



Bernd Scheufele (Autor)

Sensorik und Aktorik mit piezoelektrischen Schwingquarzen
Nachweis von blutgruppenspezifischen Antikörpern in humanem Vollblut



<https://cuvillier.de/de/shop/publications/1172>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentzsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen, Germany
Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: <https://cuvillier.de>

Kapitel 1

Einleitung

Für eine Vielzahl von medizinischen und wissenschaftlichen Fragestellungen ist die genaue Kenntnis der in humanem Blut enthaltenen Antikörper von zentraler Bedeutung. So lassen sich durch den Nachweis von Antikörpern unter anderem Krankheiten diagnostizieren und Aussagen über den humoralen Immunstatus eines Menschen gewinnen. Die Detektion von blutgruppenspezifischen Antikörpern in humanem Blut ist insbesondere bei der Durchführung von Transfusionen verschiedener Blutbestandteile wie Erythrozyten, Thrombozyten, Blutplasma etc. notwendig, da es sonst zu schwerwiegenden Komplikationen kommen kann. Gelangen bestimmte Blutbestandteile in den Blutkreislauf eines Menschen, so können diese unerwünschte Transfusionsreaktionen induzieren und im schlimmsten Falle zum Tode führen. Es ist daher vor einer Transfusion unbedingt notwendig, die Blutgruppe eines Spenders und Empfängers genau zu bestimmen und geeignet aneinander anzugleichen. Ein entscheidender Prozessschritt einer vollständigen Blutgruppenbestimmung ist der innerhalb der Dissertation realisierte Nachweis blutgruppenspezifischer Antikörper des AB0-Blutgruppensystems in Vollblut.

Die heutzutage eingesetzten Verfahren und Technologien für den Nachweis von Antikörpern in Blut sind vielfältig und unterscheiden sich in ihrer Spezifität und Sensitivität. In der Regel beruhen sie jedoch stets auf dem Auftreten einer spezifischen Wechselwirkung der nachzuweisenden Antikörper mit dargebotenen Antigenen und einem geeigneten visuellen Ausleseverfahren bzw. optischen Detektionsprinzip der Antigen-Antikörper-Wechselwirkung. Die korrekte Durchführung und Auswertung der etablierten Nachweisverfahren verlangt ausgebildetes Fachpersonal, geeignete Analyse- bzw. Laborgeräte und oftmals eine medizinisch-technische Aufbereitung der zu untersuchenden Vollblutprobe. Insbesondere in zeitkritischen Situationen, die z.B. in der Notfallmedizin auftreten können, besteht somit der Bedarf nach einem einfach zu handhabenden

Verfahren zur schnellen und zuverlässigen Detektion von Antikörpern in einer möglichst kleinen Vollblutprobe.

In der vorliegenden Arbeit wurde ein biosensorisches Nachweisverfahren für Antikörper in komplexen Flüssigkeiten wie z.B. Vollblut realisiert, das Vorteile gegenüber den konventionellen Methoden in Bezug auf Flexibilität, Handhabung und Kosten besitzt. Bei diesem zum Patent angemeldeten Verfahren kommen piezoelektrische Schwingquarze zum Einsatz, die eine akustische Separation der nachzuweisenden Antikörper von den restlichen Blutbestandteilen ermöglichen und in einem zeitlich nachfolgenden Prozessschritt eine sensorische Antikörperdetektion erlauben [1]. Exemplarisch wird das Verfahren für den Nachweis der blutgruppenspezifischen Antikörper des AB0-Blutgruppensystems in humanem Vollblut angewandt und optimiert. Die konventionelle Verwendung von Schwingquarzen als massensensitive Immunsensoren eignet sich nur eingeschränkt für den Antikörpernachweis in Vollblut, da unspezifische Anlagerungen weiterer Blutbestandteile an die Quarzoberfläche eine eindeutige sensorische Bestimmung der Antikörper nahezu unmöglich machen [3].

Das realisierte Nachweisverfahren besteht aus folgenden Schritten: Zuerst werden Erythrozyten mit einem entsprechenden spezifischen Antigen für die nachzuweisenden Blutgruppenantikörper auf einer Schwingquarzoberfläche immobilisiert und danach das Blutplasma der zu analysierenden Vollblutprobe zugegeben. Beim Vorhandensein der gesuchten Antikörper bilden sich spezifische Antigen-Antikörper-Bindungen, so dass durch einen folgenden Spülschritt nur die unspezifisch reagierenden Antikörper und weitere Blutbestandteile entfernt werden. Durch eine geeignete Erhöhung der am Schwingquarz angelegten Wechsellspannung wird die Amplitude der Quarzschwingung anschließend so erhöht, dass sich die mit den gesuchten Antikörpern beladenen Erythrozyten als sog. Trägerpartikel von der Schwingquarzoberfläche ablösen. Diese mit den nachzuweisenden Antikörpern beladenen Erythrozyten können auf einen zweiten, mit einer entsprechenden biologischen Beschichtung versehenen Schwingquarz transferiert und dort spezifisch angekoppelt werden. Auf diese Weise lassen sich die separierten Antikörper mit der konventionellen Schwingquarzsensortechnologie (engl.: Quartz Crystal Microbalance (QCM)) ohne unspezifisch auftretende Adsorptionsprozesse eindeutig nachweisen, wobei die im Vergleich zu den Antikörpern große Masse der Trägerpartikel eine Erniedrigung der Nachweisgrenze induziert.

Der Nachweis von Blutgruppenantikörpern mit Erythrozyten als Trägerpartikel, auf deren Membran inhärent Antigene für die nachzuweisenden Antikörper vorhanden sind, verdeutlicht das sehr große Potenzial des realisierten Separations- bzw. Nachweisverfahrens. In Zukunft lässt sich das Anwendungsspektrum durch Verwendung geeigneter zellulärer oder artifizieller Trägerpartikel und durch Entwicklung von Schwingquarzfunktionalisierungen zur

Separation und Detektion sowohl von Antikörpern als auch von Viren, Bakterien und Proteinen in komplexen Medien erweitern.

Bereits schon heute ergänzt die innerhalb der Dissertation realisierte Detektion von blutgruppenspezifischen Antikörpern eine innovative Blutgruppenbestimmungsmethode, die Schwingquarze konventionell als massensensitive Immunosensoren einsetzt. Bei dieser Methode werden Erythrozyten über ihre charakteristischen Antigene spezifisch mit einem Schwingquarzsensoren nachgewiesen. Diese Technologie ermöglicht den Nachweis der standardmäßig geprüften Blutgruppen AB0 einer kleinen Vollblutprobe und ist insbesondere für die schnelle Bestimmung von Blutgruppen in der Notfallmedizin, aber auch beim Hausarzt äußerst interessant [2, 3].

Mittelfristig lässt sich eine zunehmende Bedeutung von Schwingquarzen im Bereich der Vollblutanalytik prognostizieren. Aufgrund ihres großen Anwendungspotenzials und durch den Einsatz mikrosystemtechnischer Verfahren können unter anderem transportable Geräte für die medizinische Diagnostik mit mikrofluidischen Komponenten und kompakte Sensoreinheiten für die Integration in größere Geräte wie z.B. Dialysatoren oder Herz-Lungen-Maschinen entwickelt werden [4, 5].

Ziele und Aufbau der Arbeit

Zur Realisierung des Nachweises der blutgruppenspezifischen Antikörper des AB0-Systems in humanem Vollblut wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit die folgenden sieben Hauptziele in Zusammenarbeit mit anderen Gruppenmitgliedern verfolgt:

- Entwicklung eines elektronischen Aufbaus zur gezielten Modulation der Schwingungsamplitude eines Schwingquarzes, um immobilisierte Trägerpartikel wie z.B. Erythrozyten und Microspheres schnell und in möglichst großer Anzahl von der Schwingquarzoberfläche ablösen zu können.
- Aufbau einer miniaturisierten Sensorplattform mit geeigneter Schwingquarzhalterung und frei zugänglicher Schwingquarzoberfläche zur mikroskopischen Beobachtung und Dokumentation des durch Amplitudenmodulation induzierten Ablöseprozesses immobilisierter Trägerpartikel.
- Aufbau bzw. Weiterentwicklung von Sensorplattformen mit zwei integrierten Schwingquarzen für die zeitlich aufeinander folgende aktorische Separation und sensorische Detektion von Blutgruppenantikörpern in humanem Vollblut.
- Entwicklung von geeigneten biologischen Funktionalisierungen der Schwingquarzoberfläche zur Immobilisierung und anschließenden

Wiederablösung von Trägerpartikeln durch Amplitudenmodulation der Quarzschwingung.

- Entwicklung von Funktionalisierungen der Schwingquarzoberfläche für den spezifischen massensensitiven Nachweis von humanen blutgruppenspezifischen Antikörpern, die auf der Oberfläche von Trägerpartikeln gebunden sind.
- Analyse und Berücksichtigung der durch das Anlegen einer hochfrequenten Wechselfspannung an einen Schwingquarz induzierten physikalischen Effekte zur Optimierung des Ablöseprozesses immobilisierter Trägerpartikel.
- Theoretische Analyse des aktorischen Ablöseprozesses und der mechanischen Eigenschaften der entwickelten Schwingquarzfunktionalisierungen.

Für die Umsetzung dieser Ziele sind die zu Grunde liegenden physikalischen Vorgänge und medizinischen bzw. biologischen Grundlagen von zentraler Bedeutung. Im 2. Kapitel der Arbeit wird daher die Theorie von piezoelektrischen Schwingquarzen vorgestellt und auf die Eigenschaften von Blut, die erythrozytären Blutgruppensysteme und Blutgruppenantikörper eingegangen.

Zur Einordnung des realisierten Nachweisverfahrens in den aktuellen Stand der Technik werden in Kapitel 3 die wichtigsten Typen von akustischen Sensorelementen und deren Anwendungsgebiete zusammengefasst sowie ein Überblick über die heute eingesetzten Verfahren und Technologien zur Detektion von blutgruppenspezifischen Antikörpern gegeben.

Die Durchführung des Nachweises von Blutgruppenantikörper des AB0-Systems in humanem Blut mit Schwingquarzen erforderte Entwicklungen im Bereich der Messtechnik, Elektronik, Programmierung, Funktionalisierung von Oberflächen und des Gerätebaus, die in Kapitel 4 beschrieben werden.

Die durchgeführten Entwicklungsarbeiten bildeten die Basis für die Analyse und Optimierung der aktorischen Wiederablösung immobilisierter Erythrozyten (Kapitel 5) und die experimentelle Realisierung des Nachweises der blutgruppenspezifischen Antikörper des AB0-Blutgruppensystems in humanem Vollblut (Kapitel 6).

In Kapitel 7 werden die innerhalb der Arbeit entstandenen Entwicklungen und gewonnenen Ergebnisse zusammengefasst und diskutiert. Abschließend wird auf das Potenzial des realisierten Separations- bzw. Nachweisverfahrens mit Schwingquarzen eingegangen und ein Ausblick auf zukünftige Einsatzmöglichkeiten gegeben.