestellt wurde, dass die DDIM-Konzentrationen auch noch nach 24 Stunden gemessen werden können, ohne dass für die

klinische Entscheidung relevante Veränderungen beobachtet wurden (Zürcher et al. 2008). Als relevanter Unterschied wurde in diesem Fall eine Änderung von mehr als 10% betrachtet. Nachdem die Proben 48 bis 52 Stunden bei RT gelagert wurden, fiel eine durchschnittliche Erhöhung der DDIM von 9,4% auf (Zürcher et al. 2008) (siehe Tabelle 23).

**Tabelle 23: Stabilität der DDIM bei Raumtemperatur, aus: Zürcher M, Sulzer I, Barizzi G, Lämmle B, Alberio L: Stability of coagulation assays performed in plasma from citrated whole blood transported at ambient temperature. Thromb Haemost. 2008 Feb;99 (2):421.**

Time (h)	Thrombin-antithrombin complex (n = 59)				D-dimer (n = 59)			
	Quantity (µg/l)		Change vs. <1h (%)		Quantity (µg/l)		Change vs. <1h (%)	
	Median	(IQR)	Mean	(99%-CI)	Median	(IQR)	Mean	(99%-CI)
<1	2.0	1.3 – 2.6			279	174 – 411		
4-6	2.0	1.6 – 2.6	13.5	-16 – 43	266	194 – 400	1.9	-3.5 – 7.3
8-12	1.9	1.6 – 2.4	0.5	-12 – 14	274	188 – 430	3.6	-1.6 – 8.8
24-28	2.2	1.8 – 2.6	15.5	-13 – 44	270	188 – 401	5.6	0.1 – 11
48-52	2.2	1.7 – 2.7	7.2	-8.5 – 23	307 †	207 – 433	9.4	3.5 – 15
<b>P-value</b>								
<b>Kruskal-Wallis</b>	0.582				0.953			
<b>Friedman</b>	0.066				<0.001			

\* denotes a statistically significant difference (p<0.05) compared to the control group (time <1hour) following Kruskal-Wallis One Way ANOVA on ranks. † denotes a statistically significant difference (p<0.05) compared to the control group (time <1hour) following Friedman Repeated Measures ANOVA on ranks.

„Unsere Daten zeigen, dass D-Dimer-Messungen gefahrlos aus Vollblut-Proben, die bis zu 48-52 Stunden transportiert wurden, durchgeführt werden können.“ (Zürcher et al. 2008).

Nebenbei wurde – hinsichtlich der Temperatur beim Probentransport - auch kein signifikanter Unterschied zwischen den Ergebnissen der Messungen im Winter und im Sommer festgestellt (Zürcher et al. 2008).

Zürchers Ergebnisse stehen im Einklang mit denen Caliezi et al. 2000. Allerdings wurde in beiden Studien die DDIM-Konzentration aus Citratplasma gemessen. Auch Szecsi et al. bestätigten die Stabilität der DDIM in Citratplasma von 24 Stunden (Szecsi et al. 2010).

In einer Untersuchung von Schutgens et al. wurde die Bestimmung der DDIM sowohl aus Citrat- als auch aus heparinisiertem Plasma vorgenommen (Schutgens et al. 2002). Dabei wurden Proben nach Zentrifugation über dem „Blutkuchen“ stehen gelassen, andere wurden über längere Zeit geschüttelt, und wiederum andere wur-

den 16 bis 24 Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen. Man fand heraus, dass diese Maßnahmen keinen Einfluss auf die Stabilität der DDIM im Blutplasma hatten – weder in Citrat- noch in Heparinmonovetten (siehe Tabelle 24).

**Tabelle 24: Stabilität der DDIM während eines simulierten Transports, modifiziert nach: Schutgens REG, Haas FJLM, Ruven HJT, Spannagl M, Horn K, Biesma DH: No influence of heparin plasma and other (pre)analytic variables on D-dimer determinations. Clin Chem 2002; 48, No.9, 1612.**

<b>Table 1. Sample stability during simulated transport.<sup>a</sup></b>		
<b>Material and condition</b>	<b>D-Dimer, mean <math>\pm</math> SD, mg/L FEU<sup>b</sup></b>	<b>P</b>
Citrate plasma <sup>c</sup>	0.207 $\pm$ 0.081	
Lithium-heparin plasma <sup>c</sup>	0.253 $\pm$ 0.045	0.485
Lithium-heparin plasma placed on a roller <sup>d</sup>	0.217 $\pm$ 0.081	0.225
Lithium-heparin plasma from whole blood placed on a roller <sup>e</sup>	0.223 $\pm$ 0.076	0.130

<sup>a</sup> Transport was simulated by placing the sample on an oscillating roller. Results are the mean of three donors. Values in lithium-heparin plasma are expressed as citrate values. P values are for differences compared with citrate plasma.

<sup>b</sup> FEU, fibrin equivalent unit(s).

<sup>c</sup> Centrifuged immediately and left standing at room temperature.

<sup>d</sup> Centrifuged immediately and placed on an oscillating roller.

<sup>e</sup> Immediately placed on a roller (anticoagulated whole blood) and centrifuged afterward.

„Es gab keinen Unterschied zwischen den Proben“ (Schutgens et al. 2002) – unabhängig davon ob es sich um Citratplasma oder Heparinplasma handelte. Diesen Ergebnissen zufolge wäre das in dieser Studie verwendete Material zur Bestimmung der DDIM geeignet.

#### 4.1.1.3 Nebenstudie 1

Zu Eruiierung der aktuellen Verhältnisse wurde in unserem Labor ein Stabilitäts-Test bei Raumtemperatur (18 bis 22 °C) per INNOVANCE am BCS durchgeführt. Bei den 20 verwendeten Proben handelte es sich um 10 Probenpaare aus der täglichen Laborroutine - jeweils bestehend aus einer Citrat- und einer Heparinmonovette desselben Patienten. Die Proben wurden unmittelbar nach Probeneingang bei 3000 g für 10 Minuten zentrifugiert - so dass auch hier von einer Zentrifugation von fünf bis sieben Stunden nach Entnahme ausgegangen wird. Nach Zentrifugation wurden die DDIM am BCS per INNOVANCE gemessen. Der Rest des Plasmas wurde am nächsten Tag zur Bestimmung der DDIM am selben Gerät mit demselben Testsystem und derselben Kalibration eingesetzt.

#### 4.1.1.4 Ergebnisse

Die erneute Messung nach 24 Stunden ergab im Citratplasma eine Differenz der DDIM-Konzentrationen von minus 6,3% bis plus 7,7%; im heparinisierten Plasma konnten Werte, die 8,1% niedriger bzw. 7,8% höher lagen, festgestellt werden (siehe

Tabelle 13). Insgesamt war somit keine wesentliche Änderung zur ersten Messung auffällig - weder im Citrat- noch im Heparinplasma. Alle Differenzen lagen unter 10%.

Den aktuellen Messergebnissen nach, die im Einklang mit denen Zürcher et al. und Schutgens et al. stehen, kann das aktuell verwendete Material zur Bestimmung der DDIM-Konzentration verwendet werden.

#### **4.1.2 Stabilität der D-Dimer nach dreimonatigem Einfrieren**

##### **4.1.2.1 Hintergrund**

Die Proben dieser Untersuchung waren vor der Messung 11 Wochen lang bei - 22°C bis - 18°C tiefgefroren. Danach wurden die Plasmaaliquots für 10 Minuten bei 37°C im Warmwasserbecken aufgetaut und durch Schwenken auf dem Vortex-Reagenzglas-Mischer homogenisiert. Ist dieses Material für die anschließende Bestimmung der DDIM geeignet?

##### **4.1.2.2 Stand der Wissenschaft**

Zürcher et al. fanden heraus, dass das Einfrieren und Auftauen der Proben die Konzentration der DDIM nicht beeinflusst (Zürcher et al. 2008). Allerdings wurde dabei nur Citratplasma verwendet. Schutgens et al., die die Konzentration der DDIM auch aus Heparinmonovetten bestimmten, stellten selbst bei Proben, die auf Temperaturen von bis zu - 70°C tiefgefroren wurden, fest: „Es gab keinen Effekt des Einfrierens“ - weder bei Citrat- noch bei Heparinmonovetten (Schutgens et al. 2002).

##### **4.1.2.3 Nebenstudie 2**

Die gegenwärtigen Umstände überprüfend, führten wir eine eigene Messreihe durch. Zunächst wurden die DDIM aus heparinisiertem Plasma von 45 schwangeren Patientinnen unterschiedlicher SSW bestimmt. Die Messung fand am BCS per INNOVANCE statt. Anschließend wurden die Proben für die folgenden drei Monate bei -22°C bis -18°C tiefgefroren. Die Kühlschranktemperatur wurde täglich überwacht. Nach zehnmütigem Auftauen bei 37°C im Warmwasserbecken und Homogenisieren auf dem Vortex-Reagenzglas-Mischer wurde erneut mit Hilfe des INNOVANCE die Konzentration der DDIM bestimmt (siehe Tabelle 14).

##### **4.1.2.4 Ergebnisse**

Es wurde keine klinisch relevante Differenz bezüglich der DDIM-Konzentration vor oder nach Einfrieren der Proben festgestellt (siehe Abbildung 13). Diesem Resultat nach ist das Material für die Bestimmung der DDIM-Konzentration geeignet.

### 4.1.3 Materialvergleich: Citratplasma und Heparinplasma

#### 4.1.3.1 Hintergrund

In der hier vorliegenden Arbeit wurde die Bestimmung der Blutplasma-Konzentration der DDIM aus Lithium-Heparinat-Monovetten durchgeführt, die im Rahmen der Mutterschaftsvorsorgeuntersuchungen von den behandelnden Gynäkologen in unser Labor eingesandt wurden. Zur Ermittlung von DDIM werden jedoch üblicherweise Citratmonovetten eingesetzt. Diese werden allerdings nur dann an unser Labor gesandt, wenn der Status des Blutgerinnungssystems bei V. a. eine angeborene Thrombophilie eingeschätzt werden soll oder die Patientin Symptome zeigt, die auf ein thromboembolisches Geschehen hindeuten. Desweiteren ist es möglich, dass die Patientin aufgrund einer nachgewiesenen Thromboseneigung oder einer bereits stattgehabten TVT oder LE bereits eine antikoagulatorische Therapie erhält und diese Behandlung überwacht werden soll. In allen diesen genannten Fällen würde die betreffende Schwangere von der aktuellen Studie, die auf Referenzwerte für gesunde Patientinnen mit unkomplizierter Schwangerschaft abzielt, ausgeschlossen.

Für die drei in der vorliegenden Arbeit verwendeten Testsysteme ist allein von der Firma Roche für Tina-quant heparinisiertes Blutplasma als Material zugelassen. Der Hersteller bietet hierfür eine angepasste Kalibration, die für die aktuelle DDIM-Messung eingesetzt wurde. Laut Angaben von Roche würden aufgrund fehlender Verdünnung des Blutplasmas im Blutentnahmeröhrchen in der Heparinmonovette erfahrungsgemäß ca. 19% höhere DDIM-Konzentrationen als im Citratplasma gemessen.

„Li-Heparin (...) können ebenso verwendet werden. Da im Gegensatz zu Citratröhrchen die Proben bei Verwendung von Heparin (...) nicht verdünnt werden, sind die D-Dimer-Werte in Heparin (...) -Plasma über den gesamten Messbereich um durchschnittlich 19% erhöht.“ (Fachinformation von Roche: Tina-quant D-Dimer Gen. 2 (D-DI2), 2010-01: 1-2).

Entsprechende Hinweise zur Verwendung von heparinisiertem Blut lagen SIEMENS und IL noch nicht vor.

Ist auch Heparinplasma für die Bestimmung der DDIM geeignet?

#### 4.1.3.2 Stand der Wissenschaft

Vukovich et al. bestimmten 1998 die DDIM-Konzentration sowohl in Heparin- als auch in Citratmonovetten. 100 Probenpaare wurden mit Hilfe des auch in dieser Studie verwendeten Tests Tina-quant gemessen. Es wurde eine hohe Korrelation zwischen den gemessenen DDIM-Konzentrationen beider Materialien festgestellt (siehe Abbildung 41).

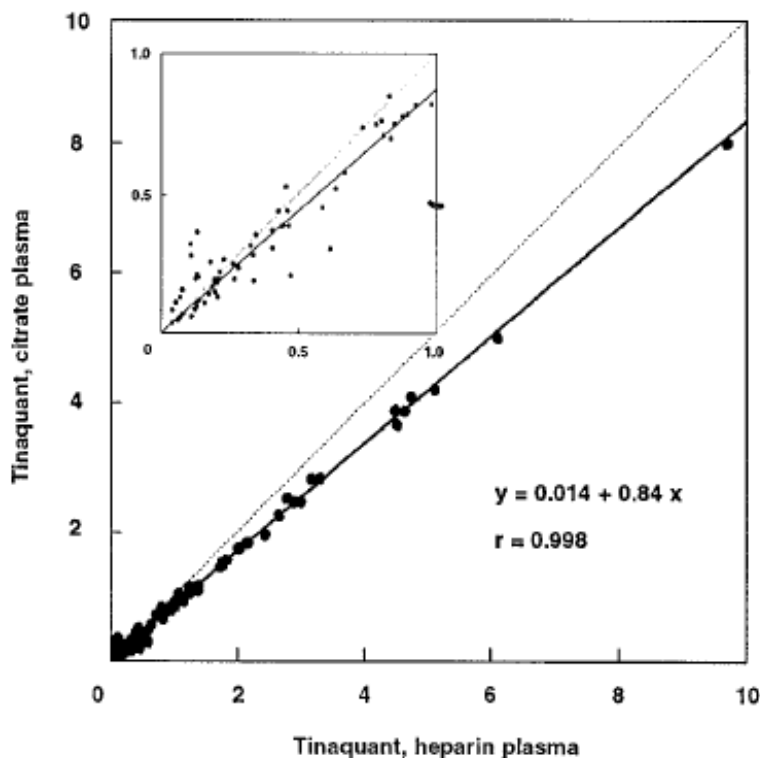
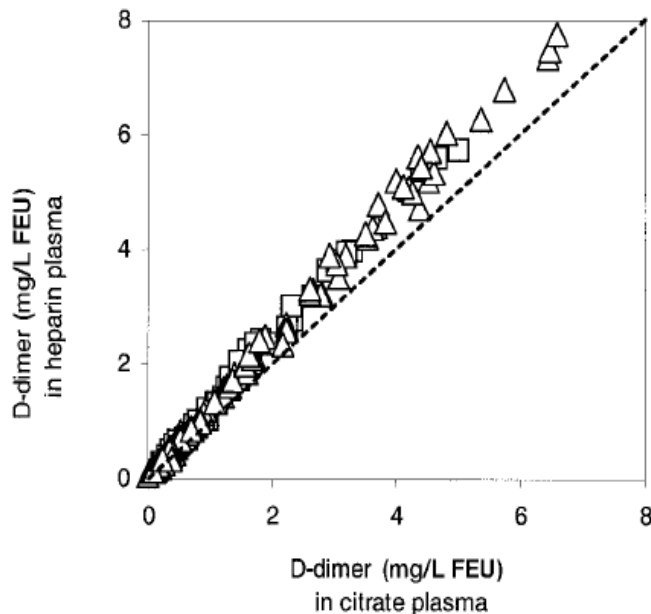


Abbildung 41: Gegenüberstellung der gemessenen DDIM-Konzentrationen aus Heparinplasma (x-Achse) und Citratplasma (y-Achse), modifiziert nach: Vukovich TC, Hamwi A, Bieglmayer C: D-Dimer Testing within the Routine Clinical Chemistry Profile. Clin Chem 1998; 44, No.7, 1558.

Die Schlussfolgerung lautete: Citrat- und heparinisieretes Plasma sind gleichwertige Proben für die DDIM-Bestimmung mit Tina-quant. Vukovich et al. empfahlen einen Umrechnungsfaktor für Heparin von 0,84.

„Da die Zugabe von Citratlösung zum Blut das Plasma verdünnt, sind die D-Dimer-Konzentrationen im Citratplasma niedriger als in heparinisieretem Plasma (die gefundene Median-Differenz war 16%, entsprechend einer angenommenen Plasmafraktion von 58%, oder einem 42%-Hämatokrit).“ (Vukovich et al. 1998).

Auch Schutgens et al. stellten fest, dass die mangelnde Verdünnung in der Heparinmonovette zu höheren Ergebnissen bei der DDIM-Bestimmung führt (Schutgens et al. 2002). Sie ermittelten bei 190 Patienten die DDIM ebenfalls mit Hilfe des Tinaquant. Auch hier zeigte sich eine hohe Korrelation zwischen Citrat- und Heparinplasma (siehe Abbildung 42; Regressionsgerade:  $y = 1,196x + 0,046$ ).

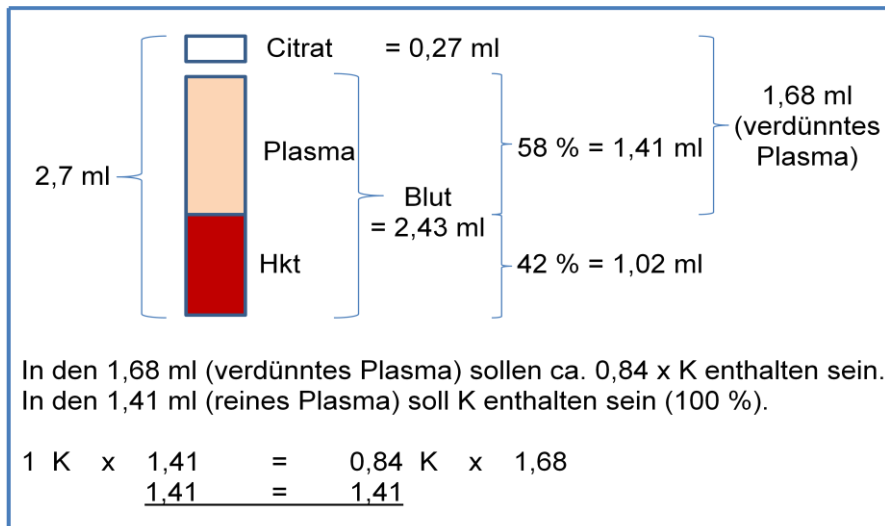


**Abbildung 42: Gegenüberstellung der gemessenen DDIM-Konzentrationen aus Citratplasma (x-Achse) und Heparinplasma (y-Achse), modifiziert nach: Schutgens REG, Haas FJLM, Ruven HJT, Spannagl M, Horn K, Biesma DH: No influence of heparin plasma and other (pre)analytic variables on D-dimer determinations. Clin Chem 2002; 48, No. 9, 1612.**

Angeboten wurde ebenfalls der Umrechnungsfaktor 0,84: „(...) dafür haben wir die Ergebnisse für die Heparinproben mit dem Faktor 0,84 (...) multipliziert (...)“ (Schutgens et al. 2002). Dies steht im Einklang mit dem Ergebnis von Vukovich et al. (Vukovich et al. 1998). Auch hier basierend auf der Annahme, dass der Anteil des Hämatokrits in den verwendeten Proben 42% beträgt.

„(...) entsprechend dem, was man theoretisch erwarten würde, wenn 1 Teil Citratlösung mit 9 Teilen Blut mit einem Hämatokrit von 42% zusammen nimmt.“ (Schutgens et al. 2002, Originalquelle: van Beaumont 1972).

Durch den Zusatz von Natrium-Citrat zum Probengefäß entsteht in Citratmonovetten ein Mischungsverhältnis von 1:10. Der mathematische Hintergrund stellt sich wie folgt dar (siehe Abbildung 43):



**Abbildung 43: Darstellung der Verteilungsverhältnisse in einer Citratmonovette mit dem Verdünnungsfaktor 1:10 (Hkt = Hämatokrit; K = Konzentration der DDIM in der Probe)**

#### 4.1.3.3 Nebenstudie 3

Aufgrund der geringeren Verdünnung in der Heparinmonovette per INNOVANCE und HemosIL sind folglich ca. 16% höhere DDIM-Werte zu erwarten. Zur Bestätigung dieser Vermutung führten wir im Juni 2011 eine Zusatzstudie durch.

Hierbei wurden die DDIM aus 11 Proben, bei denen bereits per Tina-quant hohe Konzentrationen auffällig waren, zusätzlich mit Hilfe der beiden anderen turbidimetrischen Testmethoden bestimmt - jeweils aus einer Citrat- und einer Heparinmonovette desselben Patienten der täglichen Laborroutine. Es handelte sich also nicht zwangsläufig um schwangere Patientinnen.

Die DDIM wurden im Original und in weiteren 3 Verdünnungsstufen von 1:2, 1:4 und 1:6 vorgenommen. Nur komplette Verdünnungsreihen wurden in das Endergebnis einbezogen; war nicht genug Plasma vorhanden, so wurde die betreffende Probe aus der Berechnung ausgeschlossen.

Die Proben konnten nicht für den ganzen Versuch am Modular per Tina-quant parallel gemessen werden, da innerhalb des Zeitraums im Rahmen des Laborwachstums dieses Gerät durch eine anderes ersetzt wurde.

#### 4.1.3.4 Ergebnisse

Insgesamt wurden im heparinisierten Plasma ca. 17% höhere DDIM-Werte gemessen (siehe Tabelle 15). Aufgrund dessen folgte die Anpassung der Messwerte für INNOVANCE und HemosIL für die DDIM-Bestimmung aus heparinisiertem Plasma.



Bei diesen beiden Tests wurden von allen ermittelten Ergebnissen 17% abgezogen und auf einen Wert ohne Dezimalstellen gerundet, so dass nun alle Ergebnisse für einunddasselbe Material (Heparinplasma) normiert sind.

Am Modular wurde mit dem Test Tina-quant bereits mit der Kalibration für hepariniertes Plasma gearbeitet. Für die Methoden am BCS und am ACL Top sind noch keine Kalibrationen für dieses Material erhältlich. Den aktuellen Messungen zufolge kann dabei mit einem Multiplikationsfaktor von 0,83 gearbeitet werden.

Die Ergebnisse legen nahe, auch Heparinplasma als Material für die Bestimmung von DDIM zuzulassen, da keine matrixspezifischen Effekte auffällig waren, sondern das höhere DDIM-Ergebnis allein durch die mangelnde Verdünnung zu erklären ist.

Wäre Heparinplasma - als Material, aus dem eine Vielzahl weiterer Laborparameter bestimmt werden können - auch zur DDIM-Bestimmung zugelassen, bedeutete dies:

- a) dass die DDIM-Messung im Rahmen der Laborroutine erfolgen könnte und nicht speziell aus einer weiteren Monovette stattfinden müsse, was zu einer schnelleren Befundübermittlung führen kann,
- b) weniger Blutverlust für die Patienten, da kein zusätzliche Citratmonovette befüllt werden müsse und
- c) geringere Kosten durch eine geringere Anzahl an Probenröhrchen und geringeren Transport- und Platzaufwand.

## 4.2 Patientenkollektiv

### 4.2.1 Hintergrund

Die genaue Höhe der DDIM im Verlauf der Schwangerschaft wurde bislang nicht adäquat untersucht, u.a. weil die Interpretation vieler Studien durch inhomogene Kohorten mit unterschiedlichen Krankheitsbildern (Szecsi 2010) oder einer geringen Anzahl an Probandinnen begrenzt wird. Beispielsweise untersuchten Hansen et al. 55 schwangere Patientinnen (Hansen et al. 2011), Giavarina et al. 56 (Giavarina et al. 2001) und Francalani et al. 63 (Francalani et al. 1997).

Ist die aktuelle Patientenkohorte für die Etablierung von Referenzintervallen für DDIM in der Schwangerschaft geeignet?

### 4.2.2 Homogenität des Kollektivs

In der vorliegenden Arbeit wird davon ausgegangen, dass die schwangeren Patientinnen eine gesunde, homogene Gruppe ohne Zusatzkrankheiten darstellen, da die Proben von den Gynäkologen im Rahmen der Routineuntersuchungen zur Mutterschaftsvorsorge entnommen worden sind. Es handelt sich um Frauen im fortpflanzungsfähigen Alter, von denen jegliche Daten wie Name, ethnische Zugehörigkeit, Gewicht, Vorerkrankungen, Medikamenteneinnahme etc. unbekannt bleiben. Bekannt ist lediglich die jeweilige SSW. Aufgrund der Anonymisierung der Daten ist ebenfalls ungewiss, ob schon einmal eine Thrombose bestand bzw. ob eine Thrombophilie o.ä. bekannt ist. Damit individuelle Besonderheiten nicht übermäßig ins Gewicht fallen, wurde auf eine große Anzahl schwangerer Patientinnen zurückgegriffen.

### 4.2.3 Probenanzahl

Zur Berechnung von Referenzintervallen müssen laut den Empfehlungen der IFCC mindestens 120 Proben gemessen werden, wenn die Werte keiner Normalverteilung folgen (Horowitz 2008). In der hier vorliegenden Studie wurden die DDIM von 1022 Frauen bestimmt. Demnach ist die Probenanzahl ausreichend.

## 4.3 Ausschluss von Proben

### 4.3.1 Diagnostizierte Thrombosen

Im Rahmen der Tätigkeit unserer Laborärzte erfuhren wir im Verlauf der Studie durch Telefonate mit den einsenden Gynäkologen, dass sechs der schwangeren Patientinnen eine mittlerweile durch weitere Diagnoseverfahren (wie z.B. Dopplersonographie) gesicherte Unterschenkel- bzw. Oberschenkelthrombose erlitten hatten. Da Referenzbereiche für gesunde Schwangere etabliert werden sollen, schlossen wir diese sechs Patientinnen aus der Studie aus.

### 4.3.2 Unplausible Messwerte

Bei 47 Proben verschiedener SSW wurden an einem der 3 Analysegeräte Werte bestimmt, die in Relation zu denen der beiden anderen Tests deutlich vom zu erwartenden Wert abwichen (siehe Tabelle 17). Diese unplausiblen, sehr hohen aber auch sehr niedrigen Werte können auf Messungenauigkeiten beruhen.

## 4.4 Potentielle Fehlerquellen der Messmethoden

### 4.4.1 Interferierende Substanzen

Als Abweichung des Testergebnisses, die durch Interferenz bedingt sein kann, wird laut den Testherstellern eine Differenz von mehr als 10% angesehen (Fachinformation von Roche: Tina-quant D-Dimer Gen. 2 (D-DI2), 2010-01: 2; Fachinformation von SIEMENS: INNOVANCE D-Dimer, 2009-12: 18). Interferenzen bedeuten abweichende Resultate durch Störsubstanzen in der Patientenprobe, die in einer Fehlinterpretation der Ergebnisse resultieren können.

### 4.4.2 Humane Anti-Maus-Antikörper (HAMA)

Werden zu diagnostischen oder therapeutischen Zwecken Aufbereitungen von monoklonalen Maus-Antikörpern eingesetzt, so können die Patientenproben HAMA enthalten. Dadurch sind Interferenzen bei Immunoassays möglich, die monoklonale Maus-Antikörper zum Nachweis humaner Analyte verwenden. Innerhalb einer Untersuchung von Rouvière et al. 2008 fiel bei einer Patientin mit V. a. LE eine große Diskrepanz zwischen den DDIM-Ergebnissen verschiedener Tests auf. Bei einer Immunoturbidimetrie lag der gemessene Wert über dem cut-off z. A. einer LE, bei einer Sandwichmethode mit Fluoreszenz jedoch darunter. Bei dieser Patientin wurden HAMA nachgewiesen und für die Diskrepanz verantwortlich gezeichnet (Rouvière et al. 2008).

Laut Angaben von Roche sind beim Tina-quant keine Interferenzen mit HAMA bekannt (Fachinformation von Roche: Tina-quant D-Dimer Gen. 2 (D-DI2), 2010-01).

Beim INNOVANCE wurden zur Minimierung von Interferenzeffekten HBR zugesetzt. Es handelt sich dabei um spezielle Anti-Maus-Antikörper, als sogenannte "heterophilic blocking reagents" (Fachinformation von SIEMENS: INNOVANCE D-Dimer, 2009-12: 19). Durch diese werden Interferenzen, die z.B. durch HAMA ausgelöst werden, minimiert. Dennoch kann laut Testinformationen des Herstellers eine komplette Unterdrückung nicht garantiert werden.

Der Reaktionspuffer des HemosIL enthält Maus-Serum zur Minimierung von Interferenzen – ebenfalls als hemmende Substanz gegen HAMA.

Ob HAMA in den Patientenproben enthalten sind, ist in dieser Studie nicht eruiert worden, so dass stark abweichende Werte durch diese kreuzreagierenden Antikörper verursacht sein können. Auch wenn sie nur selten vorkommt, bleibt die Interferenz

zwischen heterophilen Antikörpern problematisch. Das Vorhandensein von HAMA sollte stets in Betracht gezogen werden, stehen die Labordaten und die klinischen Symptome nicht im Einklang.

#### 4.4.3 Rheumafaktoren

Bei Latexagglutinations-Methoden können falsch positiven Resultate durch Rheumafaktoren (Rutstein et al. 1978) hervorgerufen werden.

Tina-quant und HemosIL arbeiten mit F(ab')<sub>2</sub> Fragmenten der Antikörper (Fachinformation von Roche: Tina-quant D-Dimer Gen. 2 (D-DI2), 2010-01: 1; Fachinformation von IL: HemosIL D-Dimer HS 500, 2010-06: 1). Nach Angaben der Hersteller beziehen sich viele Kreuzreaktivitäten (v.a. bezüglich Autoimmunerkrankungen) auf das hochkonservative Fc-Fragment eines Immunglobulins. Die Verwendung von F(ab')<sub>2</sub> Fragmenten erlaube eine spezifischere Bestimmung von DDIM und minimiere somit Interferenzen mit endogenen Faktoren - wie z.B. RF (Fachinformation von Roche: Tina-quant D-Dimer Gen. 2 (D-DI2), 2010-01: 2 ; Fachinformation von IL: HemosIL D-Dimer HS 500, 2010-06: 1). RF binden als sogenannte Autoantikörper an diverse Fc-Abschnitte anderer IgG-Immunglobuline.

„Dadurch erklärt sich, dass in Gegenwart von RF, insbesondere des IgG-Subtyps, alle möglichen Immunoassays (...) gestört sein können. Verwendet der Testhersteller keine kompletten AK, sondern nur Fab-Fragmente für den Testaufbau, dann ist naturgemäß kaum mehr mit einer Störung durch RF zu rechnen, die definitionsgemäß an den Fc-Teil der AK binden“ (Hallbach 2006).

Die beim INNOVANCE zugesetzten HBR schließen Interferenzen, die durch vorhandene RF ausgelöst werden, bis zu deren Blutplasma-Konzentration von 1,33 IU/l aus. Bei Tina-quant stellt sich eine Konzentration an Rheumafaktoren von bis zu 0,1 IU/l laut Herstellerangaben als unproblematisch dar, bei HemosIL sind es 1,4 IU/l.

Da die Konzentration des RF bei den Patientinnen dieser Studie unbekannt ist, könnten unplausible Werte durch RF-Konzentrationen, die oberhalb dieser Grenzen liegen, begründet sein.

#### 4.4.4 Medikamente

Bei Tina-quant wurde bei der Einnahme „üblicher“ Medikamente in therapeutischen Konzentrationen keine Störeinflüsse festgestellt (Fachinformation von Roche: Tina-

quant D-Dimer Gen. 2 (D-DI2), 2010-01: 2). Auch SIEMENS konnte bei Anwendung des INNOVANCE keine Störeinflüsse durch Medikamente ermitteln (Fachinformation von SIEMENS: INNOVANCE D-Dimer, 2009-12: 22).

**Tabelle 25: Kein Einfluss der DDIM-Messung durch folgende Medikamente, aus: Fachinformation von SIEMENS: INNOVANCE D-Dimer, 2009-12: 22.**

Substanz	Test-Konzentration	S.I. Einheiten
Acetaminophen	20 mg/dl	1324 µmol/l
Acetylsalicylsäure	60 mg/dl	3,33 mmol/l
Amikacin	15 mg/dl	256 µmol/l
Ampicillin	5,3 mg/dl	152 µmol/l
Ascorbinsäure	5,0 mg/dl	284 µmol/l
Coffein	6,0 mg/dl	308 µmol/l
Captopril	20 mg/dl	922 µmol/l
Carbamazepin	3,0 mg/dl	127 µmol/l
Chloramphenicol	5,0 mg/dl	155 µmol/l
Chlordiazepoxid	1,0 mg/dl	33,3 µmol/l
Chlorpromazin	0,2 mg/dl	6,3 µmol/l
Cimetidin	2,0 mg/dl	79,2 µmol/l
Cyclosporin A	35 mg/dl	291 µmol/l
Dalteparin Natrium (Anti-Faktor Xa) <sup>24</sup>	5 IU/ml	n.a.
Diazepam	0,5 mg/dl	18 µmol/l
Digoxin	5 ng/ml	6,4 nmol
Erythromycin	6,0 mg/dl	81,6 µmol/l
Ethanol	400 mg/dl	86,8 mmol/l
Ethosuximid	25 mg/dl	1770 µmol/l
Furosemid	6,0 mg/dl	181 µmol/l
Gentamicin	12 mg/dl	251 µmol/l
Heparin, Ammonium <sup>-25</sup>	3 U/ml	n.a.
Heparin, Lithium <sup>-25</sup>	3 U/ml	n.a.
Heparin, Natrium <sup>-25</sup>	3 U/ml	n.a.
Ibuprofen	50 mg/dl	2425 µmol/l
Lidocain	1,2 mg/dl	51,2 µmol/l
Lithiumchlorid	2,3 mg/dl	3,2 mmol/l
Nicotin	0,1 mg/dl	6,2 µmol/l
Penicillin G <sup>26</sup>	25 U/ml	n.a.
Pentobarbital	8,0 mg/dl	354 µmol/l
Phenobarbital	10 mg/dl	431 µmol/l
Phenytoin	5,0 mg/dl	198 µmol/l
Primidon	4,0 mg/dl	183 µmol/l
Propoxyphen	0,2 mg/dl	6,1 µmol/l
Propranolol	0,5 mg/dl	19 µmol/l
Theophyllin	4,0 mg/dl	222 µmol/l
Valproinsäure	50 mg/dl	3472 µmol/l
Warfarin	11 mg/dl	357 µmol/l

Hinsichtlich des Einflusses von Arzneimitteln auf die Ergebnisse der DDIM-Messungen mit HemosIL wurden von IL keine konkreten Angaben gemacht.

Bei den Patientinnen der Studie ist aufgrund der bestehenden Schwangerschaft nicht von einer Medikamenteneinnahme über den hier angegebenen Dosen auszugehen. Jedoch kann dies nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden.

#### 4.4.5 Weitere interferierende Substanzen

Tabelle 26: Kein Einfluss der DDIM-Messung bei Lipämie, Bilirubinämie oder Hämolyse bis zu folgenden Plasmakonzentrationen, aus: Fachinformation von SIEMENS: INNOVANCE D-Dimer, 2009-12: 22.

Substanzen in der Probe	Einheit	Tina-quant	INNOVANCE	HemosIL
Triglyceride	mmol/l	11,4	6,84	15,13
unkonjugiertes Bilirubin	µmol/l	513	1026	307,8
Hämoglobin	µmol/l	311	124,2	310,5

Auch bei deutlicher Lipämie, bei Ikterus und bzw. oder Hämolyse treten keine Einschränkungen bei der Bestimmung der DDIM-Konzentration auf. Bis zu den in Tabelle 26 angegebenen Blutplasmakonzentrationen treten laut Herstellerangaben keine Interferenzen auf. Bei der gesamten Probenanzahl waren weder Hämolyse, Lipämie noch Bilirubinämie auffällig. Insgesamt wurden keine Hinweise auf störende Substanzen festgestellt.

#### 4.4.6 High-dose-hook-Effekt

Bei Tina-quant ist laut Roche bis zu einer DDIM-Konzentration von 220 µg/ml kein High-Dose-Hook-Effekt durch Antigenüberschuss zu erwarten. INNOVANCE zeigt nach Angaben von SIEMENS bis zu einer DDIM-Konzentration von 500 µg/ml keinen Antigenüberschuss-Effekt. Bei HemosIL sind es bis zu 197 µg/ml.

Derartig hohe Werte wurden aktuell nicht gemessen, so dass ein „High-dose-hook-Effekt“ durch Antigenüberschuss weitestgehend ausgeschlossen werden kann.

#### 4.4.7 Fazit

„Unabhängig von der D-Dimer-Konzentration können in Einzelfällen unspezifische Reaktionen auftreten (...) daher in bestimmten Fällen zu abweichenden Resultaten führen“ (Fachinformation von SIEMENS: INNOVANCE D-Dimer, 2009-12: 19).

Die 47 unplausiblen Werte wurden in verschiedener SSW und bei allen drei Tests beobachtet. Der HemosIL zeigte dabei die höchste Anzahl an abweichenden Werten von den Ergebnissen der beiden anderen Tests. 28 der 47 unplausiblen Werte wurden mit diesem Test gemessen. Per INNOVANCE fielen 18 abweichende Messwerte auf, beim Tina-quant lediglich einer. Sollten die Abweichungen auf Interferenzen beruhen, so ist der Tina-quant von Roche möglicherweise dagegen am

unempfindlichsten. Da jedoch unbekannt ist, ob es sich um Messungenauigkeiten handelt, kann nicht beurteilt werden, welcher der drei Tests zur DDIM-Bestimmung am besten geeignet ist.

Zweitmessungen zur Kontrolle wurden aus den betreffenden Proben nicht durchgeführt, da zu diesem Zeitpunkt die Ergebnisse der beiden anderen Tests noch nicht vorlagen und das Zusammentragen aller Daten bzw. die Gegenüberstellung der Messergebnisse erst nach Abschluss aller Messreihen erfolgte.

In der aktuellen Studie konnten keine interferierenden Substanzen wie HAMA, RF o.ä. festgestellt werden. Worauf die unplausiblen Werte zurückzuführen sind, bleibt demnach ungeklärt.

Aus diesem Grund wurden die 47 Proben anschließend aus der Studienkohorte entfernt, so dass zur statistischen Analyse und weiteren Berechnung der Referenzbereiche 1022 Proben verblieben.

## 4.5 Resultate

### 4.5.1 Anstieg der D-Dimere im Verlauf der Schwangerschaft

„Selbst eine unkomplizierte Schwangerschaft wird von einer beträchtlichen Aktivierung des Hämostasesystems begleitet, die durch eine Plasmakonzentrationserhöhung der Gerinnungsmarker, wie (...) die D-Dimere angezeigt wird.“ (Eichinger et al. 1998).

Auch in dieser Studie wurde im Verlauf der Schwangerschaften ein kontinuierlicher Anstieg der DDIM nachgewiesen. Die Ergebnisse stehen im Einklang mit zahlreichen anderen Untersuchungen, wie der von Eichinger et al. 1998, Borelli et al. 2006, Chan et al. 2010 etc.

„Die D-Dimere steigen (...) während einer normalen, komplikationsfreien Schwangerschaft physiologischerweise über den Normbereich an (...)“ (Tsakiris 2008).

Gegenwärtig wurde ebenfalls beobachtet, dass die DDIM anfangs nur leicht, mit fortlaufender Schwangerschaft jedoch immer stärker ansteigen. So dass gegen Ende der Schwangerschaft, ab SSW 24, über 50% der Frauen, obwohl kein thromboembolisches Ereignis auffällig wurde, Werte oberhalb des cut-offs von 500 µg/l aufwiesen - egal mit welchem Testsystem gearbeitet wurde (siehe Abbildung 29).



Nolan et al. stellten 1993 fest, dass die DDIM während der Schwangerschaft um 25% ansteigen (Nolan et al. 1993). Mercelina-Roumans et al. (Merceлина-Roumans et al. 1996) hatten im dritten Trimester sogar DDIM-Anstiege bis um das Dreifache gemessen, Eichinger et al. schließlich Werte bis um das Fünffache (Eichinger et al. 1999). In dieser Studie wurde ein Anstieg der Mediane der DDIM-Konzentrationen auf das 3,4fache (HemosIL) bis 4,3fache (Tina-quant) beobachtet.

#### 4.5.2 Unbestimmte Ursache für den Anstieg der D-Dimere

Aus welchem Grund die DDIM in der Schwangerschaft ansteigen, bleibt nach wie vor nicht exakt geklärt.

„Die Ursache für den deutlichen Anstieg der D-Dimer-Konzentration ist unklar“ (Hannemann-Pohl et al. 2005).

Da DDIM entstehen, wenn quervernetztes Fibrin durch Plasmin gespalten wird, könnte die Fibrinolyse bzw. der Fibrinumsatz bei Schwangeren gesteigert sein.

„In der letzten Hälfte des 3. Trimenons könnte auch Fibrinbildung an kleinen Verletzungen oder spontane Thrombosierungen der Plazenta eine Rolle spielen“ (Hannemann-Pohl et al. 2005).

Van Wersch et al. hielten 1991 fest, der Nachweis des stetigen Anstiegs nahezu aller Fibrinolysemarker im Verlauf der Schwangerschaft suggeriere eine fortschreitende Stimulation des Gerinnungssystems und eine zunehmende Aktivierung der Fibrinolyse (van Wersch et al 1991). Laut Eichinger können die erhöhten DDIM eine erhöhte Gerinnungsaktivität bzw. Thrombinbildung oder eine erhöhte Fibrinolyse widerspiegeln – oder eine Kombination aus beiden (Eichinger 2003/2004). Szecsi et al. äußerten die Vermutung, der Anstieg der DDIM hänge mit dem steigenden Plazentawachstum zusammen (Szecsi et al. 2010).

Schwangerschaftskomplikationen wie Präeklampsie (Cadroy 1993, Proietti et al. 1991, Bellart et al. 1999, Kobayashi et al. 1999), Plazentalösung (Nolan et al. 1993), HELLP-Syndrom (Padden 1999) oder schwangerschaftsassozierte arterielle Hypertonie (Cadroy et al. 1993, Francalani 1995) können mit erhöhten DDIM-Spiegeln einhergehen.

Während normale DDIM-Werte, die unterhalb des testspezifischen cut-offs liegen auch in der Schwangerschaft ein thromboembolisches Ereignis ausschließen können



(Chan et al. 2007), können deutlich erhöhte Konzentrationen für ein stattgehabtes thromboembolisches Ereignis sprechen (Chan et al. 2010).

#### 4.5.3 Gesicherte Thrombosen

Von sechs Patientinnen erfuhren wir im Verlauf dieser Studie, dass sie eine sonographisch gesicherte TVT erlitten hatten. Die Prävalenz einer sonographisch gesicherten TVT lag in dieser Studie demnach bei 5,6 pro 1000 Schwangere bzw. 0,56% – und somit deutlich höher als beispielsweise im Bericht der Deutschen Gefäßliga von 2010 oder von Pajor 2011 beschrieben. Dort wurde die Häufigkeit einer Thrombose in der Schwangerschaft mit 0,05 bis 0,1% (Diehm 2010) bzw. einer VTE in der Schwangerschaft mit 0,1% angegeben (Pajor 2011).

Bei allen sechs Patientinnen mit nachgewiesener Thrombose waren – im Vergleich zur Referenzgruppe derselben SSW - deutlich erhöhte DDIM-Werte auffällig. Teilweise Werte bis über das 60fache des Medians der entsprechenden SSW-Gruppe (siehe Tabelle 16 bzw. Abbildung 14; siehe Probe aus SSW 12, gemessen mit HemosIL).

Deutlich über dem zu erwartenden Bereich liegende DDIM könnten folglich Ausdruck einer stattgehabten TVT oder vielleicht sogar VTE sein. Dies steht im Einklang mit den Ergebnissen von Cahn et al. 2010, die die Konzentration der DDIM bei Schwangeren mit V.a. TVT per ELISA und Latexagglutinations-Methoden bestimmten. Frauen mit sicherer TVT, die auch sonographisch gesichert worden war, wiesen höhere DDIM-Werte auf, als solche ohne TVT ( $p < 0,0001$ ) (Chan et al. 2010). Auch Kovac et al. stellten bei allen Schwangeren ihrer Studie, die eine TVT erlitten, im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe erhöhte DDIM fest (Kovac et al. 2010).

„Eine Schwangere, die im ersten Trimester eine TVT erleidet, hat 6,7bis 7fach höhere D-Dimere als der Median der Referenzgruppe. Im dritten Trimester hatten Frauen mit Thrombose 2 bis 3,8fach höhere D-Dimere ( $p < 0,0001$ )“ (Kovac et al. 2010).

Ungewiss bleibt, warum in der aktuellen Kohorte eine überdurchschnittlich hohe Zahl an Thrombosen aufgetreten ist. Durch Anonymisierung ist kein Zugriff auf persönliche Daten (wie z. B. das Alter der Patientin) oder auf frühere Befunde, Zusatzinformationen hinsichtlich Vorerkrankungen, Medikamenteneinnahme o.ä. möglich. Insofern können keine Angaben bezüglich der klinischen Vortestwahrscheinlichkeit

respektive Wells-Score gemacht werden. Die im Vergleich zu anderen Untersuchungen deutlich erhöhte Prävalenz ist auch unter der Annahme nicht plausibel, es handele sich um ein vorselektiertes Patientenkollektiv. Denn die Gynäkologen sandten die Heparinplasmaproben anlässlich der Mutterschaftsvorsorge im Rahmen von Routineuntersuchungen in unser Labor ein - und nicht mit dem V. a. ein thromboembolisches Ereignis, zur Überwachung einer Antikoagulanzen-therapie oder ähnlichem, da davon auszugehen ist, dass in diesen speziellen Fällen eine Citratplasma-Monovette mit versandt worden wäre.

Möglicherweise schließt die Gesamtkohorte jedoch weitere Schwangere mit einer TVT und bzw. oder einer LE ein, von denen dies unter den gegenwärtigen Bedingungen nicht bekannt wurde. Hohe DDIM-Werte könnten dadurch erklärbar sein. Auch Extremwerte anderer Studien mögen sich so erklären lassen.

Andererseits sind sehr hohe DDIM-Werte auch ohne stattgehabte VTE möglich.

“Es fiel uns auf, dass Schwangere im letzten Trimenon z.T. extrem hohe D-Dimer-Konzentrationen aufwiesen, obwohl es keinerlei Hinweis auf Thromboembolien gab“ (Hannemann-Pohl et al. 2005).

Auch Boneu et al. hielten fest, dass auch ohne VTE so hohe DDIM-Konzentrationen möglich sind, wie sie sonst nur bei TVT auftreten (Boneu et al. 1991). In der gegenwärtigen Untersuchung sind bisweilen sehr hohe DDIM-Werte auffällig, ohne dass es Hinweise auf eine VTE gab. Mit absoluter Sicherheit kann dies jedoch nicht ausgeschlossen werden.

Darüber hinaus könnten hohe DDIM-Werte auch durch Mehrlingsschwangerschaften verursacht worden sein. Bei Zwillingschwangerschaften wurden höhere Werte (Mittelwert von 2200 µg/l) als für Einlingsschwangerschaften (Mittelwert von 3700 µg/l) bestimmt (Nishii et al. 2009). In der Studie von Nishii et al. wurden bei 1131 Schwangeren die DDIM per Lateximmunoassay gemessen, wobei festgestellt wurde, dass zwischen den Einlings- und Zwillingschwangerschaften die DDIM im ersten Trimester noch nicht signifikant unterschiedlich waren – im dritten Trimester allerdings schon. Khalafallah et al. stellten 2008 ebenfalls erhöhte DDIM-Werte bei Patientinnen mit Zwillingschwangerschaften fest (Khalafallah et al. 2008). Soweit uns bekannt ist, nahmen an dieser Studie keine Patientinnen mit Mehrlings-

schwangerschaften teil. Jedoch kann auch dies nicht gänzlich ausgeschlossen werden.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass auch bei normal verlaufenden Schwangerschaften erhöhte DDIM-Konzentrationen möglich sind, sehr hohe Werte jedoch mit Komplikationen verbunden sein können und daher zu intensiver Beobachtung der Patientin führen sollten.

#### **4.5.4 Sind die D-Dimere auch in der Schwangerschaft zum Ausschluss einer Thromboembolie von Nutzen?**

In der Literatur existieren unterschiedliche Auffassungen darüber, ob die DDIM auch in der Schwangerschaft z. A. von Thromboembolien eingesetzt werden können (siehe Kapitel 1.9.2).

Einigen Untersuchungen nach zu urteilen, sind die DDIM, obwohl sie in der Schwangerschaft ohnehin erhöht sind, dennoch als Gerinnungsparameter zur Einschätzung eines thromboembolischen Risikos einsetzbar, wenn sie in besonders hohen Konzentrationen auftreten (Eichinger et al. 1999) und könnten womöglich auch in der Schwangerschaft von Nutzen sein, um Frauen mit erhöhtem Risiko für ein Thromboserezidiv zu identifizieren (Eichinger 2003/2004).

Darüber hinaus könnten laut Padden die DDIM bei Schwangeren nützlich sein, um eine Präeklampsie oder ein HELLP-Syndrom frühzeitig zu erkennen (Padden 1999).

[Heyl et al. hielten 1999 fest: Die DDIM besitzen z. A. eines thromboembolischen Ereignisses „in der Schwangerschaft nur einen geringen negativ prädiktiven Wert“ \(Heyl et al. 1999\).](#)

Chan et al. stellten jedoch in einer Studie mit 149 Schwangeren mit V. a. einer TVT fest, man könne ungeachtet dessen, dass die DDIM in der Schwangerschaft ansteigen, sie auch in dieser Lebensphase z. A. einer TVT benutzen. Sie ermittelten einen NPW von 100% (Chan et al. 2007).

Die Mehrheit der Untersuchungen ergab, dass die DDIM z. A. einer VTE in der Schwangerschaft nicht so aussagekräftig wie außerhalb sind, weswegen sich Kliniker oft auf andere diagnostische Methoden stützen müssen (Eichinger 2009, Chunilal 2009). Die DDIM haben - solange Referenzbereiche im Bezug zur SSW nicht

verfügbar sind – in der Schwangerschaft nur einen geringen Wert in der Diagnostik der VTE (Giavarina 2001).

#### **4.5.5 Probenanzahl über dem cut-off zum Ausschluss von Thromboembolien**

Im Verlauf dieser Untersuchung wies ein Großteil der schwangeren Patientinnen DDIM-Werte auf, die oberhalb des cut-offs von 500 µg/l z. A. einer VTE lagen.

Ab SSW 15 hatten beim HemosIL über 50% der Schwangeren DDIM-Werte über dem cut-off von 500 µg/l. Beim INNOVANCE war dies ab SSW 17 der Fall. Beim Tina-quant lagen erst ab der 24. SSW 50% der Werte über 500 µg/l (siehe Tabelle 22).

Ab SSW 18 lagen beim HemosIL über 89% der Werte über dem cut-off, ab SSW 30 hatten dann alle Schwangeren DDIM-Konzentrationen über 500 µg/l. Beim INNOVANCE waren ab der 24. SSW 85% bis 100% der Werte darüber.

Umgekehrt betrachtet wiesen in der gegenwärtigen Studie insgesamt per Tina-quant ca. 66% aller Schwangeren Werte unter dem cut-off auf. Beim INNOVANCE waren es 38% und beim HemosIL lediglich 27% (siehe dazu auch Tabelle 21). In einer Untersuchung von 2005 wurde bis zur 42 SSW bei 25% der Schwangeren DDIM unterhalb dieses cut-off z. A. von VTE gemessen (Epiney et al. 2005). Somit wurden damals ähnliche Werte ermittelt wie aktuell mit dem HemosIL.

Bis zur 30. SSW lagen beim Tina-quant 74%, beim INNOVANCE 48% und beim HemosIL 35% unterhalb von 500 µg/l. Chabloz et al. stellten bei ihrer Untersuchung fest, dass bis zur 30 SSW 39% der Schwangeren DDIM unterhalb des cut-offs z. A. einer VTE aufwiesen (Chabloz et al. 2001), und erhielten folglich ebenfalls ähnliche DDIM-Konzentrationen wie gegenwärtig mit dem HemosIL.

Somit wurden v.a. gegen Ende der Schwangerschaft hohe DDIM-Konzentrationen ermittelt. Ungeachtet dessen wies unserer Kenntnis nach keine der 1022 Patientinnen Symptome einer VTE auf. Ergebnisse unterhalb des cut-offs von 500 µg/l schließen mit hoher Sensitivität und Spezifität ein thromboembolisches Ereignis aus (siehe Tabelle 12). Die Ergebnisse legen jedoch nahe, dass v.a. im letzten Trimester – abhängig vom verwendeten Testsystem – auch ein höherer cut-off z. A. von TVT und LE in Betracht gezogen werden kann.

Im Folgenden werden – für die drei verwendeten Systeme – Referenzbereiche ermittelt, mit Hilfe derer in Zukunft eine bessere Aussage darüber getroffen werden kann, ob der gemessene DDIM-Wert bei einer schwangeren Patientin eine stattgehabte VTE ausschließt oder ob weitere diagnostische Maßnahmen ergriffen werden müssen.

#### **4.6 Referenzbereiche für gesunde Schwangere**

Diese Studie soll den Zweck erfüllen, für gesunde Schwangere - ohne thromboembolische Symptome oder dahingehend bekannte Vorerkrankungen - physiologische Referenzbereiche der DDIM-Konzentration im Verhältnis zur SSW zu ermitteln.

„Referenzbereiche sind wichtig für die richtige Interpretation von Labordaten in dem sie den Kliniker zur Schaffung eines umfassenderen klinischen Überblicks für Diagnose und Management unterstützen“ (Ritchie und Palomaki 2004).

##### **4.6.1 Test auf Normalverteilung der Daten**

Abbildung 18 bis 20 zeigen die absoluten Häufigkeiten bzw. die kumulativen Häufigkeiten der gemessenen DDIM-Konzentrationen der drei Testsysteme.

Zur Prüfung auf eine Normalverteilung der Werte wurden der Shapiro-Wilk-Test und der Kolmogorov-Smirnov-Test angewendet. Die Wahrscheinlichkeit  $p$  zur Annahme der Normalverteilung tendiert mit beiden Tests bei allen drei Methoden gegen Null. Somit kann eine Normalverteilung der Daten ausgeschlossen werden.

##### **4.6.2 Keine Eradikation von Extremwerten**

Abgesehen von den unter Punkt 4. 3. 2. berichteten unplausiblen Messwerten wurden darüber hinaus keine Extremwerte - im Sinne von Ausreißern - entfernt.

In nahezu jeder SSW wurden bei einzelnen Proben mit allen drei Testsystemen besonders hohe DDIM-Werte gemessen. Da unserer Kenntnis nach jedoch bei keiner der 1022 Patientinnen eine VTE aufgetreten ist, sind diese erhöhten Werte nicht im Rahmen eines thromboembolischen Ereignisses zu erklären und sollten somit im selben prozentualen Verhältnis in die Gesamtberechnung eingehen - unter der Annahme, dass bei schwangeren Frauen in der Normalbevölkerung derselbe Prozentsatz diese Extremwerte aufweist ohne eine VTE zu erleiden.

Für die Referenzbereiche wurden zudem jeweils vier bis acht SSW zusammengefasst und die Perzentilen von der jeweiligen Gesamtmenge der Daten ermittelt, sodass „Ausreißer“ einzelner SSW nicht so sehr ins Gewicht fallen wie bei Referenzbereichen für kleinere Intervalle.

#### 4.6.3 95%-Vorhersagegrenzen

Laut „National Committee for Clinical Laboratory Standards“ (NCCLS) werden in der Mehrzahl der Fälle die 95%-Vorhersagegrenzen für Referenzintervalle benutzt. Als unterer und oberer Wert dienen somit die 2,5. und 97,5. Perzentile (National Committee for Clinical Laboratory Standards 1993).

#### 4.6.4. Die Ergebnisse in Intervallen

Die Gesamtheit der SSW wurde in vier Intervalle eingeteilt, die sich an den Schwangerschaftstrimestern orientieren (siehe Tabelle 19).

Für diese Intervalle gibt Tabelle 27 jeweils die 2,5. und 97,5. Perzentile mit dem 90%-Konfidenzintervall jedes Testsystems wieder. Parallel dazu wurde in Abbildung 33 der Verlauf der 2,5. und 97,5. Perzentilen graphisch dargestellt. Von SSW 5 bis 20 (Intervall 1 und 2) kommt es zu keiner wesentlichen Änderung der DDIM-Konzentration. In den nachfolgenden Intervallen steigen die DDIM dann deutlich an - besonders stark gegen Ende des letzten Trimenons. Aufgrund der höheren Streuung der Ergebnisse wurde das letzte Intervall erneut in Gruppe A und B aufgeteilt (Abbildung 34).

**Tabelle 27: 2,5. und 97,5. Perzentilen der SSW-Intervalle; in Klammern ist jeweils das Konfidenzintervall für 90% angegeben (CI: alpha= 0,1) (Interv. = Intervall)**

	Tina-quant		INNOVANCE		HemosIL	
Interv. und SSW	Perzentilen		Perzentilen		Perzentilen	
	2,5.	97,5.	2,5.	97,5.	2,5.	97,5.
<u>1:</u> 5 - 12	51 (39 – 63)	785 (705 – 865)	141 (137 - 145)	1188 (1055 - 1321)	91 (72 – 110)	1421 (1274 - 1568)

<b><u>2:</u></b> <b>13 - 20</b>	<b>109</b> (88 - 130)	<b>899</b> (771 - 1027)	<b>216</b> (174 - 258)	<b>1211</b> (1078 - 1344)	<b>277</b> (226 - 328)	<b>1379</b> (1228 - 1530)
<b><u>3:</u></b> <b>21 - 28</b>	<b>245</b> (230 - 260)	<b>1333</b> (1175 - 1491)	<b>383</b> (361 - 405)	<b>1626</b> (1467 - 1785)	<b>456</b> (432 - 480)	<b>1941</b> (1738 - 2144)
<b><u>4:</u></b> <b>29 - 36</b>	<b>282</b> (245 - 319)	<b>2040</b> (1669 - 2411)	<b>490</b> (431 - 549)	<b>2973</b> (2455 - 3491)	<b>611</b> (546 - 676)	<b>3419</b> (2928 - 3910)
<b><u>4 A:</u></b> <b>29 - 32</b>	<b>290</b> (241 - 339)	<b>1774</b> (1578 - 1970)	<b>467</b> (354 - 580)	<b>2631</b> (2524 - 2738)	<b>519</b> (401 - 637)	<b>3170</b> (2869 - 3471)
<b><u>4 B:</u></b> <b>33 - 36</b>	<b>278</b> (215 - 341)	<b>2244</b> (1509 - 2979)	<b>507</b> (454 - 560)	<b>3187</b> (2130 - 4244)	<b>645</b> (578 - 712)	<b>3604</b> (2662 - 4546)

#### 4.7 Vergleich mit weiteren Studien zur Ermittlung von Referenzbereichen der DDIM in der Schwangerschaft

Von 2001 bis 2010 wurden ähnliche Studien wie die hier vorliegende durchgeführt.

##### 4.7.1 Vergleich mit Giavarina et al. 2001

Giavarina et al. bestimmten die DDIM mit Hilfe eines Latexagglutinationsassays bei 340 gesunden Schwangeren, die in 2 Gruppen eingeteilt wurden. Gruppe A: SSW 1 bis 20, Gruppe B: SSW 21 bis 40 (Giavarina et al. 2001). Später wurde die zweite Gruppe noch einmal in B1 und B2 unterteilt. Auch hier wurden zur Etablierung von Referenzbereichen die zentralen 95% der gemessenen Werte eingesetzt – von Perzentile 2,5 bis 97,5 (siehe Tabelle 28).

**Tabelle 28: Vergleich der Ergebnisse mit Giavarina et al. 2001 (2,5. bis 97,5. Perzentilen der gemessenen DDIM-Konzentrationen im Verlauf der Schwangerschaft) (\*: k. A. = keine Angabe)**

Giavarina				Tina-quant	INNOVANCE	HemosIL
Gr.	SSW	DDIM in µg/l	SSW	DDIM in µg/l	DDIM in µg/l	DDIM in µg/l
		<b>2,5. - 97,5. Perzentile</b>		<b>2,5. - 97,5. Perzentile</b>	<b>2,5. - 97,5. Perzentile</b>	<b>2,5. - 97,5. Perzentile</b>
A	1 - 20	< 220 – 1275	5 - 20	62 – 892	141 – 1213	100 – 1419
B	21 - 40	< 220 – 3130	21 - 36	256 – 1733	405 – 2606	503 – 3169
B1	21 - 30	k. A.* – 3130	21 - 30	248 – 1433	377 – 1948	468 – 2212
B2	31 - 40	k. A – 3210	31 - 36	287 – 2041	508 – 3019	642 – 3505

Die 97,5. Perzentile, die Giavarina et al. 2001 ermittelten, ist bis zur 20.SSW mit der des INNOVANCE vergleichbar (1275 µg/l bzw. 1213 µg/l), ab SSW 21 finden sich dann höhere Werte, die denen des HemosIL am nächsten kommen (3130 µg/l bzw. 3169 µg/l). Diese höheren Werte in Gruppe B, die sich folglich auch in B1 und B2 finden, kann dadurch erklärt werden, dass in der Studie von Giavarina et al. auch Proben von Frauen der SSW 37 bis 40 gemessen wurden. In der aktuellen Untersuchung endet die Bestimmung der DDIM bereits in SSW 36. Da sich die Plasmakonzentration der DDIM mit steigender SSW kontinuierlich erhöht, ist v.a. gegen Ende der Schwangerschaft mit hohen DDIM-Werten zu rechnen.

Angemerkt sei darüber hinaus, dass bei der Studie von Giavarina et al. viele SSW zu einer Gruppe zusammengefasst wurden, so dass letzten Endes drei Referenzbereiche im Verlauf der Schwangerschaft erarbeitet wurden. Da aber v.a. zum Entbindungstermin hin eine hohe Streuung der DDIM nachgewiesen wurde, scheint dieses Vorgehen zu stark vereinfacht zu sein. Für die Konzentration der DDIM müssten v.a. im letzten Trimenon kürzere Intervalle festgelegt werden.

#### **4.7.2 Vergleich mit Hannemann-Pohl et al. 2005**

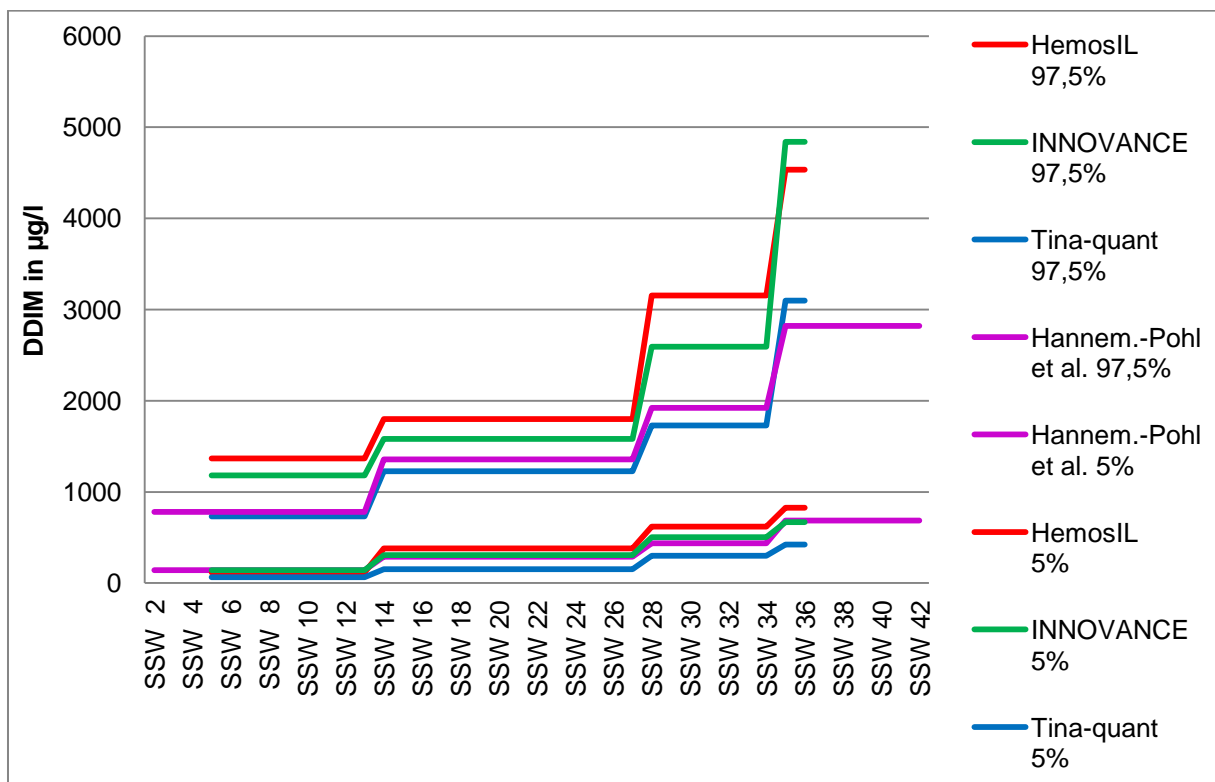
Bei der Untersuchung von Hannemann-Pohl et al. wurden die DDIM bei 183 Schwangeren von SSW 5 bis 42 mit Hilfe eines ELISAs bestimmt. Zur Ermittlung von Referenzbereichen wurden die zentralen 92,5% der gemessenen Werte - von



Perzentile 5 bis 97,5 - eingesetzt. Tabelle 29 und Abbildung 44 stellen die Ergebnisse der Untersuchung von 2005 den aktuellen Ergebnissen gegenüber.

**Tabelle 29: Vergleich der Ergebnisse mit Hannemann-Pohl et al. 2005 (5. und 97,5. Perzentilen der gemessenen DDIM-Konzentrationen im Verlauf der Schwangerschaft)**

SSW	Hannemann-Pohl et al. 2005		SSW	Tina-quant		INNOVANCE		HemosIL	
	5%	97,5%		5%	97,5%	5 %	97,5%	5%	97,5%
1- 13	141	780	5- 13	65	730	141	1181	118	1367
14- 27	289	1355		152	1225	308	1580	380	1799
28- 42	589	2722	28- 36	306	2038	507	2939	632	3317
28- 34	438	1922		300	1728	505	2591	619	3154
35- 42	685	2822	35- 36	423	3098	669	4840	825	4536



**Abbildung 44: 5. und 97,5. Perzentilen der DDIM-Konzentrationen im Verlauf der Schwangerschaft - im Vergleich zur Studie von Hannemann-Pohl et al. 2005**

Insgesamt betrachtet lagen die von Hannemann-Pohl et al. per ELISA ermittelten Werte vom ersten bis zum dritten Trimenon auf einem ähnlichen Niveau wie die des Tina-quant.

### 4.7.3 Vergleich mit Szecsi et al. 2010

Szecsi et al. bestimmten die DDIM zur Ermittlung von Referenzbereichen bei gesunden Schwangeren mit Hilfe eines Lateximmunoassays.

„Die D-Dimer-Konzentration stieg während der Schwangerschaft zunehmend an(...). Schon ab Woche 13 bis 20 hatten mehr als 25% der schwangeren Frauen ohne Komplikationen D-Dimer-Spiegel von oder über 0,5 mg/l (...). Ab Woche 26 bis 42 hatten praktisch alle schwangeren Frauen Werte über diesem konventionellen Referenzpunkt“ (Szecsi et al. 2010).

In der aktuellen Studie hatten von SSW 13 bis 20 – gemessen mit dem Tina-quant – 22% der Patientinnen DDIM-Werte über 500 µg/l – dies entspricht ungefähr den Ergebnissen von Szecsi et al. 2010. Beim INNOVANCE lagen 51% der Frauen von SSW 13 bis 20 über diesem Wert und beim HemosIL sogar 69%.

Szecsi et al. bestimmten die DDIM in der Einheit mg/l. Zur besseren Vergleichbarkeit wurde im Folgenden auf µg/l umgerechnet (siehe Tabelle 30).

**Tabelle 30: Vergleich der Ergebnisse mit Szecsi et al. 2010 (2,5. und 97,5. Perzentilen der DDIM-Konzentrationen im Verlauf der Schwangerschaft)**

SSW	Szecsi et al. 2010		SSW	Tina-quant		INNOVANCE		HemosIL	
	2,5%	97,5%		2,5%	97,5%	2,5 %	97,5%	2,5%	97,5%
5- 12	-	-		51	785	141	1188	91	1421
13- 20	200	1400		109	899	216	1211	277	1379
21- 28	300	1700		245	1333	383	1626	456	1941
29- 36	-	-		282	2040	490	2973	611	3419
29- 34	300	3000		272	1758	481	2605	598	3169
35- 42	400	3100	35- 36	396	3098	574	4840	735	4536

Im Vergleich liegen die von Szecsi et al. ermittelten Konzentrationen die Gesamtheit der Werte betrachtend in einem dem HemosIL ähnlichen Bereich (siehe Abbildung 45).

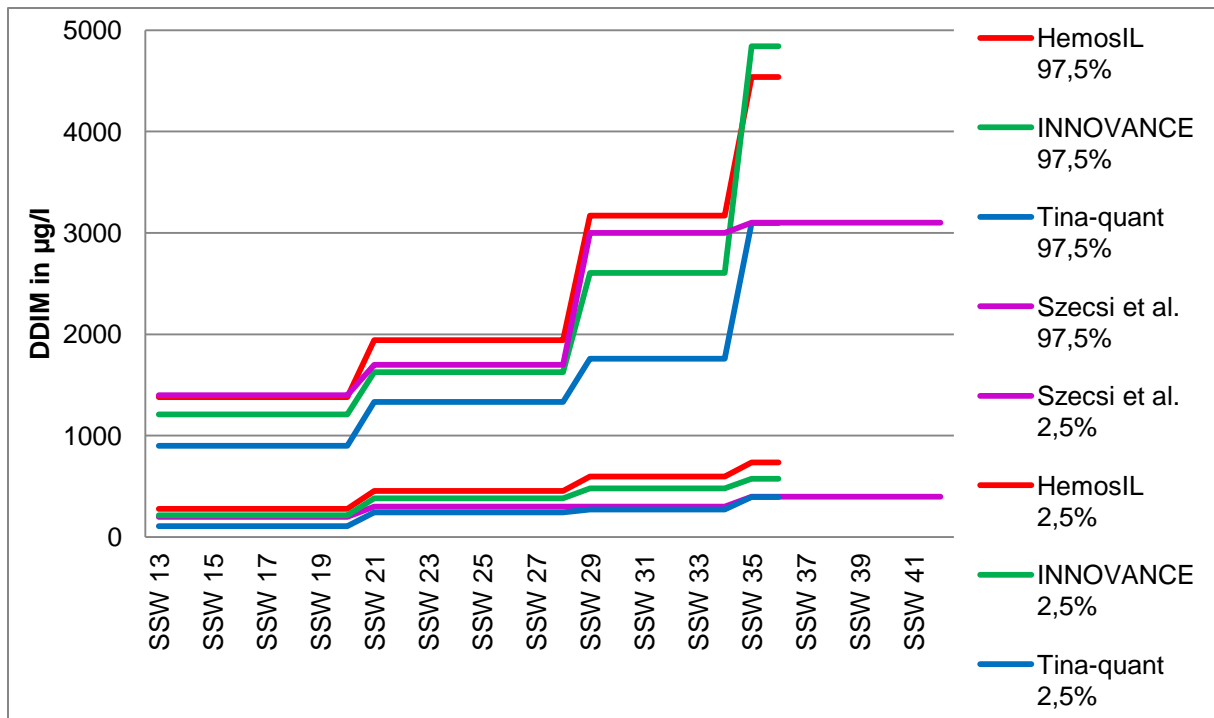


Abbildung 45: 2,5. und 97,5. Perzentilen der DDIM-Konzentrationen im Verlauf der Schwangerschaft - im Vergleich zur Studie von Szecsi et al. 2010

Auffällig ist, dass Szecsi et al. ab SSW 35 deutlich niedrigere DDIM-Konzentrationen gemessen haben, obwohl dort nicht nur bis zur 36. SSW – wie in der aktuellen Studie - sondern sogar Proben bis zur SSW 42 untersucht wurden. Unter der Annahme es wären mit den gegenwärtig verwendeten Testsystemen zusätzliche Proben höherer SSW bis hin zum Entbindungstermin analysiert worden, so ist eher mit einem weiteren und stärkeren Anstieg der DDIM zu rechnen. Dies wird von vielen Studien bestätigt (Stirling et al. 1984, McCrae und Cines 1997, Giavarina et al. 2001, Hannemann-Pohl et al. 2005). Aus diesem Grund sind die Ergebnisse von Szecsi et al. – zumindest im letzten Intervall ab SSW 35 - nicht erklärlich.

#### 4.7.4 Vergleich mit Kovac et al. 2010

In der aktuellen Studie wurden bei allen drei Testsystemen in jedem Trimester der cut-off von 500 µg/l eingesetzt.

Kovac et al. bestimmten bei 89 gesunden Schwangeren die DDIM (Kovac et al. 2010). Dabei wurde festgestellt, dass im 1. Trimester 84% der Patientinnen DDIM-Werte unterhalb des cut-offs hatten, ab dem 2. Trimester waren es nur noch 33% darunter und im 3. Trimester schließlich nur noch 1%. Allerdings lag bei dieser Studie der cut-off bei 230 µg/l. Kovac et al. hielten fest, dass dieser Wert z. A. von Thrombo-

embolien in der Schwangerschaft „ohne praktischen Nutzen“ sei (Kovac et al. 2010) und boten folgende Schwellenwerte z. A. schwangerschaftsassoziierter VTE an: 1. Trimester 286 µg/l, 2. Trimester 457 µg/l, 3. Trimester 644 µg/l.

Außerdem sollte in Betracht gezogen werden, dass bei der Untersuchung von Kovac et al. die Anzahl an Probandinnen recht gering war. Lediglich bei 89 Patientinnen wurden die DDIM bestimmt. Die Ergebnisse eines so kleinen Kollektivs lassen sich nur schwer auf die Gesamtbevölkerung übertragen.

#### 4.8 Mangelnde Standardisierung

Bei allen im Kapitel 4. 7. erwähnten Studien wurde zur Bestimmung der DDIM lediglich ein Testsystem eingesetzt. Allerdings sind die DDIM noch kein standardisierter Parameter. Die Resultate sind von Methode zu Methode unterschiedlich und demnach nicht von einem zum anderen Testsystem übertragbar – auch der cut- off z. A. einer VTE nicht.

„(...) die numerischen Testergebnisse von verschiedenen D-Dimer-Assays variieren beträchtlich“ (Meijer et al. 2006).

Die Ursache für unterschiedlich hohe DDIM-Konzentrationen bei ähnlich strukturierten Kohorten ist nicht generell auf individuelle Komplikationen oder spezifische Charakteristika der Patienten zurückzuführen - sondern ist oftmals in den unterschiedlichen Messmethoden selbst zu suchen.

„Das Ergebnis aus einer Probe variiert bis zu 20-fach zwischen den eingesetzten Assays“ (Spannagl et al. 2005).

Untersuchungen ergaben, dass die DDIM-Konzentrationen - gemessen aus derselben Probe - von Methode zu Methode sehr unterschiedlich sind.

Nann-Rütti et al. wiesen 2011 aus derselben Patientenprobe mit verschiedenen Testsystemen unterschiedliche Konzentrationen von DDIM nach (siehe Tabelle 31) (Nann-Rütti et al. 2011).

Tabelle 31: Konzentration der DDIM derselben Probe - gemessen mit verschiedenen Testsystemen, aus: Nann-Rütti S, Trummler M, Thürig E, Wuillemin WA: Beinschmerzen und massiv erhöhter D-dimer-Wert – ein klarer Fall einer tiefen Beinvenenthrombose? Schweiz Med Forum 2011; 11 (23-24): 420.

Test (Methode)	Resultat in ng/ml
STA®-Liatest® (Latex quantitativ)	16800
VIDAS® (Immunofluoreszenz-Immunoassay)	292
HemosIL D-Dimer HS (Latex quantitativ)	18710
Innovance D-Dimer (Latex-Immunturbidometrie)	600
TinaQuant (Latex quantitativ)	2730

#### 4.8.1 Ursachen der Variabilität der Testergebnisse

Die unterschiedlich hohe DDIM-Konzentration bei derselben Patientin kann mehrere Ursachen haben:

- a) die oben erwähnte Heterogenität der DDIM, die sich aus DD, DDE, DDEE oder DED-Fragmenten zusammensetzen können,
- b) die u.a. daraus folgenden unterschiedlichen Kalibrationen der Messgeräte sowie
- c) die verschiedenen Methoden, bei denen ein oder zwei Antikörper mit unterschiedlichen Affinitäten zum zu bindenden Epitop der DDIM verwendet werden.

##### 4.8.1.1 Heterogenität der D-Dimere

„Wegen der zahlreichen Spaltstellen des Plasmins am Fibrin oder Fibrinogen könnte das Plasma eine große Mischung verschiedener D-Dimer-besitzender Fibrinfragmente enthalten (...). Diese Fragmente existieren vielleicht sogar als Komplexe, die die Zugänglichkeit der Epitope gegen die die monoklonalen Antikörper gerichtet sind, einschränken.“ (Reber und de Moerloose 2000)

Die DDIM könnten demzufolge in niedrigerer Konzentration bestimmt werden als sie im Blutplasma des Patienten eigentlich vorhanden sind. Außerdem stellten Reber und de Moerloose fest, dass die Zusammensetzung der DDIM-enthaltenden Fragmente sich von einer zu anderen Probe unterscheiden und sogar beim selben Patienten im zeitlichen Verlauf variieren könnte. Sie äußerten dies als Vermutung, bestätigt wurde der Ansatz bisher nicht.

#### 4.8.1.2 Verwendung verschiedener Kalibratoren

Verschiedene Strukturen werden derzeit als Kalibratoren verwendet. Einige ELISA oder Mikrolatexassays nutzen z.B. synthetische Polymere von DDIM. Dabei können die Epitope, die von den beiden Antikörpern gebunden und markiert werden, so nah beieinander liegen, dass ein zweites Epitop zur Bindung nötig ist. (Reber und de Moerloose 2000, Hart et al. 1994). Auch bei einem Mikrolatexassay mit solchen synthetischen Polymeren (Reber und de Moerloose 2000, Elms et al. 1993), bei dem ein einzelner Antikörper zum Nachweis benutzt wird, müssen z.B. zwei Epitope präsentiert werden, um eine Agglutination auszulösen.

Bei der Produktion eines Kalibrators ist u.a. die Dauer der Plasmineinwirkung für dessen Zusammensetzung entscheidend. Ellis et al. wiesen 1993 nach, dass sich die Immunoreaktivität – abhängig von der Methode – innerhalb von 48 Stunden deutlich verändert, während Plasmin Fibrinogen und Fibrin zu niedermolekularen Fragmenten abbaut, die dann als Kalibratoren von Testsystemen dienen (Ellis et al. 1993).

Oftmals werden als Kalibratoren sogenannte FEU eingesetzt. Es handelt sich um Fibrinogen äquivalente Einheiten, die aus Mischplasma gesunder Spender gewonnen werden. Die Bezeichnung „Fibrinogen Äquivalent“ bezieht sich auf die verwendete Menge an Fibrinogen, die zur Herstellung des Urstandards der Asserachrom –Dimer Methode der Firma Boehringer Mannheim (Adema und Gebert 1995, Dempfle et al. 1996) benötigt wurde. Aufgrund des aktuell noch fehlenden internationalen Referenz-Standards geben einige Hersteller die DDIM-Ergebnisse in FEU an. Dabei entsprechen 2 FEU ungefähr 1 ng/ml an DDIM.

Tatsächlich ist die Wahl des Kalibrators nicht ganz einfach, da keiner vollständig in der Lage ist, die Heterogenität des Analyten DDIM korrekt widerzuspiegeln. Steiner et al. bestimmten 1993 die Konzentration von FEU bzw. DDIM der Kalibratoren dreier Testsysteme - zunächst mit der Originalmethode danach mit den beiden anderen Methoden - und erhielten deutlich verschiedene Resultate. Kalibratoren sind somit nicht ohne Weiteres von einem zum nächsten System übertragbar (Steiner et al. 1993).

Tabelle 32: Konzentrationen der Kalibratoren - gemessen mit anderen Assays als dem dafür vorge-sehenen, aus: Reber G, de Moerloose P. D-dimer assay for the exclusion of venous thromboembolism. *Semin Thromb Haemost* 2000; 26 (6): 620.

	<i>Fibrinostica FbDP Calibrator (900 ng/mL FEU*)</i>	<i>Asserachrom® Calibrator (1000 ng/mL FEU)</i>	<i>Dimertest Calibrator (5000 ng/mL DD)</i>
FbDP assay	900	0	0
Assarachrom assay	440	1000	8600
Dimertest assay	50	600	5000

\*FEU, fibrinogen equivalent units.

Somit sind auch die Testergebnisse oftmals nicht von einem zum anderen Test – sowie auch oftmals nicht von einem zum anderen Labor – übertragbar. Zum Teil sogar auch dann, wenn die Laboratorien mit derselben Nachweismethode arbeiten (Brill-Edwards und Lee 1999).

Giavarina et al. bezeichnen 2001 die Übertragung von DDIM-Werten von einem Labor zum nächsten als „falsche und gefährliche Praktik“ (Giavarina et al. 2001).

#### 4.8.1.3 Unterschiedlicher Einsatz von Antikörpern

Manche Verfahren nutzen zur Bindung und Markierung der DDIM nur einen einzigen Antikörper, einige wenige verwenden zwei - im Sinne einer „Sandwichmethode“. Die Methoden unterscheiden sich im Funktionsprinzip und in den Eigenschaften der verwendeten monoklonalen Antikörper, die spezifisch für DDIM sind, das Antigen jedoch an unterschiedlichen Epitopen detektieren. Aktuell werden zahlreiche verschiedene Antikörper unterschiedlicher Spezifität und Kombination in den verfügbaren Tests eingesetzt.

Die verschiedenen monoklonalen Antikörper besitzen unterschiedliche Reaktivitäten gegen die DDIM, was eine unterschiedliche Kalibration der Methoden zur Folge hat. Ein Ergebnis ist demnach nicht mit dem eines anderen Herstellers bzw. Labors vergleichbar.

## 4.8.2 Unterschiedliche Sensitivität der Testsysteme

Tabelle 33: Ursachen der Variabilität von DDIM-Assays, aus: Reber G, de Moerloose P. D-dimer assay for the exclusion of venous thromboembolism. *Semin Thromb Haemost* 2000; 26 (6): 620.

### Ursachen der Variabilität von D-Dimer-Assays

- Heterogenität der Fibrindegredationsprodukte
- Spezifität der Antikörper
- Kombination der Antikörper
- Kalibratoren
- Design (Format/ Aufmachung) des Assay-Systems
- Genauigkeit der Signalerfassung

Aus den genannten Gründen resultiert eine unterschiedliche Sensitivität und Spezifität bezüglich echt positiver und echt negativer Resultate. Ein DDIM unterhalb des testspezifischen Grenzwertes (cut-off) schließt eine TVT mit hoher Wahrscheinlichkeit aus. „Die numerischen Grenzwerte unterscheiden sich jedoch zwischen den verschiedenen D-Dimer-Antigen-Tests aufgrund der unterschiedlichen Kalibrierungen“ (Dempfle 2005).

1987 führten Heaton et al. bei 62 Patienten mit V. a. eine TVT eine venöse Sonographie durch und bestimmten zudem die DDIM (Heaton et al. 1987). Dabei zeigte der eingesetzte ELISA eine höhere Sensitivität als die beiden Latex-Tests. Heute liegen die vollautomatisierten Latexagglutinationen mit den ELISAs gleichauf. Heaton et al. hatten für ihre Untersuchung einen niedrigen cut-off von 200 µg/l gesetzt.

„Die niedrigste Sensitivität wurde bei einem handelsüblichen ELISA berichtet, bei dem der cut-off auf 250 ng/ml (Mossaz et al. 1990) bzw. 270 ng/ml (van Bergen et al. 1989) gesetzt worden war“ (Sié 1995). Wird dieser Grenzwert auf 400 ng/ml angehoben (Rowbotham et al. 1987), so bleibt die Sensitivität gleich hoch – bei ca. 98% - die Spezifität erhöht sich jedoch deutlich – von 6% auf 35%.



**Tabelle 34: Kumulative Sensitivitäten und Spezifitäten verschiedener DDIM-Nachweismethoden (angegeben als Median und Range); modifiziert nach Di Nisio et al. (2007) und Dempfle et al. (2006), aus: Tsakiris DA: D-Dimere. Schweiz Med Forum 2008; 8:109.**

Test (Anzahl Studien)	TVT Sensitivität	TVT Spezifität	LE Sensitivität	LE Spezifität
ELISA				
Asserachrom (24)	94 (83–98)	47 (29–65)	96 (80–99)	44 (21–69)
ELISA Membran				
Nycocard (23)	88 (68–96)	50 (31–68)	91 (64–98)	47 (23–72)
Cardiac Reader (1)	96 (CI%, 92–99)	61 (CI%, 55–67)	–	–
ELFA				
VIDAS (40)	96 (93–98)	44 (36–52)	97 (91–99)	41 (26–57)
Latex quantitativ				
Tinaquant (12)	92 (75–98)	53 (32–73)	94 (71–99)	50 (23–76)
STA-lia-Test (25)	94 (83–98)	46 (28–64)	96 (80–99)	43 (20–68)
Vollblut-Methode				
SimpliRed (40)	82 (59–93)	72 (56–84)	86 (43–97)	70 (44–87)

Generell wurde eine DDIM-Konzentration von 500 µg/l bzw. 500 ng/ml als Grenzwert festgelegt, da über diesem cut-off die meisten Methoden die höchstmögliche Sensitivität und Spezifität erreichen (Di Nisio et al. 2007).

„Bei einigen Testsystemen wurde dieser Cut-off-Wert herabgesetzt, um einen brauchbaren negativ prädiktiven Wert zu erreichen, dies aber auf Kosten der Ausschlusskapazität und somit der Wirtschaftlichkeit“ (Tsakiris 2008) – da mehr positive Werte gemessen wurden.

#### 4.8.2.1 Einfluss des verwendeten Patientenkollektivs

Ebenfalls Einfluss auf die Testeigenschaften Sensitivität und Spezifität nimmt das jeweilige Patientenkollektiv. So weisen z.B. ältere Patienten höhere DDIM auf als jüngere (Masotti et al. 2000). Bei stationären Patienten werden aufgrund zusätzlicher Krankheitszustände häufiger hohe DDIM gemessen als bei Patienten, die sich in Arztpraxen vorstellen (Chapman et al. 1990, van Beek et al. 1996, Miron et al. 1999, Tsakiris 2008). Die diagnostische Spezifität der DDIM für den Ausschluss einer VTE ist geringer, wenn sich in einem Kollektiv viele Patienten mit einer Gerinnungsaktivierung anderer Ursache (Brotman et al. 2003) oder viele postoperative Patienten befinden (Meythaler et al. 2003), da dann die DDIM ohnehin bereits über dem Normalwert liegen.

Die Variabilität der Kollektive und der Methoden erfordert ein in großen Studien validiertes Testsystem. Eine Analyse von kumulativen Daten aus 217 Studien z. A. einer TVT und von 111 Studien z. A. einer LE bestätigte, dass die Immunfluoreszenz (ELFA), der Mikroplatten-ELISA sowie die quantitativen Latex-Methode hinsichtlich der Sensitivität die besten Ergebnisse lieferten (Tsakiris 2008), d.h. sie erlauben die sicherste Aussage darüber, welcher Patient „richtig positiv“ ist. Für den Ausschluss einer LE besitzen die photometrischen Immunoassays mit Latexpartikeln und die automatisierte ELISAs eine hohe Sensitivität (Brown et al. 2003, de Moerloose et al. 1996, Dunn et al. 2002, Perrier et al. 1999 und 2001).

#### 4.8.3 Fazit

Die DDIM sind noch kein standardisierter Parameter. Jeder Testhersteller benutzt gegenwärtig einen Test, der zwar hochspezifisch für den Nachweis ist, jedoch eine spezielle Gerätecharakteristik besitzt und eine eigene Kalibratoren mit eigenem cut-off verwendet. Bei der Interpretation der Ergebnisse ist zu bedenken, dass es keine numerische Übereinstimmung zwischen den einzelnen Testverfahren gibt.

„Dies gilt insbesondere auch für den Grenzwert zum Ausschluss einer Thrombose oder Lungenembolie“ (Dempfle 2005).

„Für den Ausschluss einer TVT wird ein einziger cut-off benötigt, und dieser Wert hängt sehr vom verwendeten System ab. Das bedeutet, dass Resultate nicht von einem auf ein anderes System übertragen werden können“ (Reber und de Moerloose 2000).

Es wäre von Vorteil, wenn zukünftig eine gemeinsame DDIM-Kalibration definiert würde, so dass sich Messwerte vergleichen ließen. Dies wird allerdings dadurch erschwert, „dass es sich bei dem gemessenen D-Dimer-Antigen nicht um einen singulären Analyten sondern um ein Gemisch von Fibrinderivaten unterschiedlichen Molekulargewichts handelt (Gaffney und Edgell 1995, Dempfle 2005). Die zu findende Substanz kann also nicht exakt definiert werden.

2005 führte das Coagulation Resource Committee des College of American Pathologists (CAP) eine Umfrage durch, die sich an Laboratorien bezüglich deren DDIM-Bestimmungsmethoden richtete. Man fand heraus, dass 75% der 2018 Labore die DDIM z. A. einer VTE bestimmen. Unter diesen wurden 11 verschiedene Methoden verwendet: quantitative, semiquantitative und Vollblut-Point-of-Care-Methoden.

59% berichten die Konzentration in FEU und 41% in D-DU(D-Dimer-Units), wobei acht verschiedene Kombinationen zur Angabe der Einheit gezählt wurden:  $\mu\text{g/l}$  FEU,  $\text{ng/ml}$  D-DU etc. Überdies nutzten 39% der Laboratorien einen cut-off-Wert über dem vom Hersteller empfohlenen. Auch insofern entsteht eine Vielzahl nicht übertragbarer Ergebnisse bei derselben Patientin.

„Standardisierung oder zumindest Harmonisierung der D-Dimer-Tests ist notwendig, um die Vergleichbarkeit der D-Dimer-Plasmaspiegel (...) zu gewährleisten“ (Spannagl et al. 2005).

#### 4.8.4 Versuch der Standardisierung

Für die „Vorläufersubstanz“ der DDIM, das Fibrinogen, existiert seit 2006 ein internationaler Standard von 500  $\text{mg/dl}$ , der u.a. in unserem Labor entwickelt wurde (Weinstock und Ntefidou 2006). Das Referenzmaterial ist für den internationalen Einsatz mit unterschiedlichen Fibrinogen-Messtechniken geeignet. Allerdings ist Fibrinogen ein eindeutig strukturiertes Molekül und keine heterogene Analytgruppe wie die DDIM.

Schon 1993 unternahm das “Subcommittee on Fibrinogen of Scientific and Standardization Committee” der ISTH einen Versuch zur internationalen Standardisierung, in dem als Kalibrator gereinigte DDIM verwendet wurden (Meijer et al. 2006). Sämtliche verschiedenen Kalibratoren sollten anschließend ins Verhältnis zu diesem vorbereiteten Kalibrator gesetzt werden, was allerdings keine zufriedenstellenden, reproduzierbaren Ergebnisse lieferte.

1995 analysierten Gaffney und Edgell die Immunoreaktivität dreier kommerzieller Antikörper gegenüber X-Oligomeren, die unterschiedlich vorbereitet wurden - mit dem Ergebnis, dass dieses Material nicht zur Standardisierung verschiedener Tests geeignet ist (Gaffney und Edgell 1995).

Das “Subcommittee on Fibrinogen of Scientific and Standardization Committee” schlussfolgerte, dass eine Standardisierung der DDIM-Assays nicht möglich ist. (Meijer et al. 2006).

#### 4.8.5 Versuch der Harmonisierung

Eine vollständige Standardisierung scheint somit vorläufig unmöglich. Jedoch befassten sich einige Untersuchungen damit, per Umrechnungsfaktor zumindest eine Harmonisierung von Testergebnissen unterschiedlicher Methoden zu erzielen.

Nieuwenhuizen et al. führten im Namen des o.g. Subcommittees eine Studie durch, bei der ein Referenzmaterial zur Harmonisierung von DDIM-Tests hergestellt werden sollte, dass aus einem Plasmapool verschiedener Patienten mit einer DIC stammte (Nieuwenhuizen et al. 1997). Drei verschiedene Plasmapools wurden produziert und anschließend mit fünf ELISAs und einem Mikrolatex-Test gemessen. Die Mittelwerte für jeden der drei „Pools“ wurden bestimmt und anschließend zum Ergebnis aus jedem der sechs Teste ins Verhältnis gesetzt. Die Abweichung, die hierbei maximal 10% betrug, sollte einen Multiplikationsfaktor darstellen, um Ergebnisse zweier Tests miteinander vergleichen zu können, was sich auch als erfolgreiche Herangehensweise herausstellte – z.B. auch bei Adema und Gebert 1995.

Dieses Referenzmaterial kann also in Zukunft dabei helfen, die Ergebnisse verschiedener Teste miteinander zu vergleichen, auch wenn eine komplette Standardisierung noch nicht möglich ist. Allerdings ist diese aufwendige Herangehensweise für den Routineeinsatz eher ungeeignet und die verschiedenen numerische Werte der unterschiedlichen Tests bleiben zunächst erhalten (Reber und de Moerloose 2000).

In einer Studie von Meijer et al. wurden ebenfalls Plasmapools verschiedener DDIM-Konzentrationen angefertigt, die anschließend in 449 Laboratorien mit verschiedenen Methoden gemessen wurden (Meijer et al. 2006). Das Modell zur Harmonisierung zweier Methoden, die miteinander verglichen werden, basierte auf einer Relation der linearen Regressionsgeraden eines Testsystems zu einer linearen Regressionsgeraden durch die gesamten Mediane beider Testsysteme.

Solche mathematische Modelle, die Teste miteinander vergleichbar machen sollten, haben bislang allerdings noch keinen Konsensus erzielt (Righini 2008).

## **4.9 Methodenvergleich**

### **4.9.1 Unterschiedliche D-Dimer-Konzentrationen bei derselben Patientin**

Bei einem Großteil der Studien zur Ermittlung von Referenzbereichen der DDIM in der Schwangerschaft, wie z.B. der von Giavarina et al. 2001, Hannemann-Pohl et al. 2005, Szecsi 2010 oder Hansen et al. 2011, wurde zur Bestimmung der DDIM-Konzentration nur eine einzige Testmethode eingesetzt, was - wie vorangehend erwähnt - aufgrund mangelnder Standardisierung der Testsysteme den Vergleich mit anderen Methoden erschwert.

In der aktuellen Studie fand die DDIM-Bestimmung parallel mit drei marktführenden Testsystemen verschiedener Hersteller statt. Dabei wurde die unterschiedliche DDIM-Konzentration bei derselben Patientenprobe bestätigt. Aus diesem Grund sind dreimalig Referenzbereiche ermittelt worden (siehe Tabelle 27).

Die niedrigste Konzentration der DDIM wurde per Tina-quant gemessen. Mit dem Test INNOVANCE wurden höhere und mit HemosIL die höchsten Konzentrationen gemessen (z. B. siehe Abbildung 29).

Im Folgenden schließt sich eine Regressionsanalyse sowie eine Gegenüberstellung der Resultate der drei Testsysteme in Bland-Altman-Diagrammen an.

## 4.9.2 Regressionsanalyse und Bland-Altman-Plots

### 4.9.2.1 Lineare Regression

Die Abbildungen 35 bis 37 zeigen die Gegenüberstellung der Ergebnisse im Streudiagramm - im Sinne einer Regressionsanalyse. Die Regressionsgerade ist jeweils rot und die „line of equality“, welche der Geraden der Übereinstimmung aller Ergebnisse entspricht, grün dargestellt.

Zunächst wurde der Test Tina-quant ins Verhältnis zu INNOVANCE gesetzt. Die Methoden zeigen eine hohe Korrelation nach Kendels Tau ( $T = 0,834$ ). Auch Tina-quant und HemosIL ( $T = 0,838$ ) sowie INNOVANCE und HemosIL ( $T = 0,875$ ) weisen zueinander eine hohe Korrelation und somit einen starken linearen Zusammenhang der Messwerte auf. Wobei in den Abbildung 35 und 36 anhand der Beziehung der Regressionsgeraden zur „line of equality“ auffällt, dass die Gesamtheit der Messwerte zugunsten des INNOVANCE (in Abbildung 35) bzw. des HemosIL (Abbildung 36) verschoben ist. Diese beiden Tests messen bei jeweils derselben Patientin deutlich höhere DDIM-Konzentrationen als der Tina-quant. Abbildung 37 verdeutlicht die enge Beziehung der Messwerte von INNOVANCE und HemosIL. Hier werden mit beiden Tests nahezu gleich hohe Werte messen – allerdings liegen sie beim HemosIL insgesamt ein wenig höher.

Um wieviel Prozent genau die ermittelten Werte durchschnittlich voneinander abweichen soll im folgenden Kapitel anhand von Bland-Altman-Diagrammen eruiert werden.

#### 4.9.2.2 Bland-Altman-Plots

Die Abbildungen 38 bis 40 stellen Streudiagramme als sogenannte Bland-Altman-Plots dar, die der Beurteilung der Übereinstimmung von Messmethoden dienen. Aufgetragen wurde für jeden Messwert der Mittelwert beider Methoden (x-Achse) gegen die Differenz beider Methoden (y-Achse). Zu erwähnen ist, dass die Streuung der Daten mit wachsender DDIM-Konzentration zu stark anstieg. Um eine gleichmäßigere Variabilität über den gesamten Wertebereich zu erhalten und zur besseren graphischen Darstellung, wurde die Gesamtheit der Daten zur Basis 10 logarithmiert. Die rote Gerade gibt jeweils die mittlere Differenz beider Methoden wieder. Die violetten Hilfslinien wurden nach Addition bzw. Subtraktion der 1,96fachen Standardabweichung beider Methoden errechnet. Sie stellen somit die Übereinstimmungsgrenzen („limits of agreement“) dar und markieren den 95%-Vertrauensbereich (Konfidenzintervall) der Daten.

In Abbildung 38 liegt die untere Grenze der Differenzen der Methoden ( $\log_{10}$  INNOVANCE-  $\log_{10}$  Tina-quant) bei - 0,00045 und die obere Grenze bei 0,42299. Nach Zurückführen der Ergebnisse per Exponentialfunktion ergeben sich: 0,99 und 2,65. Somit werden per INNOVANCE in 95% der Fälle Werte gemessen, die ca. 1% niedriger bis ca. 165% höher liegen als Werte per Tina-quant. Die mittlere Differenz der Methoden beträgt 0,20923 ( $\log_{10}$  INNOVANCE-  $\log_{10}$  Tina-quant). Demnach werden per INNOVANCE durchschnittlich um 62% höhere Werte als mit Hilfe des Tina-quant gemessen.

In Abbildung 39 liegen die Übereinstimmungsgrenzen bei 0,06123 bzw. 0,50191- und die mittlerer Differenz bei 0,28157. Daraus wurde abgeleitet, dass der HemosIL bei 95% der Proben Werte liefert, die ca. 15% bis 218% höher liegen als beim Tina-quant. Im Durchschnitt werden mit dem HemosIL um 91% höhere Werte als mit dem Tina-quant ermittelt.

Laut Abbildung 40 werden per HemosIL in 95% der Fälle Werte gemessen, die um 22% niedriger ( $\log_{10}$  HemosIL -  $\log_{10}$  INNOVANCE = - 0,10718) bis 79% höher (0,25186) liegen als beim INNOVANCE. Durchschnittlich werden mit diesem Test um 18% (0,07234) höhere Werte als per INNOVANCE ermittelt.

Folglich liegen die Werte von HemosIL und INNOVANCE nahe beieinander, während sie bei HemosIL und Tina-quant am weitesten voneinander abweichen.

### 4.9.3 Fazit

Wie unter Punkt 4. 5. 6. erwähnt, haben ab folgenden SSW über 50% der Patientinnen DDIM-Werte über dem cut-off von 500 µg/l: SSW 15 beim HemosIL, SSW 17 beim INNOVANCE und SSW 24 beim Tina-quant (siehe Tabelle 22).

Per HemosIL werden bei 95% der Proben im Durchschnitt um 91% höhere DDIM-Konzentrationen als per Tina-quant ermittelt (siehe Punkt 4. 9. 2. 2.).

Demzufolge sind, setzt man denselben cut-off ein, salopp ausgedrückt beim Tina-quant die Patientinnen im Verlauf der Schwangerschaft „länger gesund“ als beim HemosIL. Werden die DDIM bei einer schwangeren Frau mit dem Tina-quant bestimmt, so wird eine geringere Konzentration von DDIM zu erwarten sein als bei einer Bestimmung per HemosIL. Diese Erkenntnis ist gerade bei DDIM-Konzentrationen rund um den cut-off von 500 µg/l – dem Entscheidungsbereich z. A. eines thromboembolischen Ereignisses – bedeutsam. Messungen, die per HemosIL erfolgen, werden laut den aktuellen Ergebnissen zu einem früheren Zeitpunkt weitere diagnostische Maßnahmen z. A. einer VTE nach sich ziehen als beim Tina-quant.

Jedoch kann nach dieser Erkenntnis nicht geschlussfolgert werden, der eine Test sei besser als der andere. Aufgrund mangelnder Standardisierung der DDIM erhält man bei derselben Patientin mit verschiedenen Tests unterschiedliche Werte. Alle drei Testsysteme schließen mit hoher Sicherheit bis zum vom Hersteller festgelegten cut-off von 500 µg/l eine VTE aus (siehe Kapitel 2. 2. 3). Für alle drei Testsysteme denselben cut-off von 500 µg/l einzusetzen ist anhand der aktuellen Ergebnisse und der hohen Abweichung der Werte zwischen Tina-quant und HemosIL jedoch fraglich.

Die Ergebnisse legen die Vermutung nahe, beim INNOVANCE und v. a. beim HemosIL ließen sich z. A. thromboembolischer Ereignisse bei schwangeren Patientinnen höhere cut-offs als 500 µg/l einsetzen. Offen bleibt, ob sich dadurch die Sensitivität der Tests in zu hohem Maß verringern würde. Chan et al. hielten bereits 2010 fest, die Spezifität von DDIM-Bestimmungsmethoden könne, ohne Beeinträchtigung der Sensitivität, durch die Verwendung höherer cut-off-Werte verbessert werden (Chan et al. 2010). Dies wurde in einer Studie festgestellt, bei der die DDIM bei Schwangeren mit V.a. TVT mit Hilfe von zwei ELISAs und drei Latexagglutinations-Methoden bestimmt wurden. „Eine Bestätigung wird in prospektiven Studien noch benötigt.“ (Chan et al. 2010).



#### 4.10 Schlussfolgerung

Die vorliegende Studie diente der Etablierung von Referenzbereichen der DDIM-Konzentration für gesunde Patientinnen mit komplikationsloser Schwangerschaft. Zu diesem Zweck wurden die DDIM mit drei marktführenden Tests gemessen (siehe Tabelle 35). Die ermittelten Referenzbereiche (2,5. bis 97,5. Perzentile) sollen zukünftig den behandelnden Klinikern eine Orientierungshilfe liefern, ob der DDIM-Wert einer Patientin im Hinblick auf das entsprechenden SSW-Intervall als noch normal bzw. als im Vergleich zur Referenzgruppe zu hoch eingestuft wird bzw. ab welchem Wert weitere diagnostische Maßnahmen ergriffen werden sollten.

**Tabelle 35: Ermittelte Referenzbereiche der drei Testsysteme**

	Tina-quant		INNOVANCE		HemosIL	
SSW	Perzentilen		Perzentilen		Perzentilen	
	2,5.	97,5.	2,5.	97,5.	2,5.	97,5.
<b>5 - 12</b>	51	785	141	1188	91	1421
<b>13 - 20</b>	109	899	216	1211	277	1379
<b>21 - 28</b>	245	1333	383	1626	456	1941
<b>29 - 36</b>	282	2040	490	2973	611	3419
<b>29 - 32</b>	290	1774	467	2631	519	3170
<b>33 - 36</b>	278	2244	507	3187	645	3604

Es konnte – v.a. im letzten Schwangerschaftstrimester - ein zunehmender Anstieg der DDIM nachgewiesen werden, dessen Ursache weiterhin ungeklärt bleibt (siehe Kapitel 4.5.2).

Sechs Patientinnen erlitten im Verlauf dieser Studie eine sonographisch gesicherte TVT. Bei allen sechs waren – im Vergleich zur Gruppe derselben SSW - deutlich erhöhte DDIM gemessen worden, die teilweise Werte bis über das 60fache des Medians der entsprechenden SSW-Gruppe lieferten. Auffällig war, dass ein Großteil der übrigen 1022 Frauen hohe DDIM aufwiesen – ohne Nachweis einer TVT. Gegen Ende der Schwangerschaft, ab SSW 24, hatten über 50% der gesunden Frauen



Werte oberhalb des cut-offs von 500 µg/l z. A. einer VTE - egal mit welchem Testsystem gearbeitet wurde. Bei keiner dieser Patientinnen gab es Hinweise auf ein thromboembolisches Ereignis.

Ein Großteil gesunder Schwangerer weist demzufolge hohe DDIM-Konzentrationen auf. Allerdings können deutlich über den Referenzbereich angestiegene DDIM mit Komplikationen verbunden sein und für eine stattgehabte VTE sprechen.

Aufgrund unterschiedlicher Testergebnisse wurden nicht nur ein Referenzbereich sondern drei ermittelt (siehe Tabelle 35). Der HemosIL lieferte bei derselben Patientin die höchsten DDIM-Werte, der Tina-quant die niedrigsten. Der cut-off z. A. einer VTE liegt derzeit bei allen drei Tests bei 500 µg/l. Ungeklärt bleibt, ob dieser z. B. beim HemosIL nicht höher angesetzt werden könnte, oder ob dies einen zu gravierenden Sensitivitätsverlust nach sich zöge. Diese neuen Grenzwerte müssten test-spezifisch noch etabliert werden.

Da aufgrund mangelnder Standardisierung der DDIM ein direkter Vergleich der Ergebnisse verschiedener Testsysteme derzeit nicht möglich ist, sollte jedes Resultat nach seiner Bestimmungsmethode testspezifisch beurteilt werden. Die Höhe der DDIM-Konzentration muss nach wie vor im Zusammenhang mit der Anamnese, der klinischen Symptomatik und anderen Untersuchungsergebnissen interpretiert werden. Auch wenn die DDIM aktuell im Referenzbereich liegen, so könnte ungeachtet dessen ein thromboembolisches Ereignis stattgefunden haben, wenn die DDIM bei einer Voruntersuchung wesentlich niedriger waren – es also zu einem starken Anstieg innerhalb des Referenzbereichs kam (Harris und Yasaka 1983). Laut Harris und Yasaka 1983 sei eine VTE in diesem Fall zwar unwahrscheinlich jedoch nicht ausgeschlossen. Es sollten sich weitere diagnostische Maßnahmen anschließen, da der individuelle Vorwert von Bedeutung sei (Harris und Yasaka 1983).

Referenzbereiche dienen als Hilfe zur Entscheidung weiterer klinischer Maßnahmen, sie stellen selbst keine Diagnose dar. Aufgrund der mangelnden Standardisierung sollte zur besseren Interpretation der Dynamik im Verlauf die Bestimmung der DDIM-Konzentration bei derselben Patientin stets im selben Labor mit derselben Methode erfolgen. Fällt zwischen der DDIM-Konzentration und der klinischen Symptomatik eine Diskrepanz auf, so sind nach Ausschluss einer VTE auch testassoziierte Ursachen wie interferierende Substanzen für die DDIM-Erhöhung zu erörtern.

DDIM, richtig interpretiert im Algorithmus mit Anamnese und Wells-Score, sind ein entscheidender Marker z. A. eines thromboembolischen Ereignisses. Ungeachtet ihres Anstiegs könnten sie auch in der Schwangerschaft von solchem Nutzen sein. Allerdings ist bei Schwangeren die Vortestwahrscheinlichkeit weniger gut zu bestimmen, da einige physiologische Symptome und Symptome einer VTE in dieser Zeit ähnlich sind. Die Dopplersonographie bleibt nach wie vor der Goldstandard zum Ausschluss bzw. zum Nachweis einer TVT und die CT der Goldstandard zur Diagnostik der LE.

#### **4.11 Ein Ausblick in die Zukunft**

Die aktuell ermittelten Referenzbereiche der SSW-Intervalle (2,5. bis 97,5. Perzentile) sollten für die drei verwendeten Testsysteme, zur besseren Interpretation der Daten, zukünftig Teil der testspezifischen Informationen der Packungsbeilagen sein.

Weiterführende Untersuchungen hinsichtlich der Konzentration von DDIM bei schwangeren Patientinnen sind erforderlich. Möglicherweise könnte der cut-off z. A. einer VTE höher gesetzt werden. Notwendig wäre dazu auch eine Vergleich einer großen Anzahl gesunder Schwangerer mit einer ähnlich großen Gruppe schwangerer Patientinnen, bei denen thromboembolische Komplikationen aufgrund von bekannten Gerinnungsstörungen bzw. bereits anamnestisch stattgehabten Thrombosen bzw. Embolien aufgetreten sind. Möglich wäre, die Patientinnen anhand der Symptomatik und bzw. oder des Wells-Scores in verschiedene Risikogruppen einzuteilen. Zu untersuchen wäre die Höhe der DDIM beider Gruppen im Verlauf der Schwangerschaft bzw. der Unterschied dieser DDIM-Konzentrationen zwischen den einzelnen Gruppen. Parallel dazu empfiehlt sich die dopplersonographische Kontrolle des Ausschlusses bzw. des Nachweises einer TVT in beiden Gruppen.

Darüber hinaus sollte die DDIM-Bestimmung bis in die 40. SSW sowie auch um den Entbindungstermin herum stattfinden, da zu dieser Zeit höherer DDIM-Werte sowie auch ein höheres Thromboserisiko zu erwarten sind.

Durch höhere cut-offs, die sich an den ermittelten Referenzbereichen orientieren und mit großer Wahrscheinlichkeit eine VTE noch ausschließen, könnten Kosten gespart werden, da sich weitere diagnostische Maßnahmen zukünftig seltener als bisher anschließen würden.

## 5. Zusammenfassung

### Einleitung

D-Dimere (DDIM) sind Fibrinolyseprodukte, die beim Abbau von quervernetztem Fibrin entstehen. Erhöhte Konzentrationen im Blutplasma sind Ausdruck einer verstärkten Aktivierung des Gerinnungs- und Fibrinolyse-Systems wie sie bei venösen Thromboembolien nachgewiesen wurde. Ebenfalls einen Zustand erhöhter Hyperkoagulabilität stellt die Schwangerschaft dar. Im Rahmen physiologischer Veränderungen steigen die DDIM in dieser Zeit kontinuierlich an. Referenzbereiche hinsichtlich der DDIM-Konzentration beruhen weitestgehend auf Messungen bei nicht-schwangeren Patientinnen. Bisher existiert keine ausreichende Datenlage bezüglich der Konzentration der DDIM bei gesunden, werdenden Müttern.

Die aktuelle Studie dient der Etablierung von Referenzbereichen der DDIM-Plasmakonzentration im Verlauf der komplikationslosen Schwangerschaft.

Darüber hinaus werden die Ergebnisse dreier marktführender DDIM-Nachweismethoden miteinander verglichen.

### Material und Methodik

Untersucht wurden 1075 Heparinplasmaproben schwangerer Patientinnen von SSW 5 bis 36. Das Material erreichte unser Labor im Rahmen der Routineuntersuchungen zur Mutterschaftsvorsorge. Die Studie wurde gemäß den Bestimmungen der Ethikkommission durchgeführt, deren Genehmigung vorliegt.

Nach Zentrifugation der Proben wurden die Plasmaaliquots bei - 20°C tiefgefroren. Drei Monate danach wurden die DDIM mit Hilfe dreier Latex-agglutinations-Methoden bestimmt: Tina-quant D-Dimer Gen. 2 (D-DI2) von Roche Diagnostics GmbH auf dem Analysegerät Modular analytics P, INNOVANCE D-Dimer von SIEMENS Healthcare Diagnostics Products GmbH auf dem Gerät BCS XP sowie HemosIL D-Dimer HS 500 von Instrumentation Laboratory auf dem ACL Top. Alle drei Methoden weisen denselben cut-off von 500 µg/l z. A. einer VTE auf.

Zur Ermittlung der Referenzbereiche wurden die einzelnen SSW- orientiert an den Schwangerschaftstrimestern - zu Intervallen zusammengefasst.

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe von JMP Statistical Discovery Software Version 3.2.1. und WinSTAT Version 2009.1.

## Ergebnisse

Sechs Patientinnen mussten aufgrund einer dopplersonographisch gesicherten TVT aus der Studie ausgeschlossen werden. 47 Proben lieferten unplausible Messwerte, die von den Ergebnissen der jeweils anderen beiden Tests erheblich abwichen. Auch die Resultate dieser Proben flossen nicht in die Berechnung ein, so dass 1022 Proben zur weiteren Analytik verblieben.

Der bereits bekannte, physiologische Anstieg der DDIM – vor allem im letzten Trimester – bestätigte sich.

Dabei wurden mit Hilfe der drei Tests unterschiedlich hohe DDIM-Konzentrationen bei einundderselben Patientin gemessen. Die höchsten Werte wurden per HemosIL, die niedrigsten per Tina-quant bestimmt - wobei der HemosIL und der INNOVANCE etwa gleich hohe Werte liefern und der HemosIL durchschnittlich um 91% höhere Ergebnisse aufwies als der Tina-quant. Aus diesem Grund wurden dreifach Referenzbereiche, von der 2,5. bis 97,5. Perzentile der Resultate, ermittelt.

Für die SSW-Intervalle ergaben sich dabei folgende DDIM-Referenzbereiche in µg/l:

	Tina-quant		INNOVANCE		HemosIL	
SSW	Perzentilen		Perzentilen		Perzentilen	
	2,5.	97,5.	2,5.	97,5.	2,5.	97,5.
<b>5 - 12</b>	51	785	141	1188	91	1421
<b>13 - 20</b>	109	899	216	1211	277	1379
<b>21 - 28</b>	245	1333	383	1626	456	1941
<b>29 - 36</b>	282	2040	490	2973	611	3419
<b>29 - 32</b>	290	1774	467	2631	519	3170
<b>33 - 36</b>	278	2244	507	3187	645	3604

Die ermittelten Werte sollen den behandelnden Ärzten als Orientierungshilfe dienen, ob der DDIM-Wert einer Patientin hinsichtlich der Referenzgruppe desselben SSW-Intervalls als noch normal bzw. als zu hoch eingestuft wird.

## **Diskussion**

Unterschiedliche Testsysteme liefern bei derselben Patientin unterschiedliche DDIM-Werte. Da die DDIM aufgrund ihrer Heterogenität, der unterschiedlichen Kalibration der Analysegeräte sowie der verschiedenen Nachweisverfahren bisher keine standardisierten Parameter sind, ist ein direkter Vergleich der Ergebnisse verschiedener Systeme derzeit nicht möglich. Die DDIM-Konzentration sollte bei derselben Patientin stets im selben Labor mit derselben Methode durchgeführt werden. Fällt zwischen der DDIM-Höhe und der klinischen Symptomatik eine Diskrepanz auf, so sind nach dem Ausschluss einer VTE auch testassoziierte Ursachen wie interferierende Substanzen zu erörtern.

Sechs Patientinnen erlitten im Verlauf dieser Studie eine sonographisch gesicherte TVT. Bei allen sechs wurden deutlich erhöhte DDIM gemessen, die teilweise Werte bis über das 60fache des Medians der entsprechenden SSW-Gruppe lieferten. Deutlich über den Referenzbereich angestiegene DDIM können folglich mit Komplikationen verbunden sein und für ein thromboembolisches Ereignis sprechen.

Auffällig war, dass ein Großteil der übrigen 1022 Frauen hohe DDIM aufwiesen – ohne Nachweis einer TVT. Gegen Ende der Schwangerschaft, ab SSW 24, hatten über 50% der gesunden Frauen Werte oberhalb des cut-offs von 500 µg/l z. A. einer VTE - egal mit welchem Testsystem gearbeitet wurde. Bei keiner dieser Patientinnen gab es Hinweise auf ein thromboembolisches Ereignis, welches jedoch nicht mit absoluter Sicherheit ausgeschlossen werden kann.

Ungeklärt bleibt, ob demzufolge der cut-off höher angesetzt werden könnte, oder ob dies einen zu gravierenden Sensitivitätsverlust nach sich zöge.

## **Ein Ausblick in die Zukunft**

Die DDIM könnten - ungeachtet ihres Anstiegs - auch in der Schwangerschaft z. A. eines thromboembolischen Ereignisses von Nutzen sein. Weitere Studien hinsichtlich der DDIM schwangerer Patientinnen sind erforderlich, um festzustellen, ob der cut-off z. A. einer VTE höher angesetzt werden könnte. Empfehlenswert wäre ein Vergleich der DDIM schwangerer Patientinnen mit Komplikationen wie TVT und bzw. oder LE im Vergleich zu gesunden Schwangeren als Kontrollgruppe. Weiterhin sollten die DDIM auch bis in die 40. SSW und darüber hinaus gemessen werden, da zu dieser Zeit mit besonders hohen Werten zu rechnen ist.

## Literaturverzeichnis

Adema E, Gebert U: Pooled patient samples as reference material for D-Dimer. *Thromb Res* 1995; 80: 85-8.

Aguilar C, Martinez A, Del Rio C, Vazquez M, Rodriguez FJ: Diagnostic value of d-dimer in patients with a moderate pretest probability of deep venous thrombosis. *Br J Haematol*. 2002 Jul;118(1):275-7.

Anderson DR, Kovacs MJ, Kovacs G, Stiell I, Mitchell M, Khoury V, Dryer J, Ward J, Wells PS: Combined use of clinical assessment and d-dimer to improve the management of patients presenting to the emergency department with suspected deep vein thrombosis (the EDITED Study). *J Thromb Haemost*. 2003 Apr;1(4):645-51.

Arya R: How I manage venous thromboembolism in pregnancy. *Br J Haematol*. 2011 Jun;153(6):698-708.

Barnes DM, Wakefield TW, Rechtenwald JE: Novel Biomarkers Associated with Deep Venous Thrombosis: A Comprehensive Review. *Biomark Insights*. 2008 Jan 21;3: 93-100.

Barthels M, Poliwoda H: Fibrinogen-/Fibrinospaltprodukte in: *Gerinnungsanalysen*. 6. Auflage, Thieme, Stuttgart 1998; 337- 343.

Bates SM, Kearon C, Crowther M, Linkins L, O'Donnell M, Douketis J, Lee AY, Weitz JI, Johnston M, Ginsberg JS: A diagnostic strategy involving a quantitative latex D-dimer assay reliably excludes deep venous thrombosis. *Ann Intern Med*. 2003 May 20;138(10):787-94.

Bauersachs RM, Lindhoff-Last E, Wolff U, Ehrly AM: Aktuelles Management de tiefen Venenthrombose. *Med Welt* , 1998; 49: 194-214.

Bellart J, Gilabert R, Fontcuberta J, Carreras E, Miralles RM, Cabero L: Coagulation and fibrinolysis parameters in normal pregnancy and gestational diabetes. *Am J Perinatol* 1998; 15: 479-486.

Bellart J, Gilabert R, Angeles A, Piera V, Miralles RM, Monasterio J, Cabro L: Tissue factor levels and high ratio of fibrinopeptide A: D-dimer as a measure of endothelial procoagulant disorder in pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 1999; 106: 594-7.

Bergqvist A, Bergqvist D, Hallbrook T: Deep vein thrombosis during pregnancy. A prospective study. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 1983; 62: 443-8.

Bertina R: Introduction: Hypercoagulable states. *Semin Hematol*, 1997; 34: 167-170.

Boneu B, Bes G, Pelzer H, Sié P, Boccalon H: D-dimers, thrombin antithrombin III complexes and prothrombin fragments 1+2: diagnostic value in clinically suspected deep vein thrombosis. *Thromb Haemost*, 1991; 65: 28-31.

Borrelli AL, De Lucia D, Bernacchi M, Napolitano M, Di Domenico A, Felicetti M, Ferrara C, Meo D, Raffio R, Rivetti A, Sessa M, Tagliaferri A, Torella M: Haemocoagulative modifications correlated with pregnancy. *Minerva Ginecol*. 2006 Aug;58(4):315-22.

- Bounameaux H, de Moerloose P, Perrier A, Reber G: Plasma measurement of D-dimer as diagnostic aid in suspected venous thromboembolism: an overview. *Thromb Haemost.* 1994 Jan;71(1):1-6.
- Bounameaux H, Perrier A: Diagnosis of pulmonary embolism: in transition. *Curr Opin Hematol.* 2006; 13 (5): 344-50.
- Brenner B, Hoffman R, Blumenfeld Z, Weiner Z, Younis JS: Gestational outcome in thrombophilic women with recurrent pregnancy loss treated by enoxaparin. *Thromb Haemost* 2000; 83: 693-7.
- Brenner B: Haemostatic changes during pregnancy. *Thromb Res* 2004; 114: 409-414.
- Breuer J; Report on the Symposium "Drug effects in clinical chemistry methods". *Eur J Clin Chem* 1996; 34: 385-6.
- Brill-Edwards P, Lee A: D-dimer testing in the diagnosis of acute venous thromboembolism. *Thromb Haemost* 1999; 82: 688-94.
- Brill-Edwards P, Ginsberg JS, Gent M, Hirsh J, Burrows R, Kearon C et al.: Safety of withholding heparin in pregnant woman without a history of venous thromboembolism. Recurrence of Clot in This Pregnancy Study Group. *N Engl J Med* 2000; 343: 1439-1444.
- Brozovic MA: Mechanisms of deep vein thrombus. *J R Soc Med*, 1979; 72: 602-5.
- Brotman DJ, Segal JB, JANI JT, Petty BG, Kickler T: Limitations of D-dimer testing in unselected inpatients with suspected venous thromboembolism. *Am J Med* 2003; 114: 276-282.
- Brown MD, Lau J, Nelson RD, Kline JA: Turbidimetric D-dimer test in the diagnosis of pulmonary embolism: a metaanalysis. *Clin Chem* 2003; 49: 1846-1853.
- Buccheri G, Ferrigno D, Ginardi C, Zuliani C: Haemostatic abnormalities in lung cancer: prognostic implications. *Eur J Cancer* 1997; 33: 50-5.
- Buccheri G, Torchio P, Ferrigno D: Plasma levels of D-dimer in lung carcinoma: clinical and prognostic significance. *Cancer* 2003; 97: 3044-3052.
- Cadroy Y, Grandjean H, Pichon J, Desprats R, Berrebi A, Fournie A, Boneu B: Evaluation of six markers of haemostatic system in normal pregnancy complicated by hypertension or pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 1993; 100: 416-420.
- Caliezi C, Reber G, Lammle B, de MP, Wuillemin WA: Agreement of D-dimer results measured by a rapid ELISA (VIDAS) before and after storing for 24 h or transportation of the original blood samples. *Thromb Haemost.* 2000; 83 (1): 177-8.
- Chabloz P, Reber G, Boehlen F, Hohlfeld P, de Moerlosse P: TAFI antigen and D-dimer levels during normal pregnancy and at delivery. *Br J Haematol* 2001; 115: 150-2.
- Chan WS, Chunilal S, Lee A, Crowther M, Rodger M, Ginsberg JS: A red blood cell agglutination D-dimer test to exclude deep venous thrombosis in pregnancy. *Ann Intern Med.* 2007 Aug 7; 147 (3): 165-70.

- Chan WS, Lee A, Spencer FA, Chunilal S, Crowther M, Wu W, Johnston M, Rodger M, Ginsberg JS: D-dimer testing in pregnant patients: towards determining the next 'level' in the diagnosis of deep vein thrombosis. *J Thromb Haemost.* 2010 May;8 (5): 1004-11. Epub 2010 Jan 30.
- Chapman CS, Akhtar N, Campbell S et al.: The use of D-dimer assay by enzyme immunoassay and latex agglutination techniques in the diagnosis of deep vein thrombosis. *Clin Lab Haematol* 1990; 12: 37-42.
- Chen H, Zhou L, Meng L, Liu M, Tan J, Gao L, Zhang J: Coagulation and prothrombotic state parameters: a clinical analysis during early pregnancy. *Ir J Med Sci.* 2011 Aug 2.
- Chunilal SD; Bates SM: Venous thromboembolism in pregnancy: diagnosis, management and prevention. *Thromb Haemost* 2009; 101: 428-438.
- Cini M, Legnani C, Cavallaroni K, Bettini F, Palareti G: A new rapid bedside assay for D-dimer measurement (Simplify D-dimer) in the diagnostic work-up for deep vein thrombosis. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 2681-3.
- Cushman M, Folsom AR, Wang L, Aleksic N, Rosamond WD, Tracy RP, Heckbert SR: Fibrin fragment D-dimer and the risk of future venous thrombosis. *Blood* 2003; 101: 1243-8.
- Dati F, Pelzer H, Wagner C: Relevance of markers of hemostasis activation in obstetrics/gynecology and pediatrics. *Semin Thromb Hemost* 1998; 24: 443-8.
- Dempfle CE, Hafner G, Lestin HG, Töpfer G, Adema E, Hubbuch A: Multizentrische Evaluierung von Tina-quant ® D-dimer. *J Lab Med* 1996; 20: 31-7.
- Dempfle CE: Bestimmung des D-Dimer-Antigens in der klinischen Routine. *Dtsch Arztebl* 2005; 102 (7): A- 428 / B- 361 / C- 336.
- Dempfle CE, Korte W, Schwab M, Zerback R, Huisman MV: Sensitivity and specificity of quantitative point of care D-dimer assay using heparinized whole blood, in patients with clinically suspected deep vein thrombosis. *Thromb Haemost* 2006; 96: 79-83.
- de Moerloose P, Desmarais S, Bounameaux H, Reber G, Perrier A, Dupuy G, Pittet JL: Contribution of a new, rapid, individual and quantitative automated D-dimer ELISA to exclude pulmonary thromboembolism. *Thromb Haemost* 1996; 75: 11-13.
- der Moerloose P, Palareti G, Aguilar C, Legnani C, Reber G, Peetz D: A multicenter evaluation of a new quantitative highly sensitive D-dimer assay for exclusion of venous thromboembolism. *Thromb Haemost* 2008; 100: 505-512.
- Diehm C: Thrombose in der Schwangerschaft. *Gefäßreport aktuell, Deutsche Gefäßliga e.V.*, 1/ 2010: 17.
- Di Nisio M, Suqizzato A, Rutjes AW, Buller HR, Zwinderman AH, Bossuyt PM: Diagnostic accuracy of D-dimer test for exclusion of venous thromboembolism: a systematic review. *J Thromb Haemost.* 2007; 5 (2): 296-304.



Dunn KL, Wolf JP, Dorfman DM, Fitzpatrick P, Baker JL, Goldhaber SZ: Normal D-dimer levels in emergency department patients suspected of acute pulmonary embolism. *J Am Coll Cardiol* 2002; 40: 1475-8.

Eichinger S, Stümpflen A, Hirschl M, Bialonczyk C, Herkner K, Stain M, et al. Hyperhomocysteinemia is a risk factor of recurrent venous thromboembolism. *Thromb Haemost* 1998; 80: 566-9.

Eichinger S, Weltermann A, Philipp K, Hafner E, Kaider A, Kittl EM, Brenner B, Mannhalter C, Lechner K, Kyrle P: Prospective evaluation of hemostatic system activation and thrombin potential in healthy pregnant women with and without factor V Leiden. *Thromb Haemost* 1999; 82: 1232-6.

Eichinger S, Minar E, Bialonczyk C, Hirschl M, Quehenberger P, Schneider B, Weltermann A, Wagner O, Kyrle PA: D-dimer levels and risk of recurrent venous thromboembolism. *JAMA* 2003; 290: 1071-4.

Eichinger S: D-Dimer testing in pregnancy. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2003/2004; 33: 327-9.

Eichinger S: Diagnostic issues of VTE in pregnancy. *Thromb Res* 2009; 123 (Suppl 2): 38-40.

Ellis DR, Eaton AS, Plank MC et al: A comparative evaluation of ELISAs for D-dimer and related fibrin(ogen) degradation products. *Blood Coag Fibrinolysis* 1993; 4: 537-549.

Elms MJ, Bunce IH, Bundesen PG, Rylatt DB, Webber AJ, Masci PP, Whittaker AN: Measurement of crosslinked fibrin degradation products- an immunoassay using monoclonal antibodies. *Thromb Haemost* 1983; 50: 591-4.

Elms MJ, Bundesen PG, Rowbury D et al.: Automated determination of cross-linked fibrin derivatives in plasma. *Blood Coag Fibrinolysis* 1993; 4: 159-164.

Epiney M, Boehlen F, Boulvain M, Reber G, Antonelli E, Morales M, Irion O, de Moerloose P: D-dimer levels during delivery and the postpartum. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 268-271.

Francalani I, Comeglio P, Liotta AA, et al.: D-dimer in intra-uterine growth retardation, and gestational hypertension. *Thromb Res* 1995; 80: 89-92.

Francalani I, Comeglio P, Alessandrello Liotta AA, et al.: D-dimer plasma levels during normal pregnancy measured by specific ELISA. *Int J Clin Lab Res* 1997; 27: 65-7.

Franchini M: Haemostasis and pregnancy. *Thromb Haemost* 2006; 95: 401-413.

Francis CW, Marder VJ: A molecular model of plasmic degradation of crosslinked fibrin. *Semin Thromb Hemost.* 1982 Jan;8(1):25-35.

Fünfsinn N, Caliezi C, Biasiutti FD, Korte W, Z'Brun A, Baumgartner I, Ulrich M, Cottier C, Lämmle B, Wuillemin WA: Rapid D-dimer testing and pre-test clinical probability in the exclusion of deep venous thrombosis in symptomatic outpatients. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2001 Apr; 12(3): 165-170.

Gaffney PJ, Lane DA, Kakkar VV, Brasher M: Characterisation of a soluble D dimer-E complex in crosslinked fibrin digests. *Thromb Res* 1975; 7: 89-99.

Gaffney PJ, Joe F: The lysis of crosslinked human fibrin by plasmin yields initially a single molecular complex, D dimer-E. *Thromb Res* 1979; 15: 673-687.

Gaffney PJ, Perry MJ: Unreliability of current serum fibrin degradation product (FDP) assays. *Throm Haemost*, 1985; 53: 301-2.

Gaffney PJ, Edgell TA: The International and "NIH" units for thrombin – how do they compare? *Thromb Haemost* 1995; 74: 900-3.

Gaffney PJ, Edgell TA, Creighton-Kempsford LJ et al.: Fibrin degradation products assays: analysis of standardization issues and target antigens in plasma. *Br J Haematol* 1995; 90: 187-194.

Giavarina D, Mezzana G, Dorizzi RM, Soffiati G: Reference interval of D-dimer in pregnant women. *Clin Biochem* 2001; 34: 331-3.

Gogstad GO, Dale S, Brosstad F et al.: Assay of D-dimer based on immunofiltration and staining with gold colloids. *Clin Chem* 1993; 30: 2070-6.

Grouven U, Bender R, Ziegler A, Lange S: Vergleich von Messmethoden (Artikel Nr.24 der Statistik-Serie in der DMW). *Dtsch Med Wochenschr* 2007; 132: e69-e73.

Guder W, Narayanan S, Wisser H, Zawta B: List of analytes; Preanalytical variables. Broschüre in: *Samples from Patients to Laboratories*. Darmstadt: GIT Verlag, 1996, 101 pp.

Hallbach J: Störfaktoren bei Immunoassays. In: *Klinische Chemie und Hämatologie für den Einstieg*. 2. Auflage, Stuttgart: Thieme Verlag, 2006, 73.

Hannemann-Pohl K, Stöckemann M, Kunstmann P, Knothe G, Michiels JJ, Kampf SC: D-Dimer-Konzentration: Wann ist sie pathologisch? Referenzbereiche für verschiedene Schwangerschaftsstadien. *FRAUENARZT* n 46 (2005): 198-201.

Hansen AT, Andreasen BH, Salvig JD, Hvas AM: Changes in fibrin D-dimer, fibrinogen, and protein S during pregnancy. *Scand J Clin Lab Invest*. 2011 Apr;71(2):173-6.

Harenberg J: Gerinnungsdiagnostik, in Rath W, Heilmann L: *Gerinnungsstörungen in der Gynäkologie und Geburtshilfe*, Thieme, Stuttgart 1999; 17-25.

Harris EK, Yasaka Y: On calculation of a "reference change" for comparing two consecutive measurements. *Clin Chem* 1983; 29: 25-30.

Hart R, Bate I, Dihn D et al.: The detection of D-dimer in plasma enzyme immunoassay: improved discrimination is obtained with more specific signal antibody. *Blood Coag Fibrinolysis* 1994; 5: 227-232.

Hawiger J, Niewiarowski S, Gurewich V, Thomas DP: Measurement of fibrinogen and fibrin degradation products in serum by staphylococcal clumping test. *J Lab Clin Med*. 1970 Jan; 75(1): 93-108.

Heaton DC, Billings JD, Hickton CM: Assessment of D dimer assays for the diagnosis of deep vein thrombosis. *J Lab Clin Med*. 1987 Nov; 110(5): 588-91.

Heijboer H, ten Cate JW, Büller HR: Diagnosis of venous thrombosis. *Semin Thromb Hemost*, 1991; 17: Suppl 3: 259-268.

Heim SW, Schectman JM, Siadaty MS, Philbrick JT: D-dimer testing for deep venous thrombosis: a metaanalysis. *Clin Chem*. 2004; 50 (7): 1136-47.

Heinrich F: Venenthrombosen und Lungenembolie in der Schwangerschaft und im Wochenbett. *Med Welt*, 2000; Suppl 1: 3-25.

Hellgren M: Hemostasis during normal pregnancy and puerperium. *Semin Thromb Hemost* 2003; 29: 125-130.

Hemker HC, Kahn MJ: Reaction sequence of blood coagulation. *Nature* 1967; 215: 1201-2.

Hemker HC, Poliwoda H: Theoretische Voraussetzungen – Der Mechanismus der Hämostase, in Barthels M, Poliwoda H: *Gerinnungsanalysen*, Thieme, Stuttgart 1993; 1-20.

Herold G et al.: Embolien, in *Innere Medizin*, Herold, Köln 2008; 770- 6.

Heyl W, Rath W, Heilmann L: Hämostaseveränderungen in der normalen Schwangerschaft, in Rath W, Heilmann L: *Gerinnungsstörungen in der Gynäkologie und Geburtshilfe*, Thieme, Stuttgart 1998; 115-9.

Heyl W, Rath W: Thromboembolische Erkrankungen in der Schwangerschaft nach Kaiserschnitt und Wochenbett, in Rath W, Heilmann L: *Gerinnungsstörungen in der Gynäkologie und Geburtshilfe*, 1.Auflage, Thieme, Stuttgart, New York 1999; 132-144.

Ho CH: Can very high levels of D-dimer exclusively predict the presence of thromboembolic diseases? *J Chin Med Assoc*. 2011 Apr; 74(4): 151-4.

Holvoet P, Stassen JM, Hashimoto Y et al.: Binding properties of monoclonal antibodies against human fragment D-dimer of cross-linked fibrin to human plasma clots in an in vivo model in rabbits. *Thromb Haemost* 1989; 61: 307-313.

Horowitz GL et al.: Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline – third edition CLSI document C28-A3. Clinical and laboratory institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2008.

Hull RD, Raskop GE, Carter CJ: Serial impedance plethysmography in pregnant patients with clinically suspected deep vein thrombosis. Clinical validity of negative findings. *Ann Intern Med*, 1990; 112: 663-7.

Huisman MV et al. for the Christopher Study Investigators: Effectiveness of managing suspected pulmonary embolism using an algorithm combining clinical probability, D-dimer testing, and computer tomography. *JAMA* 2006; 295:2, 172-9.

Hunt BJ, Doughty HA, Majumdar G, Copplestone A, Kerlake S, Buchanan N, Hughes G, Khamashta MI: Thromboprophylaxis with low molecular weight heparin (Fragmin) in high risk pregnancies. *Thromb Haemost* 1997; 77: 39-43.

Jackisch C, Schwenkhagen A, Budde T, Louwen F, Meschede D, Schober O: Interventionelle Therapie der Vena cava inferior-Thrombose in der Schwangerschaft – Einsatz eines neuartigen temporären Vena-cava-Filters. *Zentralbl Gynäkol*, 1995; 117: 181-9.

Janssen MC, Heebels AE, de Metz M, Verbruggen H, Wollersheim H, Janssen S, Schuurmans MM, Nováková IR: Reliability of five rapid D-dimer assays compared to ELISA in the exclusion of deep venous thrombosis. *Thromb Haemost*. 1997 Feb; 77(2): 262-6.

Jennersjö CM, Fagerberg IH, Karlander SG, Lindahl TL: Normal D-dimer concentration is a common finding in symptomatic outpatients with distal deep vein thrombosis. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2005 Oct; 16(7): 517-23.

John MA, Elms MJ, O'Reilly EJ et al.: The SimpliRed D-dimer test: a novel assay for the detection of cross-linked fibrin degradation products in whole blood. *Thromb Res* 1990; 58: 273-8.

Karami Djurabi R, Klok FA, Nijkeuter M, Kaasjager K, Kamphuisen PW, Kramer MH, Kruip MJ, Leebeek FW, Büller HR, Huisman MV: Comparison of the clinical usefulness of two quantitative D-dimer tests in patients with a low clinical probability of pulmonary embolism. *Thromb Res* 2009 Mar; 123(5): 771-4.

Kelly J, Hunt BJ: A clinical probability assessment and D-dimer measurement should be the initial step in the investigation of suspected venous thromboembolism. *Chest* 2003; 124: 1116-9.

Khalafallah A, Morse M, Dennis A: Comparative study between D-Dimer levels using Innovance and D-Dimer Plus in different stages of pregnancy with establishment of a reference range for Australian women. Poster presented at the XIXth International Congress on Fibrinolysis and Proteolysis, Vienna, Austria, 2008.

Kierkegaard A: Incidence and diagnosis of deep vein thrombosis associated with pregnancy. *Acta Obstet Gynaecol Scand* 1983; 62: 239-243.

Kobayashi T, Tokunaga T, Sugimura M, et al.: Coagulation/fibrinolysis disorder in patients with severe preeclampsia. *Semin Thromb Hemost* 1999; 25: 451-4.

Kovac M, Mikovic Z, Rakicevic L, Srzentic S, Mandic V, Djordjevic V, Radojkovic D, Elezovic I: The use of D-dimer with new cutoff can be useful in diagnosis of venous thromboembolism in pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2010 Jan; 148(1): 27-30.

Kraus M, Thomas L: Fibrin(ogen)spaltprodukte, D-Dimere, in Hämostasesystem, in Thomas L: Labor und Diagnose. 7. Auflage, TH-Books, Frankfurt/Main 2008, 884-8.

Kruip MJ, Slob MJ, Schijen JH, Van Der Heul C, Buller HR: Use of a clinical decision rule in combination with D-dimer concentration in diagnostic workup of patients with suspected pulmonary embolism: a prospective management study; *Arch Intern Med* 2002; 162: 1631-5.

Lalive PH, de Moerloose O, Lovblad K, Sarasin FP, Mermillod B, Sztajzel R: Is measurement of D-dimer useful in the diagnosis of cerebral venous thrombosis? *Neurology* 2003; 61: 1057-1060.

LeClerq LGL, Lusitan JG, Kooy MvM, Kuipers BF, Oostdijk AHJ, van de Leur JJCM, Builler HR: Ruling out clinically suspected pulmonary embolism by assessment of clinical probability and D-dimer levels: a management study. *Thromb Haemost* 2003; 89: 97-103.

Legnani C, Pancani C, Palareti G, Guazzaloca G, Fortunato G, Grauso F, Golfieri R, Gianpalma E, Coccheri S: Comparison of new rapid methods for D-dimer measurement to exclude deep vein thrombosis in symptomatic outpatients. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2004; 15: 435-8.

Legnani C, Cini M, Scarvelis D, Toulon P, Wu JR, Palareti G: Multicenter evaluation of a new quantitative highly sensitive D-dimer assay, the Hemosil D-dimer HS 500, in patients with clinically suspected venous thromboembolism. *Thromb Res.* 2010 May; 125(5): 398-401.

Lindahl TL, Lundahl TH, Fransson SG: Evaluation of an automated micro-latex D-dimer assay (Tina-quant on Hitachi 911) in symptomatic outpatients. *Thromb Haemost* 1999; 82, 6: 1772-3.

Luddington R, Peters J, Baker P, Baglin T: The effect of delayed analysis or freeze-thawing on the measurement of natural anticoagulants, resistance to activated protein C and markers of activation of the haemostatic system. *Thromb Res.* 1997 Sep 15; 87(6): 577-81.

Luxembourg B, Krause M, Lindhoff-Last E: Basiswissen Gerinnungslabor. *Dtsch Arztebl* 2007; 104(21): A-1489 / B-1320 / C-1260.

Macklon NS, Greer IA: Venous thromboembolic disease in obstetrics and gynaecology: the Scottish experience. *Scot Med J*, 1996; 41: 83-86.

Masotti L, Ceccarelli E, Cappelli R, Forconi S: Plasma D-dimer levels in elderly patients with suspected pulmonary embolism. *Thromb Res* 2000; 98: 577-9.

Mc Coll MD, Ramsay JE, Tait RC, Walkee D, Mc Call F, Conkie JA, Carty MJ, Greer IA: Risk factors for pregnancy associated with venous thromboembolism. *Thromb Haemost*, 1997; 78: 1183-8.

Mc Crae KR, Cines DB: Thrombotic microangiopathy during pregnancy. *Sem Haematol*, 1997; 34: 148-158.

Meijer P, Haverkate F, Klufft C, de Moerloose P, Verbruggen B, Spannagl M: A model for the harmonisation of test results of different quantitative D-dimer methods. *Thromb Haemost* 2006; 95(3): 567-72.

Mercelina-Roumans PEAM, Ubachs JMH, van Wersch JWJ: Coagulation and fibrinolysis in smoking and nonsmoking pregnant woman. *Br J Obstet Gynaecol*, 1996; 103: 789-794.

Merlini PA, Bauer KA, Oltrona L, Ardissino D, Cattaneo M, Belli C, Mannucci PM, Rosenberg RD: Persistent activation of coagulation mechanism in unstable angina and myocardial infarction. *Circulation*, 1994; 90: 61-8.

Meythaler JM, Fisher WS, Rue LW, Johnson A, Davis L, Brunner RC: Screening for venous thromboembolism in traumatic brain injury: limitations of D-dimer assay. *Arch Phys Med Rehabil* 2003; 84: 285-290.

Miron MJ, Perrier A, Bounameaux H, de Moerloose P, Slosman DO, Didier D, Junod A: Contribution of noninvasive evaluation to the diagnosis of pulmonary embolism in hospitalized patients. *Eur Respir J* 1999; 13: 1365-1370.

Morelli B, Sales S, Arza M, Spagnotto M: Clinical Evaluation Of thromboembolic samples with the new HemosIL- D-dimer HS and the HemosIL D-dimer assays on the ACL TOP. *J Thromb Haemost* 2005; 3 (Supplement 1 abstract P0285).

Moresco RN, Júnior RH, Cláudio Rosa Vargas L, Mariano da Rocha Silla L: Association between plasma levels of D-dimer and fibrinogen/fibrin degradation products (FDP) for exclusion of thromboembolic disorders; *J Thromb Thrombolysis*. 2006 Apr;21(2):199-202.

Mossaz A, Gandrille S, Vitoux JF, Abdoucheli-Baudot N, Aiach M, Fiessinger JN: Valeur des D-dimères dans le diagnostic en urgence des thromboses veineuses. *Press Med* 1990; 19: 1055.

Nann-Rütti S, Trummler M, Thürig E, Wuillemin WA: Beinschmerzen und massiv erhöhter D-Dimer-Wert – klarer Fall einer tiefen Beinvenenthrombose? *Schweiz Med Forum* 2011; 11(23–24): 419–420.

National Committee for Clinical Laboratory Standards. Nomenclature and definitions for use in NRSCCL and other NCCLS documents, 2<sup>nd</sup> ed. Proposed guideline. NRSCCL8-P2. Villanova, Pennsylvania 19085: NCCLS, 1993.

Nelles L, Lijnen HR, Collen D: Relationship between lysine-binding and fibrin-affinity in t-PA and t-Pa/u-PA chimeras. *Fibrinolysis*, 1990; 4: Suppl 3: 110, Abstr 279.

Newman DJ, et al. Particle enhanced light scattering immunoassay. *Ann Clin Biochem*, 1992; 29: 22-42.

Nieuwenhuizen W: Plasma assays for derivatives of fibrin and fibrinogen, based on monoclonal antibodies. Review. *Fibrinolysis*, 1988; 2:1.

Nieuwenhuizen W: A reference material for harmonisation of D-dimer assays. Fibrinogen Subcommittee of the Scientific and Standardization Committee of the International Society of Thrombosis and Haemostasis. *Thromb Haemost* 1997; 77: 1031-3.

Niewiarowski S, Gurewick V: Laboratory identification of intravascular coagulation. The serial dilution protamine sulfate test for the detection of fibrin monomer and fibrin degradation products. *J Lab Clin Med*, 1971; 77: 665-676.

Nishii A, Noda Y, Nemoto R, Ushiro K, Ohno T, Mochizuki Y, Yoshihara H, Taguchi A, Uchino N, Ohkawara S: Evaluation of D-dimer during pregnancy. *J Obstet Gynaecol Res*. 2009 Aug; 35(4): 689-93.

Nolan TE, Smith RP, Devoe LD: A rapid test for abruptio placentae: evaluation of a D-dimer latex agglutination slide test. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 27: 65-7.

Nordstrom M, Lindblad B, Bergqvist D, Kjellstrom T: A prospective study of the incidence of deep-vein thrombosis within a defined urban population. *J Intern Med* 1992; 232: 155-60.

Oudega R, Moons KG, Hoes AW: Ruling out deep vein thrombosis in primary care. A simple diagnostic algorithm including D-dimer testing. *Thromb Haemost* 2005; 94: 200-5.

Oya M, Akiyama Y, Yanagida T, Akao S, Ishikawa H: Plasma D-dimer levels in patients with colorectal cancer: its role as a tumor marker. *Surg Today* 1998; 28: 373-8.

Oya M, Akiyama Y, Okuyama T, Ishikawa H: High preoperative plasma D-dimer level is associated with advanced tumor stage and short survival after curative resection in patients with colorectal cancer. *Jpn J Oncol* 2001; 31: 388-394.

Pabinger I, Grafenhofer H, Kyrle PA, Quehenberger P, Mannhalter C, Lechner K, Kaider A: Temporary increase in the risk for recurrence during pregnancy in woman with a history of venous thromboembolism. *Blood* 2002; 100: 1060-2.

Padden MO: HELLP syndrome: recognition, and perinatal management. *Am Physician* 1999; 60: 829-39.

Palareti G, Legnani C, Cosmi B, Guazzaloca G., Pancani C, Coccheri S: Risk of venous thromboembolism recurrence: high negative predictive value of D-dimer performed after oral anticoagulation is stopped. *Thromb Haemost* 2002; 87:7.

Pajor A: Thromboembolism and antithrombotic management in pregnancy. *Orv Hetil.* 2011 May 22;152 (21):815-21.

Perrier A, Bounameaux H, Morabia A et al.: Diagnosis of pulmonary embolism by a decision analysis-based strategy including clinical probability, D-dimer levels, and ultrasonography: a management study. *Arch Intern Med* 1996; 156: 531-6.

Perrier A, Desmarais S, Miron MJ, de Moerloose P, Lepage R, Slosman D, Didier D, Unger PF, Patenaude JV, Bounameaux H: Non-invasive diagnosis of venous thromboembolism in outpatients. *Lancet* 1999; 353: 190-5.

Perrier A, Howarth N, Didier D, Loubeyre P, Unger PF, de Moerloose P, Slosman D, Junod A, Bounameaux H: Performance of helical computer tomography in unselected outpatients with suspected pulmonary embolism. *Ann Intern Med* 2001; 135: 88-97.

Pittet JL, de Moerloose P, Reber G et al.: VIDAS D-dimer: fast quantitative ELISA für measuring D-dimer in plasma. *Clin Chem* 1996; 42: 410-5.

Proietti AB, Johnson MJ, Proietti FA, Repke JT, Bell WR: Assessment of fibrin(ogen) degradation products in preeclampsia using immunoblot, enzyme-linked immunosorbent assay and latex-based agglutination. *Obstet Gynecol* 1991 May; 77: 696-700.

Pschyrembel – Klinisches Wörterbuch, 258. Auflage, Walter de Gruyter, Berlin 1998.

Rath W, Wieding JU, Kuhn W: New knowledge concerning hemostatic changes in gestosis and HELLP syndromes for clinical practice. *Geburtshilfe-Frauenheilkd.* 1991 Sep; 51(9): 741-6.

Rath W, Heyl W: Zur Anwendung von niedermolekularen Heparinen in der Gynäkologie und Geburtshilfe, in: *Niedermolekulare Heparine – Fragmin*, Medikon Verlag, München 1995.

- Rathbun SW, Whitsett TL, Raskob GE: Negative D-dimer result to exclude recurrent thrombosis: a management trail. *Ann Intern Med* 2004; 141: 839-845.
- Reber G, de Moerloose P: D-dimer assays for the exclusion of venous thromboembolism. *Semin Thromb Hemost.* 2000;26(6):619-24.
- Renz H: Gerinnung (Hämostasie), in *Praktische Labordiagnostik*, Walter de Gruyter, Berlin 2009; 134.
- Riess H: Gerinnung und Fibrinolyse, in Rath W, Heilmann L: *Gerinnungsstörungen in der Gynäkologie und Geburtshilfe*. Thieme, Stuttgart 1999; 2-9.
- Righini M, Perrier A, De Moerloose P, Bounameaux H: D-dimer for venous thromboembolism diagnosis: 20 years later. *J Thromb Haemost.* 2008; 6(7): 1059-71.
- Ritchie RF, Palomaki G: Selecting clinically relevant populations for reference intervals. *Clin Chem Lab Med* 2004; 42(7):702-9.
- Robert-Ebadi H, Righini M: Diagnosis of venous thromboembolic disease during pregnancy. *Rev Med Suisse.* 2011 Feb 9;7(281):345-50.
- Rosenberg RD: Actions and interactions of antithrombin and heparin. *New Engl J Med*, 1975; 292: 146-151.
- Rouvière JA, Devignes J, de Maistre E, Kennel A, Chabot F, Lecompte T: Discrepancy between two methods of D-dimers measurement: one case of human anti-mouse antibody interference. *Ann Biol Clin (Paris).* 2008 Jul-Aug; 66(4): 441-6.
- Rowbotham BJ, Carroll P, Whitaker AN, Bunce IH, Cobcroft RG, Elms MJ, Masci PP, Bundesen PG, Rylatt DB, Webber AJ: Measurement of crosslinked fibrin derivatives--use in the diagnosis of venous thrombosis. *Thromb Haemost.* 1987 Feb 3;57(1):59-61.
- Rudigoz RC, Barral X, Gonnet C, Magnin P, Dargent D, Descotes J: Phlébitis obstétricales graves. *Physiopathologie, diagnostic et traitement (6 observation).* *J Gyn Obst Biol Repr*, 1979; 8: 637-646.
- Rutstein JE, Holahan JR, Lyons RM, Pope RM: Rheumatoid factor interference with the latex agglutination test for fibrin degradation products. *J Lab Clin Med.* 1978 Oct; 92(4): 529-35.
- Rylatt DB, Blake AS, Cottis LE, Massingham DA, Fletcher WA, Masci PP, Whitaker AN, Elms M, Bunce I, Webber AJ et al.: An immunoassay for human D dimer using monoclonal antibodies. *Thromb Res* 1983; 31: 767-778.
- Schneider D, Heilmann L, Harenberg J: Zur Plazentagängigkeit von niedermolekularem Heparin. *Geburtsh und Frauenheilk*, 1995; 61: 241-341.
- Schutgens REG, Haas FJLM, Ruven HJT, Spannagl M, Horn K, Biesma DH: No influence of heparin plasma and other (pre)analytic variables on D-dimer determinations. *Clin Chem* 2002; 48, No. 9, 1611-3.



Schutgens REG, Ackermack P, Haas FJLM, Niewenhuis HK, Peltenburg HG, Pijlman AH et al.: Combination of a normal D-dimer concentration and a non-high pretest clinical probability score is a safe strategy to exclude deep venous thrombosis. *Circulation* 2003; 107: 593-7.

Schutgens REG, Haas FJ, Biesma DH: Reduced efficacy of clinical probability score and D-dimer assay in elderly subjects suspected of having deep vein thrombosis. *Br J Haemat* 2005; 129: 653-7.

Sié P: The value of laboratory tests in the diagnosis of venous thromboembolism. *Haematologica*. 1995 Mar-Apr;80(2 Suppl):57-60.

Sijens PE, van Ingen HE, van Beek EJR et al.: Rapid ELISA assay for plasma D-dimer in the diagnosis of segmental and subsegmental pulmonary embolism, A comparison with pulmonary angiography. *Thromb Haemost* 2000; 84: 156-9.

Sodeck G, Domanovits H, Schillinger M, Ehrlich MP, Endler G, Herkner H, Laggner A: D-dimer in ruling out acute aortic dissection: a systematic review and prospective cohort study. *Eur Heart J* 2007; 28: 3067-3075.

Sonntag O, Scholer A: Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. *Ann Clin Biochem* 2001; 38: 376-385.

Spannagl M, Haverkate F, Reinauer H, Meijer P: The performance of quantitative D-dimer assays in laboratory routine. *Blood Coag Fibrinolysis* 2005; Vol 16, Issue 6: 439 -443.

Spritzer CE, Evans AC, Kay HH: Magnetic resonance imaging of venous thrombosis in pregnant women with lower extremity edema. *Obstet Gynecol*, 1995; 85: 603-7.

Stein PD, Hull Patel KC et al.: D-dimer for the exclusion of acute venous thrombosis and pulmonary embolism: a systematic review. *Ann Intern Med* 2004; 140: 589-602.

Steiner J, Braun P, Byrd P: A comparison of three quantitative assays for fibrin degradations product and D-dimer (abstract). *Thromb Haemost*, 1993; 69: 835.

Stirling Y, Woolf L, North WRS, Seghatchain MJ, Meade TW: Haemostasis in normal pregnancy. *Thromb Haemost*, 1984; 52: 176-182.

Szecsí PB, Jørgensen M, Klajnbard A, Abdersen MR, Colov NP, Stender S: Haemostatic reference intervals in pregnancy. *Thromb Haemost* 2010, 103: 718-727.

Toglia MR, Weg JG: Venous thromboembolism during pregnancy. *N Eng J Med*, 1996; 335: 108-114.

Tsakiris DA: D-Dimere. *Schweiz Med Forum* 2008; 8:108-9.

Van Beaumont W: Evaluation of hemoconcentration from hematocrit measurements. *J Appl Physiol* 1972; 32: 712-3.

Van Beek EJ, Schenk BE, Michel BC, van den Ende B, Brandjes DP, van der Heide YT, Bossuyt PM, Buller HR: The role of plasma D-dimer concentration in the exclusion of pulmonary embolism. *Br J Haematol* 1996; 92: 725-732.

Van Bergen PFMM, Knot EAR, Jonker JJC, de Boer AC, de Maat MPM: Is quantitative determination of fibrin(ogen) degradation products and thrombin-anithrombin III complexes useful to diagnose deep vein thrombosis in outpatients? *Thromb Haemost* 1989; 62: 1043-5.

Van der Graaf F, van den Borne H, van der Kolk M, de Wild PJ, Janssen GW, van Uum SH: Exclusion of deep venous thrombosis with D-dimer testing. Comparison of 13 D-dimer methods in 99 outpatients suspected of deep venous thrombosis using venography as reference standard. *Thromb Haemost*. 2000 Feb; 83(2): 191-8.

van der Putten RFM, Glatz JFC, Hermens WT: Plasma markers of activated hemostasis in the early diagnosis of acute coronary syndromes. *Clin Chem Acta*. 2006; 371 (1-2): 37-54.

Van Wersch JWJ, Ubachs JMH: Blood coagulation and fibrinolysis during normal pregnancy. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1991; 29: 45-50.

Virchow R: *Gesammelte Abhandlungen zur wissenschaftlichen Medizin*, Meidinger Sohn, Frankfurt 1856; 219.

Vissac AM, Grimeaux M, Chartie S et al.: A new sensitive membrane based ELISA technique for instantaneous D-dimer evaluation in emergency. *Thromb Res* 1995; 78: 341-352.

Vukovich TC, Hamwi A, Bieglmayer C: D-Dimer Testing within the Routine Clinical Chemistry Profile. *Clin Chem* 1998; 44, No.7, 1557-8.

Weinstock N, Ntefidou M, on behalf of the ISTH/SSC Fibrinogen subcommittee and the GTH fibrinogen working party: SCC International Collaborative Study to establish the first high fibrinogen plasma reference material for use with different fibrinogen assay techniques. *J Thromb Haemost* 2006; 4: 1825-7.

Welsch M: *Müttersterblichkeit und perinatale Sterblichkeit*, in Martius G, Rath W: *Geburtshilfe und Perinatalogie*, Thieme, Stuttgart, New York 1998.

Wells PS, Anderson DR, Bormanis J, Guy F, Mitchell M, Gray L, Clement C, Robinson KS, Lewandowski B: Value of assessment of pretest probability of deep-vein thrombosis in clinical management. *Lancet*. 1997 Dec 20-27; 350 (9094):1795-8.

Wells PS, Hirsh J, Anderson DR, Lensing AW, Foster G, Kearon C, Weitz J, D'Ovidio R, Cogo A, Prandoni P, Girolami A, Ginsberg JS: A simple clinical model for the diagnosis of deep-vein thrombosis combined with impedance plethysmography: potential for an improvement in the diagnostic process. *J Intern Med*. 1998 Jan;243 (1):15-23.

Wells PS; Anderson DR, Ginsberg J: Assessment of deep vein thrombosis or pulmonary embolism by the combined use of clinical model and noninvasive diagnostic tests. *Semin Thromb Hemost* 2000; 26: 643-656.

Wells PS: The role of qualitative D-dimer assays, clinical probability, and noninvasive imaging tests for the diagnosis of deep vein thrombosis and pulmonary embolism. *Semin Vasc Med*. 2005 Nov;5(4):340-50.

Wells PS: Integrated strategies for the diagnosis of venous thromboembolism. *J. Thromb Haemost* . 2007; 5 Suppl 1: 41-50.

Whitaker AN, Elms MJ, Masci PP, Bundesen PG, Rylatt DB, Webber AJ, and Bunce IH: Measurement of cross linked fibrin derivatives in plasma: an immunoassay using monoclonal antibodies. *J Clin Pathol.* 1984 August; 37(8): 882–7.

Winkler UH: Thrombophilie und antithrombotische Prävention in der Gynäkologie und Geburtshilfe. *Internist*, 1997; 38: 650-657.

Wylie FG, Walsh TP: Variable immunoreactivity of D-dimer preparations for monoclonal antibody DD-3B6/22. *Blood Coag Fibrinolysis* 1995; 6: 738-742.

Yamada N, Wada H, Nakase T, Minamikawa K, Najaya S, Nakamura M, Hiraoka N, Fuzioka H, Hayashi T, Suzuki K: Hemostatic abnormalities in patients with pulmonary embolism compared with that in deep vein thrombosis. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 1995; 6: 627-633.

Zürcher M, Sulzer I, Barizzi G, Lämmle B, Alberio L: Stability of coagulation assays performed in plasma from citrated whole blood transported at ambient temperature. *Thromb Haemost.* 2008 Feb;99(2):416-26.

Zurborn KH, Bruhn HD: Biochemische Marker der Gerinnungsaktivierung und der Fibrinbildung als Risikoinidkatoren. *Hämostaseologie* 11 (1991) 200.

## Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ACL	ACL Top
AT3	Antithrombin III
BCS	BCS XP
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CT	Computertomographie
d. h.	das heisst
DIC	Disseminated intravascular coagulation (disseminierte intravasale Koagulopathie)
DDIM	D-Dimere
ELFA	Enzyme Linked Fluorescence Assay
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
et al.	et alii
etc.	et cetera
Faktor XIIIa	aktivierter Gerinnungsfaktor XIII
FEU	Fibrinogen Equivalent Units
HAMA	humane Anti-Maus-Antikörper
HBR	heterophilic blocking reagents
HELLP	HELLP-Syndrom (hemolysis, elevated liver and low platelets)
HemosIL	HemosIL D-Dimer HS 500
HIT	Heparin-induzierte Thrombozytopenie
IFCC	International Federation of Clinical Chemistry
IL	Instrumentation Laboratory
INNOVANCE	INNOVANCE D-Dimer
ISTH	International Society of Thrombosis and Haemostasis
JMP	JMP Statistical Discovery Software.
LE	Lungenembolie
Modular	Modular analytics P
MRT	Magnetresonanztomographie

NPW	negativ prädiktiver Wert
o. g.	oben genannt(e)
OP	Operation
PCP	Prior clinical probability (klinische Vortestwahrscheinlichkeit)
PPW	positiv prädiktiver Wert
PTP	Pretest clinical probability (klinische Vortestwahrscheinlichkeit)
RF	Rheumafaktor
Roche	Roche Diagnostics GmbH
RT	Raumtemperatur
SCT	staphylococcal clumping test
SIEMENS	SIEMENS Healthcare Diagnostics Products GmbH, Marburg
SSW	Schwangerschaftswoche bzw. -wochen
Tina-quant	Tina-quant D-Dimer Gen. 2 (D-DI2)
Tab.	Tabelle
TVT	tiefe Venenthrombose
u. a.	unter anderem
usw.	und so weiter
v. a.	vor allem
V. a.	Verdacht auf
VK	Variationskoeffizient
VTE	venöse Thromboembolie
z. A.	zum Ausschluss
z.B.	zum Beispiel

## Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1:</b> Bildung von Fibrin .....	10
<b>Abbildung 2:</b> Schematisierter Aufbau von Fibrinogen .....	10
<b>Abbildung 3:</b> Bildung des unlöslichen Fibrinnetzes .....	11
<b>Abbildung 4:</b> Schematisierte Darstellung der Bildung eines Fibrinfadens .....	12
<b>Abbildung 5:</b> Schema der Fibrinolyse. ....	14
<b>Abbildung 6:</b> Stellenwert der DDIM im Algorithmus bei V.a. TVT bzw. LE.....	20
<b>Abbildung 7:</b> Schematisierte Darstellung der Entstehung einer Thrombose in einem venösen Gefäß – die Virchow Trias .....	23
<b>Abbildung 8:</b> Prinzip des Nachweises der DDIM per ELISA .....	30
<b>Abbildung 9:</b> Verhältnis zwischen DDIM-Plasmakonzentration und SSW.....	35
<b>Abbildung 10:</b> Probenanzahl pro SSW.....	39
<b>Abbildung 11:</b> Probenanzahl pro SSW-Intervall.....	40
<b>Abbildung 12:</b> Schematische Darstellung der Latex-Agglutinations-Methode.....	42
<b>Abbildung 13:</b> Konzentration der DDIM in Heparinplasma vor und nach dem Einfrieren für drei Monate.....	50
<b>Abbildung 14:</b> DDIM-Konzentrationen der Testsysteme im Vergleich zum Median der entsprechenden SSW - bei sechs Patientinnen mit nachgewiesener TVT ..	55
<b>Abbildung 15:</b> Streudiagramm der Messwerte per Tina-quant.....	56
<b>Abbildung 16:</b> Streudiagramm der Messwerte per INNOVANCE.....	57
<b>Abbildung 17:</b> Streudiagramm der Messwerte per HemosIL.....	57
<b>Abbildung 18:</b> absolute Häufigkeiten der per Tina-quant gemessenen DDIM- Konzentrationen in $\mu\text{g/l}$ – in Relation zur Normalverteilung .....	58
<b>Abbildung 19:</b> absolute Häufigkeiten der per INNOVANCE gemessenen DDIM- Konzentrationen in $\mu\text{g/l}$ – in Relation zur Normalverteilung .....	58
<b>Abbildung 20:</b> absolute Häufigkeiten der HemosIL gemessenen DDIM- Konzentrationen in $\mu\text{g/l}$ – in Relation zur Normalverteilung.....	59
<b>Abbildung 21:</b> kumulative Häufigkeiten der per Tina-quant gemessenen DDIM- Konzentrationen in $\mu\text{g/l}$ – in Relation zur Normalverteilung .....	59
<b>Abbildung 22:</b> kumulative Häufigkeiten der per INNOVANCE gemessenen DDIM- Konzentrationen in $\mu\text{g/l}$ – in Relation zur Normalverteilung .....	59
<b>Abbildung 23:</b> kumulative Häufigkeiten der per HemosIL gemessenen DDIM- Konzentrationen in $\mu\text{g/l}$ – in Relation zur Normalverteilung .....	60
<b>Abbildung 24:</b> Erläuterung der Darstellung der verwendeten Box-Whisker-Plots ...	61
<b>Abbildung 25:</b> Box-Whisker-Plot der gemessenen Werte für alle drei Testsysteme	61
<b>Abbildung 26:</b> Box-Whisker-Plot der per Tina-quant gemessenen DDIM- Konzentrationen in $\mu\text{g/l}$ - im Verlauf der Schwangerschaft .....	62
<b>Abbildung 27:</b> Box-Whisker-Plot der per INNOVANCE gemessenen DDIM- Konzentrationen in $\mu\text{g/l}$ - im Verlauf der Schwangerschaft .....	62
<b>Abbildung 28:</b> Box-Whisker-Plot der per HemosIL gemessenen DDIM- Konzentrationen in $\mu\text{g/l}$ - im Verlauf der Schwangerschaft .....	63
<b>Abbildung 29:</b> Mediane der gemessenen DDIM-Konzentrationen aller drei Testsysteme in $\mu\text{g/l}$ - im Verlauf der Schwangerschaft .....	63
<b>Abbildung 30:</b> 2,5. und 97,5. Perzentilen der gemessenen DDIM-Konzentrationen aller drei Testsysteme in $\mu\text{g/l}$ - im Verlauf der Schwangerschaft.....	64

<b>Abbildung 31:</b> Mediane der DDIM-Konzentrationen der Intervalle 1 bis 4 im Verlauf der Schwangerschaft .....	65
<b>Abbildung 32:</b> Mediane der DDIM-Konzentrationen der Intervalle 1 bis 4 im Verlauf der Schwangerschaft –Unterteilung des 4. Intervalls .....	66
<b>Abbildung 33:</b> 2,5. und 97,5. Perzentilen der DDIM-Konzentrationen der Intervalle 1 bis 4 im Verlauf der Schwangerschaft.....	66
<b>Abbildung 34:</b> 2,5. und 97,5. Perzentilen der DDIM-Konzentrationen der Intervalle 1 bis 4 im Verlauf der Schwangerschaft - Unterteilung des 4. Intervalls .....	67
<b>Abbildung 35:</b> Lineare Regression: Ergebnisse von Tina-quant in Relation zu den Ergebnissen von INNOVANCE .....	69
<b>Abbildung 36:</b> Lineare Regression: Ergebnisse von Tina-quant in Relation zu den Ergebnissen von HemosIL .....	69
<b>Abbildung 37:</b> Lineare Regression: Ergebnisse von INNOVANCE in Relation zu den Ergebnissen von HemosIL .....	70
<b>Abbildung 38:</b> Bland-Altman-Diagramm des Methodenvergleichs von Tina-quant und INNOVANCE.....	71
<b>Abbildung 39:</b> Bland-Altman-Diagramm des Methodenvergleichs von HemosIL und Tina-quant.....	71
<b>Abbildung 40:</b> Bland-Altman-Diagramm des Methodenvergleichs von INNOVANCE und HemosIL.....	72
<b>Abbildung 41:</b> Gegenüberstellung der gemessenen DDIM-Konzentrationen aus Heparinplasma und Citratplasma. ....	78
<b>Abbildung 42:</b> Gegenüberstellung der gemessenen DDIM-Konzentrationen aus Citratplasma und Heparinplasma. ....	79
<b>Abbildung 43:</b> Darstellung der Verteilungsverhältnisse in einer Citratmonovette mit dem Verdünnungsfaktor 1:10 .....	80
<b>Abbildung 44:</b> 5. und 97,5. Perzentilen der DDIM-Konzentrationen im Verlauf der Schwangerschaft - im Vergleich zur Studie von Hannemann-Pohl et al. 2005 ..	97
<b>Abbildung 45:</b> 2,5. und 97,5. Perzentilen der DDIM-Konzentrationen im Verlauf der Schwangerschaft - im Vergleich zur Studie von Szecsi et al. 2010.....	99

## Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1:</b> Wells Score zur Diagnostik der tiefen Beinvenenthrombose .....	18
<b>Tabelle 2:</b> Wells Score zur Diagnostik der Lungenembolie. ....	19
<b>Tabelle 3:</b> Kein Gebrauch der DDIM z. A. der TVT und LE in folgenden Fällen.....	21
<b>Tabelle 4:</b> Ursachen erhöhter DDIM-Spiegel. ....	22
<b>Tabelle 5:</b> Eigenschaften verschiedener, kommerzieller DDIM-Assays .....	32
<b>Tabelle 6:</b> Zusammenfassung der Sensitivitäten und Spezifitäten verschiedener DDIM-Nachweismethoden bei V.a. TVT bzw. LE.....	33
<b>Tabelle 7:</b> Name der verwendeten Methode, zugehöriges Laborgerät und Test- hersteller .....	41
<b>Tabelle 8:</b> Sensitivität und Spezifität des Tina-quant z. A. einer TVT bzw. LE in verschiedenen Studien.....	43
<b>Tabelle 9:</b> Präzision des Tina-quant innerhalb einer Serie und von Tag zu Tag ....	44
<b>Tabelle 10:</b> Präzision des INNOVANCE innerhalb einer Serie und von Tag zu Tag	45
<b>Tabelle 11:</b> Präzision des HemosIL innerhalb einer Serie und von Tag zu Tag.....	45
<b>Tabelle 12:</b> Zusammenfassung testspezifischer Eigenschaften der drei verwendeten Systeme .....	46
<b>Tabelle 13:</b> Konzentration der DDIM im Citratplasma und Heparinplasma bei Erst- messung und nach 24 Stunden bei Raumtemperatur .....	48
<b>Tabelle 14:</b> Konzentration der DDIM im Heparinplasma bei Erstmessung und nach drei Monaten bei – 22°C bis – 18°C.....	49
<b>Tabelle 15:</b> Konzentration der DDIM im Citratplasma und Heparinplasma im Original und in drei weiteren Verdünnungsstufen.....	52
<b>Tabelle 16:</b> DDIM-Konzentrationen der drei Testsysteme im Vergleich zum Median der entsprechenden SSW - bei sechs Patientinnen mit nachgewiesener TVT ..	55
<b>Tabelle 17:</b> Mit Hilfe der drei Testsysteme gemessene DDIM-Konzentrationen - sechs Beispiele unplausibler Werte in verschiedenen SSW .....	56
<b>Tabelle 18:</b> Beschreibende, statistische Daten aller drei Testsysteme im Vergleich	60
<b>Tabelle 19:</b> Einteilung der SSW in Intervalle – orientiert an den Schwangerschafts- trimestern .....	64
<b>Tabelle 20:</b> 2,5. Perzentilen, Mediane und 97,5. Perzentilen der SSW-Intervalle - alle drei Testsysteme im Vergleich .....	65
<b>Tabelle 21:</b> Anzahl der Proben der Gesamtprobenzahl mit einer DDIM-Konzentration über dem cut-off von 500 µg/l .....	67
<b>Tabelle 22:</b> Anzahl der Proben je SSW mit einer DDIM-Konzentration über dem cut-off von 500 µg/l .....	68
<b>Tabelle 23:</b> Stabilität der DDIM bei Raumtemperatur.....	74
<b>Tabelle 24:</b> Stabilität der DDIM während eines simulierten Transports.....	75
<b>Tabelle 25:</b> Kein Einfluss der DDIM-Messung durch folgende Medikamente.....	85
<b>Tabelle 26:</b> Kein Einfluss der DDIM-Messung bei Lipämie, Bilirubinämie oder Hämolyse bis zu folgenden Plasmakonzentrationen.....	86
<b>Tabelle 27:</b> 2,5. und 97,5. Perzentilen der SSW-Intervalle.....	94
<b>Tabelle 28:</b> Vergleich der Ergebnisse mit Giavarina et al. 2001.....	96
<b>Tabelle 29:</b> Vergleich der Ergebnisse mit Hannemann-Pohl et al. 2005.....	97
<b>Tabelle 30:</b> Vergleich der Ergebnisse mit Szecsi et al. 2010 .....	98



<b>Tabelle 31:</b> Konzentration der DDIM derselben Probe - gemessen mit verschiedenen Testsystemen.....	101
<b>Tabelle 32:</b> Konzentrationen der Kalibratoren - gemessen mit anderen Assays als dem dafür vorgesehenen. ....	103
<b>Tabelle 33:</b> Ursachen der Variabilität von DDIM-Assays. ....	104
<b>Tabelle 34:</b> Kumulative Sensitivitäten und Spezifitäten verschiedener DDIM-Nachweismethoden (angegeben als Median und Range).....	105
<b>Tabelle 35:</b> Ermittelte Referenzbereiche der drei Testsysteme.....	112