

Ontwikkeling point-of-care methode voor diagnose blootstelling aan zenuwgas



De mogelijkheid om zo snel mogelijk een blootstelling aan zenuwgas te kunnen vaststellen verhoogt de kans op een succesvolle therapie aanzienlijk. Het is belangrijk dat er een methode beschikbaar is die een dergelijke blootstelling snel met eenvoudige fieldable apparatuur kan aantonen.

Probleemstelling

Het enzym butyrylcholinesterase (BuChE) is naast acetylcholinesterase (AChE) het belangrijkste aangrijpingspunt voor zenuwgassen. Daardoor is het geremde BuChE tegelijk ook een belangrijke en vroege biomarker voor blootstelling aan zenuwgas. Om een remming

van BuChE aan te kunnen tonen, kan vertrouwd worden op de klassieke activiteitsmeting van BuChE (Ellman reactie). Het probleem is echter dat met een activiteitsmeting gezocht wordt naar een kleine afname van een relatief grote hoeveelheid BuChE. Verder kenmerkt dit enzym zich door een grote inter en intra variabiliteit in activiteit. In plaats van naar een afname van BuChE activiteit te zoeken is het dus raadzamer te focussen op de directe detectie van geremd BuChE.

Werkwijze

Om een blootstelling aan zenuwgas te kunnen aantonen is het nodig onderscheid te kunnen maken tussen geremd en ongeremd BuChE

Er zijn verschillende werkwijzen/methodes gevolgd gericht op de specifieke detectie van zenuwgas geremd BuChE. De meest veelbelovende techniek berust op de verwijdering van ongeremd BuChE waarna het overblijvende geremde BuChE gedetecteerd wordt.

Resultaten

Er zijn twee methodes ontwikkeld om de scheiding tussen ongeremd en geremd BuChE mogelijk te maken. Eén methode maakt gebruik van een reactief molecuul (zogenoemde OP-biotine probe). Deze probe reageert met het ongeremde BuChE en laat het geremde BuChE ongemoeid.

Er is echter een relatief hoge concentratie probe benodigd om al het BuChE af te vangen.

Daarnaast is een tweede stap nodig om het probe-gebonden BuChE te verwijderen. Een tweede methode maakt gebruik van een OP-reactieve gel, waarbij scheiding van ongeremd en geremd BuChE in één stap wordt bereikt. Het ongeremde BuChE wordt gebonden aan de OP-reactieve gel, terwijl het geremde BuChE de gel ongemoeid passeert. Vervolgens werd het overblijvende geremde BuChE met een

immunochemische bepaling uitgevoerd. Met deze methode bleek het mogelijk om een bloostelling aan sarin aan te tonen overeenkomend met een remmingsniveau van ca 25%.

Toepasbaarheid

Er is een proof-of-concept geleverd (D 4.2.2), waarbij het mogelijk is om geremd BuChE aan te tonen.

Het concept zal nog verder moeten worden geoptimaliseerd, waarbij alsmede een fieldable uitleessysteem zal moeten worden ontwikkeld.