

İmmunokimyasal yöntem, antijen-antikor etkileşimlerini kullanarak ölçülebilir bir sonuç üreten bir analiz yöntemidir. Buradaki antijen, numunedeki analittir. Antijen-antikor birleşiminden oluşan sinyal şiddeti numunedeki antijenin (analit) konsantrasyonu ile orantılıdır. Buna karşılık birçok rutin klinik kimya testleri reaktif ve hasta numunesi arasındaki kimyasal reaksiyonları kullanarak sonuç üretir. Dolayısıyla immunokimyasal yöntem, antijen- antikor birleşimi sonucu oluşan sinyal (absorbans) değişimlerini konsantrasyon hesaplamasında kullandığı için kolometrik testler gibi diğer laboratuvar test yöntemlerinden farklılık gösterir. Bazı immunokimyasal yöntemler direkt olarak antijen ölçümü yapar, antikora bakmaz. Örneğin, terapötik ilaç düzeyi konsantrasyonunu ölçen bir testte antijen, antikora bağlanan ilaçtır.<sup>1</sup>

### ► Tarihsel Gelişim

1950 yılında, Dr. Solomon Berson ve Dr. Rosalyn Yalow, Bronx Veterans Administration Hastanesi'nde diyabetik hastaların insülin metabolizması ile ilgili araştırma yaptılar. İnsülin ile tedavi edilen hastalarda insüline bağlanan globulinlerin aslında antikorlar olduğunu buldular. Bu buluşları ile radyoimmunokimyasal (RIA) yöntemini geliştirdiler ve bu çalışma Rosalyn Yalow'a 1977 yılında Tıp/Fizyoloji alanında Nobel Ödülü getirdi ve bu ödülü alan ilk Amerikalı doktor oldu.

Daha sonra birçok laboratuvar, radyoizotopları antikor ve antijenleri etiketlemek/işaretleme için kullandı. Radyoaktif maddelerin sağlık yönünden zararlı etkileri nedeni ile araştırmacılar daha sonra alternatif etiketleme/işaretleme yöntemleri geliştirdiler. Perlmann ve Engvall tarafından 1971 yılında İsveç'te ve aynı zamanda van Weeman ve Schuurs tarafından Hollanda da EIA-(Enzym Immunoassay) ve ELISA-(Enzym Linked Immunoassay) yöntemleri geliştirildi.

1970'li yıllarda Syva firması tarafından EMIT – (Enzym Multiplied Immunoassay Technique) ile enzim bağlantılı immunokimyasal yöntem geliştirildi. Bu homojen immunokimyasal yöntem otomatize edilebiliyor ve ayırıştırma adımları

Immunokimyasal yöntemlerde kullanılan antikorlar belli madde moleküllerini yakalama özelliğine sahip olduğu için madde tespit kapsamı sadece reaktif içinde kullanılan antikorun çapraz reaksiyon kabiliyeti ile sınırlıdır. Bu nedenle immuno-kimyasal yöntemle analiz neticesinde elde edilen negatif netice numunenin tamamen negatif olduğunu yani başka maddelerin/moleküllerin olmadığını göstermez. Yeni psikoaktif maddeler (sentetik esrarlar, sentetik opioidler, katinonlar vs) bunun en önemli örneğidir. Bu maddelerin etken madde moleküllerinin sürekli değişmesi nedeni ile mevcut immuno-kimyasal kitler ile tespit edilmesini imkansız kılmaktadır. Dolayısıyla analize alınan idrar numunesinde örneğin sadece JWH-018 aranmış ve tespit edilmemişse bu analiz neticesi “sentetik esrarlar negatif” şeklinde verilemez.

## ► Özet

Tüm immuno-kimyasal yöntemler uygulama aşamasında, laboratuvarın mevcut koşullarına göre valide/verifiye edilmelidir. Hasta numuneleri ile çalışılacaksa yine hasta numuneleri ile hazırlanmış Dış Kalite Kontrol (EQA) yeterlilik programları tercih edilmelidir. Test sonuçlarının, metabolitlerden, reçeteli veya reçetesiz kullanılan ilaçlardan, diğer kötüye kullanılan maddelerden, diyet veya diğer faktörlerden/hastalıklardan kaynaklanabilecek interferanslara karşı bilinçli olunmalıdır. Testin cihazdaki orijinal aplikasyonlarının laboratuvar içinde değiştirilmesi/modifiye edilmesi sakıncalıdır. Reaktif hacminin azaltılması, reaktifin seyreltilmesi gibi uygulamaların testin özgüllüğünü etkileyebileceği, bu durumun ürünün garantisini bozabileceği ve CE etiketlemesine aykırılık oluşturarak üretilen sonuçların sorumluluğunun laboratuvarın üzerine bırakılabileceği de unutulmamalıdır.

## Kaynaklar

1. Flanagan RJ, Taylor A, Watson I, Whelpton R. Fundamentals of Analytical Toxicology. J.Wiley&Sons, Chichester; 2007. p.309-335.
2. Drug Testing Book. All about drug testing. www.drugtestingbook.com
3. Abbott Diagnostics, Learning Guide: Immunoassay, 2008. p.12
4. Bahadır EB, Sezgentürk MK. Lateral Flow Assays: Principles, design and labels. Trends in Analytical Chemistry; 2016;82:286-306.
5. William AC and Loor R. 35 CEDIA, a Homogeneous Enzyme Immunoassay System. The Immunoassay Handbook. 3<sup>rd</sup> ed. Elsevier Ltd, David Wild, 2005; p.412-417.
6. Selby C. Interference in immunoassay, Annals of clinical biochemistry, 1999;36(6):704-721.
7. Oellerich M and Armstrong VW. The role of therapeutic drug monitoring in individualizing immunosuppressive drug therapy: recent developments. Therapeutic drug monitoring, 2006;28(6):719-725.
8. Regester LE, Chmiel JD, Holler JM, Vorce SP, Levine B, Bosy TZ. Determination of Designer Drug Cross-Reactivity on Five Commercial Immunoassay Screening Kits. J Anal Toxicol 2015;39(2):144-151.