

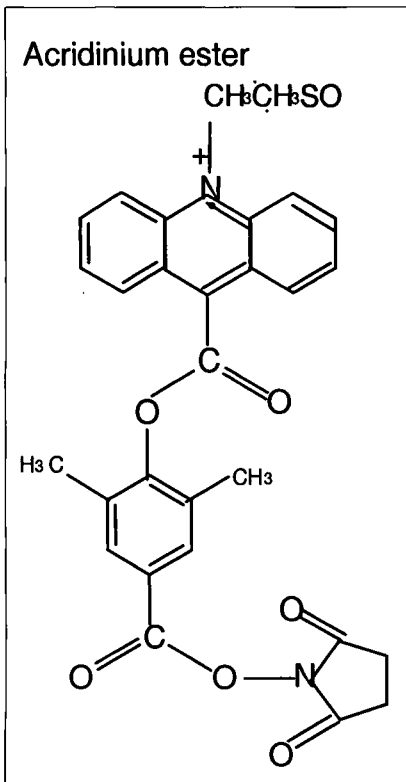
# Immunoassays deel V

Rob Kaletzky

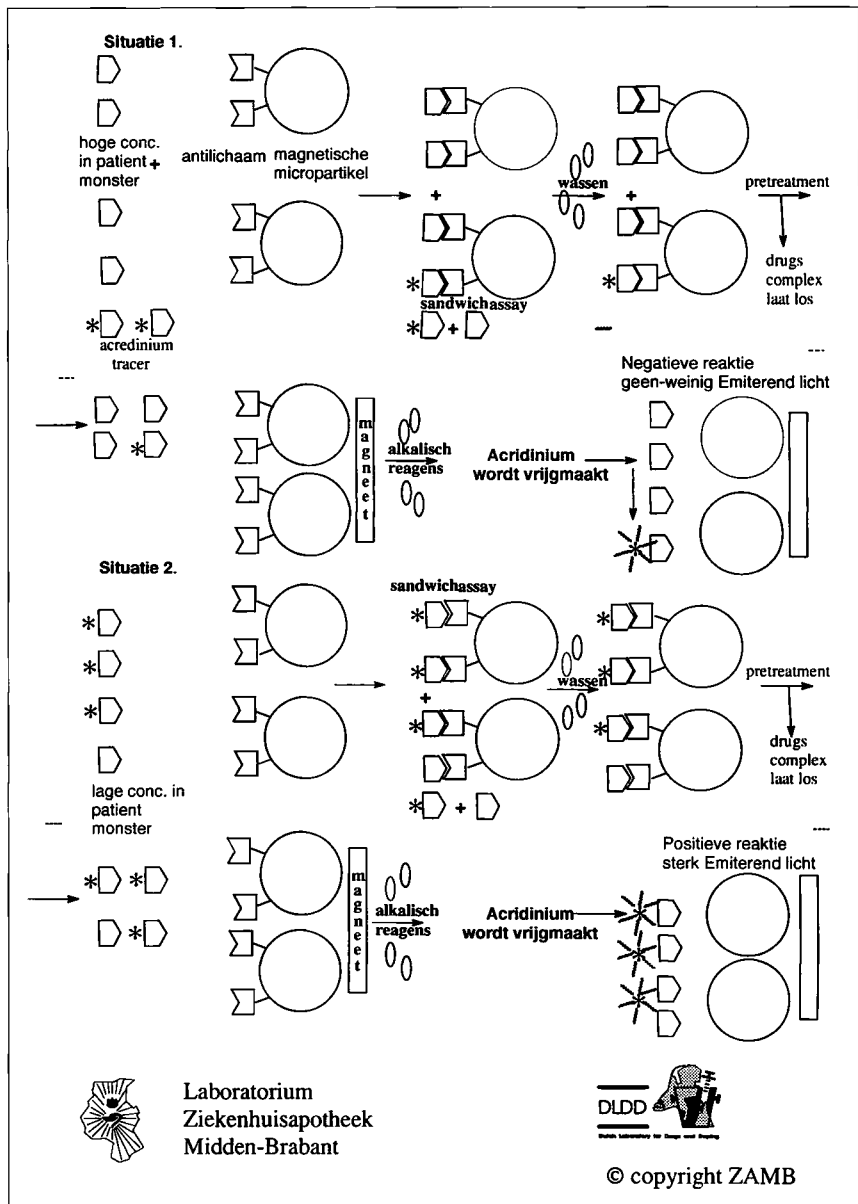
Klinisch Farmaceutisch Laboratorium  
Ziekenhuisapotheek Midden Brabant  
TweeStedenziekenhuis  
Tilburg  
Email:Rkaletzky@zamb.tsz.nl

Op 29 oktober 2000 werd het 10-jarig lustrumsymposium "Innovaties in Farmacie" van de NVK-FAZ gehouden. Tijdens dit symposium gaf Dr. H. Lingeman verbonden aan de VU te Amsterdam een presentatie over immunoassays versus chromatografische technieken. Tijdens deze lezing werden twee immunoassay technieken genoemd, die weinig of niet voorkomen binnen de farmaceutische laboratoria. Deze twee technieken Chemiluminescentie en ELISA worden wel gebruikt binnen de klinische chemie voor het detecteren van lichaamseigen stoffen. Omdat er steeds meer sprake is van samenwerking en samengaan tussen het farmaceutisch- en het

Tekening 1



Figuur 1. Abbott Chemiluminescentie



klinisch chemisch laboratorium wil ik binnen het kader van mijn behandeling van de immunoassays ook stilstaan bij deze twee technieken.

**CHEMILUMINESCENTIE**

Zoals bekend is uit de natuurkunde vallen componenten na aanstralen met licht terug naar een lager energieniveau en stralen daarbij licht uit (emissie). (Excitatie, licht= elektromagnetische straling zie vorige publicaties Immunoassays I-IV).

Daarnaast wordt er ook gesproken van emissie van licht wanneer dat ontstaat bij een chemische reactie. Als er bij een chemische reactie geëmitteerd licht ontstaat spreken we van chemiluminescentie. Tijdens deze exotherme reactie ontstaat één foton per molecuul. Deze fotonen kunnen één voor één gemeten worden.

Bij de chemiluminescentie techniek wordt gebruik gemaakt van esters

waarbij dit fenomeen optreedt zoals isoluminol- en acridinium ester (tekening 1 op pagina 13). Door de ester te oxideren met een alkalische waterstofperoxide oplossing in de aanwezigheid van een detergent zoals triton X-100 (Triton X-100 wordt ook bij AAS gebruikt, bij zware metalen) ontstaat er een flitslicht bij 429 nm. Acridiniumesterlabels zijn zeer specifiek en kunnen door de enorme emissie opbrengst (veel fotonen) zeer laag gedetecteerd worden ( $800 \text{ femtomol}$ ,  $800 \cdot 10^{-15}$ ). Deze achtergrond van de Chemiluminescentie heeft er toe bijgedragen dat deze labels zeer bruikbaar zijn binnen de immunoassay technieken. Als voorbeeld hebben we kunnen zien dat Abbott bij het uitbrengen van zijn nieuwe generatie analysers onder de naam "Architect" de chemiluminescentie immunoassay techniek gebruikt op basis van een acridinium label. De in tekening 1 getoonde acridinium ester is daarbij

verder ontwikkeld tot een label met nog andere specifieke groepen om licht-emissie en houdbaarheid te verbeteren. Het hele reactieverloop dat ontstaat tussen het antilichaam en de te detecteren stoffen (antigenen) zoals geneesmiddelen, drugs, lichaamseigen stoffen (analyten) kennen we uit de immunoassay techniek (Zie immunoassay artikelen I/IV in Extract). De twee situaties die ontstaan, zijn weergegeven in figuur I op pagina 13.

De chemiluminescentie techniek behoort tot de indeling van de competitieve heterogene immunoassays. Hierbij zijn dus wasstappen ingevoerd om de uiteindelijk te meten gelabelde component in vrije oplossing te kunnen meten. Na de eerste wasstap wordt de niet gebonden tracer weggewassen. De gebonden tracer en de patiënten analyt zitten op het antilichaam. Hierbij wordt gebruik gemaakt van een antilichaam in de

vorm van magnetische micropartikel (bolletje, zie ook KIMS, Immunoassays deel IV). De tracer (gelabelde component) gaat een competitie reactie aan met de te detecteren component in het patiëntenmonster. Het magnetische partikel met de antilichamen vormt in de eerste reactie een soort "sandwich" met de tracer of patiënten analyt. Door deze reactie wordt dit soort assays ook wel sandwich assays genoemd. Dit fenomeen komt ook voor bij de ELISA. In de laatste stap waarbij het acridinium in alkalische oplossing tot emissie komt wordt het magnetische antilichaam door een magnetisch veld van de tracer in de oplossing gehouden. Hierdoor kan ook de emissie van de tracer niet gestoord worden. Helaas is deze techniek nog niet ontwikkeld met tracers gebonden aan geneesmiddelen.

Wordt vervolgd.