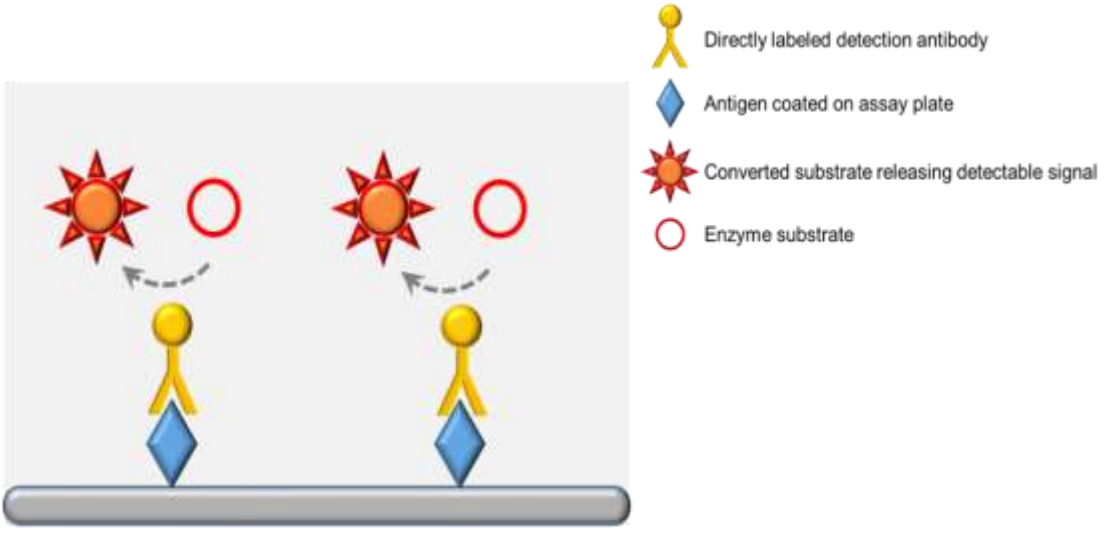
المختبر الخامس

الامتصاصية المناعية المرتبطة بالانزيم Enzyme Linked Immunosorbant Assay (ELISA)

هي اهم الطرق المصلية ،وتمثل تفاعل المستضدات مع الاضداد النوعية لها او بالعكس خارج الجسم الحي اي في داخل المختبر،وتكون اما **نوعية** او **كمية**. ومبدأ عملها بصورة عامة، يتضمن تغليف **96 حفرة 96-well لصفيحة Microwell plate** اما **بالاضداد النوعية** (في حالة تشخيص **المستضدات** في العينة) او **بالمستضدات** (في حالة تشخيص **الاضداد** في العينة)،ثم يتم اضافة العينة المراد تشخيصها،واضافة **الانزيم** (**Horse Radish Peroxidase (HRP**) **المقترن بالاضداد Enzyme Conjugated antibody غالبا** الى الحفر، وبعد **الحضن**،يتم الغسل لازالة أي من الارتباطات غير المرغوبة ،وفي حالة وجود المادة الهدف المراد تشخيصها سوف يتكون معقد مكون من ارتباط جميع المواد المضافة ،وبعد ذلك تضاف **المادة الاساس Substrate** المحتوية على مادة ملونة الى الحفر،وبعد الحضن، تكون اللون الازرق دليل على وجود المادة الهدف.واخيرا يتم اضافة **محلول التوقف Stop solution** الذي يحول اللون الازرق الى الاصفر. ويتم قياس الامتصاصية للتفاعل بواسطة **جهاز ELISA reader** تحت طول موجي قدره غالبا **450nm**. وهذه الطريقة تكون على انواع مختلفة:

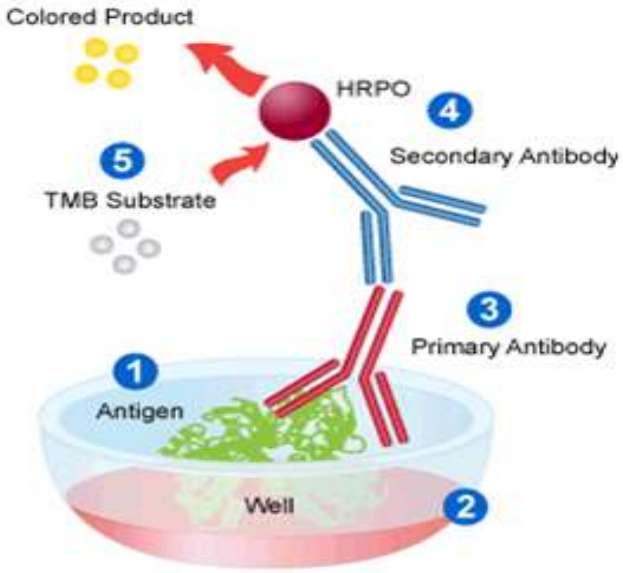
1. الاليزا المباشرة Direct ELISA

هي اقدم الطرق تستعمل لتشخيص المستضدات في العينة. وسميت مباشرة لان **الاضداد الابتدائية Primary antibody** تكون هي المقترنة مع الانزيم وتتفاعل مباشرة مع المستضد في العينة الذي يترك اولا ليغطي الحفر ويرتبط معها.



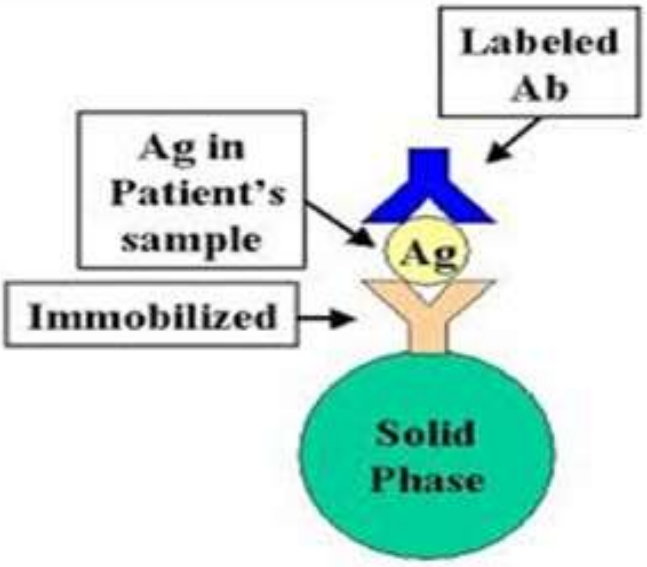
2. الاليزا غير المباشرة Indirect ELISA

تستعمل لتشخيص الاضداد في العينة. وسميت غير مباشرة لان **الاضداد الثانوية Secondary antibody** تكون هي المقترنة مع الانزيم وتتفاعل مع **الاضداد الابتدائية** المراد تشخيصها في العينة المرتبطة مع المستضدات المغلفة لصفيحة الاختبار. وتعد الطريقة المباشرة اسرع ولا تحتاج الى الاضداد الثانوية التي يمكن ان تتفاعل مع بعض مع مراحل حضن اقل.



3. الاليزا الشطيرية Sandwich ELISA

تستعمل لتشخيص الاضداد او المستضدات في العينة. وسميت شطيرية لان اما المستضد يتوسط الاضداد الاولية والاضداد المغلفة لصفيحة الاختبار او بالعكس مثل الشطيرة.



4. الاليزا التنافسية Competitive ELISA

تستعمل لتشخيص الاضداد او المستضدات في العينة. وسميت بذلك بسبب اضافة مادة تشبه المادة الهدف المراد تشخيصها وتنافسها مع الارتباط وتكون الاولوية بالارتباط الى المادة الهدف بسبب كثرة تركيزها ان وجدت، لذلك تغير اللون دليل نتيجة سالبة بسبب ارتباط المادة الشبيه للمادة الهدف التي تكون غالبا مقترنة مع الانزيم.