

## واکنشهای ایمنوآسی

مقدمه:

مبنای تمامی واکنش های حساس ایمنوآسی، بررسی واکنش اولیه بین آنتی ژن و آنتی بادی با استفاده از یک نشانگر می باشد که در این گروه روش هائی چون الایزا (ELISA) و رادیو ایمنوآسی (RIA) قرار گرفته است که در این آزمون ها به ترتیب از نشانگر های آنزیمی یا رادیو اکتیو جهت شناسائی استفاده می شود.

روش کار: برای افزایش دقت کار میتوان تمام نمونه ها و کنترل ها را بصورت دوتایی ریخته و در پایان از نتایج بدست آمده میانگین گرفت. در این آزمایش برای ریختن نمونه می توانید از جدول زیر استفاده نمائید.

نمونه	سرم کنترل	استانداردها	محلول ها
		۵۰ میکرولیتر	استانداردها
	۵۰ میکرولیتر		سرم کنترل
۵۰ میکرولیتر			نمونه

(۱) ۵۰ میکرولیتر از کنترل، استاندارد ها و سرم بیماران را به درون چاهکها بریزید، دهانه چاهک ها را با چسب مخصوص پلیت بیوشانید و اجازه دهید تا ۵ دقیقه در دمای اتاق بماند.

(۲) محتوای تمام چاهک را خالی نموده و ۵ بار به میزان ۳۰۰ میکرولیتر محلول شستشو در هر کدام از چاهکها ریخته و سپس محتویات را خالی نموده و این مرحله شستشو را ۳-۵ بار تکرار نمائید.

پس از هر بار شستشو، چاهکها را با کاغذ نم گیر خشک نمائید.

”توجه به این نکته که چاهک ها کاملا خشک گردد و پس از آخرین مرحله شستشوحباب وجود نداشته باشد، بسیار مهم است.“

(۳) ۵۰ میکرولیتر آنتی بادی کونژوگه با آنزیم HRP (یا هر آنزیم دیگری) را به تمام چاهکها اضافه نمائید و پلیت را ۵ دقیقه در دمای اتاق نگهدارید.

(۴) مانند مرحله ۲ عمل شستشو را سه تا پنج بار انجام دهید و پلیت را کاملا خشک نمائید.

(۵) ۱۰۰ میکرولیتر سوبسترا (آب اکسیژنه) + کروموژن (TMB) به تمام چاهکها اضافه نمائید و پلیت را بمدت ۵ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی انکوبه نمائید.

(۶) ۱۰۰ میکرولیتر محلول Stopping ( اسید سولفوریک یک نرمال ) را به تمام چاهک ها اضافه نمائید.

(۷) جذب نوری رنگ حاصله را در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت نمائید.

دانشگاه علوم پزشکی خدمات بهداشتی درمانی ایران	دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده پزشکی، گروه ایمنی شناسی پزشکی
گردآورنده: کارشناسان آزمایشگاه ایمنولوژی	عنوان دوره: ایمنولوژی عملی ویژه دانشجویان پزشکی عمومی
تاریخ بازنگری: ۹۸/۴/۸	عنوان درس: واکنش های ایمنوآسی

خلاصه مراحل انجام آزمون الایزا (ELISA) (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay):

- ۱) افزودن نمونه (۵ دقیقه) -----< شستشو
- ۲) افزودن آنتی بادی کونژوگه (۵ دقیقه) -----< شستشو
- ۳) افزودن سوبسترای اختصاصی (۵ دقیقه)
- ۴) متوقف کردن واکنش
- ۵) خواندن جذب نوری با الایزا ریدر
- ۶) رسم منحنی استاندارد یا محاسبه نتایج بر اساس میانگین حداکثر مقدار جمعیت نرمال