



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

Entwicklung eines ELISA zum Nachweis von Anti-Hirudin-Antikörpern

Autor: Carola Knemöller
Institut / Klinik: I. Medizinische Klinik
Doktorvater: Prof. Dr. G. Huhle

Rekombinantes Hirudin als parenterales Antikoagulans, stellt ein alternatives Behandlungsschema bei Heparininduzierter Thrombozytopenie dar und ist zur Prophylaxe thromboembolischer Ereignisse in der Orthopaedischen Chirurgie zugelassen.

Die bestehende Problematik bezüglich der hohen Inzidenz von Hirudin spezifischen Antikörpern und die signifikante Beeinflussung der pharmakologischen Eigenschaften des Hirudins als auch die Gefahr einer allergischen Reaktion bis hin zum anaphylaktischen Schock durch diese Antikörper haben es zwingend notwendig gemacht, ein schnelles Nachweisverfahren für Anti-Hirudin-Antikörper zu entwickeln.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, einen bestehenden, von der Arbeitsgruppe entwickelten ELISA zum Nachweis von Anti-Hirudin-Antikörpern zeitlich zu optimieren und methodisch zu verbessern, um die Detektionszeit von Anti-Hirudin-Antikörpern zu verkürzen.

Dazu wurde in vielen separaten Testverfahren die Methodik komplett überarbeitet, verschiedene Parameter validiert und optimiert. Zur Beschichtung wurde der Streptavidin-Biotin-Komplex verwendet, so dass mit biotinyliertem Hirudin ein hochspezifischer Bindungspartner zur Verfügung stand. So konnten unspezifische Bindungen an die ELISA Platten vermieden werden und falsch positive Testergebnisse eliminiert werden. In diesem Zusammenhang war der Blockierungsschritt mit Caseinhydrolysat von enormer Bedeutung, da durch Vermeidung von unspezifischen Bindungen die ELISA Optimierung positiv beeinflusst wurde. Stabilitätsmessungen der vorbeschichteten ELISA Platten mit Streptavidin und biotinyliertem Hirudin ergaben eine weitere Zeitersparnis von 3 Stunden durch die Bereitstellung nun vorbeschichteter ELISA-Mikrotiterplatten.

Der so entwickelte ELISA zum Nachweis von Anti-Hirudin-Antikörpern bietet jetzt die Möglichkeit im klinischen Alltag zum Monitoring eingesetzt werden zu können, da er in 4,5 Stunden durchführbar ist.