



**Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg**  
**Fakultät für Klinische Medizin Mannheim**  
**Dissertations-Kurzfassung**

**Entwicklung einer Methode zur Messung des total gerinnbaren Fibrinogens unter Verwendung eines 96-Kanal-Mikrofiltrationmoduls**

Autor: Alexandra Keller  
Institut / Klinik: I. Medizinische Klinik  
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. C.-E. Dempfle

Das anerkannte Referenzverfahren funktioneller Bestimmungsmethoden für Fibrinogen ist die Messung des total gerinnbaren Fibrinogens. Publierte Methoden hierfür sind technisch aufwendig und nicht automatisierbar. Im Rahmen der vorliegenden Dissertation wurde eine Methode zur parallelen Messung von 96 Proben im Mikrotiter-Format unter Verwendung eines 96-Kanal-Vakuum-Filtrationmoduls entwickelt. Die Methode wurde optimiert, technisch evaluiert und mit anderen Messmethoden für Fibrinogen unter Einschluss des Referenzverfahrens der WHO verglichen.

Es konnten Variationskoeffizienten zwischen 4,7 und 6,2% bei Messungen in der Serie bzw. zwischen 5,4 und 6,2% bei Messungen von Tag zu Tag an 20 aufeinanderfolgenden Tagen erzielt werden. Zum Methodenvergleich wurde bei 150 Plasmaproben mit einer Fibrinogenkonzentration zwischen 120 und 650 mg/dl die Fibrinogenkonzentration mit verschiedenen Methoden gemessen. Verglichen wurden neben der WHO-Referenzmethode die kinetische Fibrinogenmessung mit Batroxobin-Aktivierung, Laser-Nephelometrie und Turbidimetrie, PT-derived Fibrinogenbestimmung und mehrere koagulometrische Methoden nach Clauss. Der Vergleich mit der WHO-Referenzmethode ergab einen Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,95$ . Die Korrelation mit anderen Messverfahren lag zwischen  $r = 0,97$  und  $r = 0,50$ .

Zur Überprüfung der Auswirkungen von Fibrin(ogen)spaltprodukten auf die Fibrinogenmessmethoden wurden 10 Poolplasmen von gesunden Probanden mit 5 Verdünnungsstufen einer Fibrinderivatlösung versetzt. Es zeigte sich bei Fibrinderivatkonzentrationen im klinisch relevanten Bereich keine Beeinflussung der Messung der Fibrinogenkonzentration mit der entwickelten Methode.

Da die Messung des total gerinnbaren Fibrinogens die Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin durch die enzymatische Wirkung von Thrombin einschließt, wurde der Einfluss des direkten Thrombin-Inhibitors Hirudin auf die Messung untersucht. Poolplasmen von gesunden Probanden wurden dabei mit 5 verschiedenen Hirudin-Konzentrationen versetzt. Der prozentuale Unterschied zwischen einzelnen Leerwerten mit Puffer und Proben mit rekombinantem Hirudin wurde errechnet. Es fand sich keine Beeinflussung von total gerinnbarem Fibrinogen, PT-derived Fibrinogenmessmethoden und der kinetischen Fibrinogenmessmethoden durch therapeutisch relevante Konzentrationen von rekombinantem Hirudin.

Die im Rahmen der vorliegenden Dissertation entwickelte Messmethode eignet sich zur raschen Bestimmung des total gerinnbaren Fibrinogens in großen Serien und ist unter Verwendung von konventionellen Mikrotiter-Pipettiergeräten teilautomatisierbar.