



С.Ж. Асфендияров атындағы Қазақ Ұлттық Медицина Университеті

Кафедра: Микробиология, иммунология және вирусология.

Иммуноферментті анализді жүргізу методикасы.



Алматы 2012

Мақсаты:

Иммуноферментты анализ - науқас сарысуындағы
қоздырушы антиденелерді

немесе

зерттелетін материалдың **қоздырушы**
антигендерін анықтау үшін арналған.

Тест- система

Тест-система – бұл тазартылған рекомбинантты қоздырушы антигендері полистиролды планшеттің шұңқыр бетінде адсорбцияланған жиынтығы.

Олар адамның қан сарысуындағы қоздырушы антигендердің спецификалық иммуноглобулиндерін анықтау үшін арналған.

Бұл әдіс клиникалық және эпидемиологиялық зерттеулерде қолданылуы мүмкін.





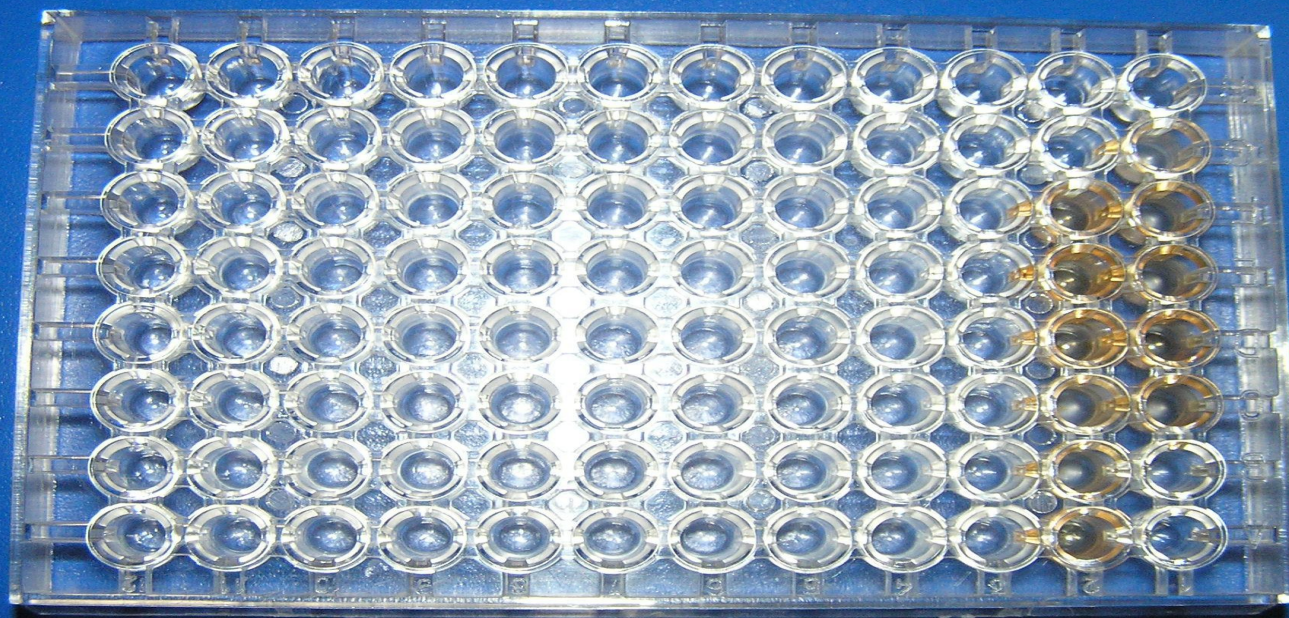
Зерттелетін материал:

Адамның қан сарысуы.



Анализдің жүргізілуі:

Полистиролды планшеттің шұңқырында өткізіледі.



Зерттеу методикасы.

Зерттелетін материалды үстінде антигендермен сорбирленген планшет шұңқырларына енгізеді.

30-60 минут $T=37^{\circ}\text{C}$ инкубациялайды. Антиденелер антигендермен байланысады.

Шұңқырларды байланыспаған спецификалық антиденелерден бірнеше рет шайып, ферменттермен таңбаланған антиденелерді иммуноглобулиндерге қосады.

Инкубациялайды, шайып жібереді.

Фермент субстратын және хромоген (химиялық реакция нәтижесінде өзінің түсін өзгертетін зат) қосады.

Ферментативтік реакцияның өнімі әсерінен хромоген өз түсін өзгертіп - реакция нәтижесі анық көрінеді.

Антиденелер мен антигендерді анықтау.

1. Зерттелетін сұйықтықты үстінде антигендермен сорбирленген планшет шұңқырына енгізеді.

2. Инкубация кезінде антиденелер антигендермен байланысады.

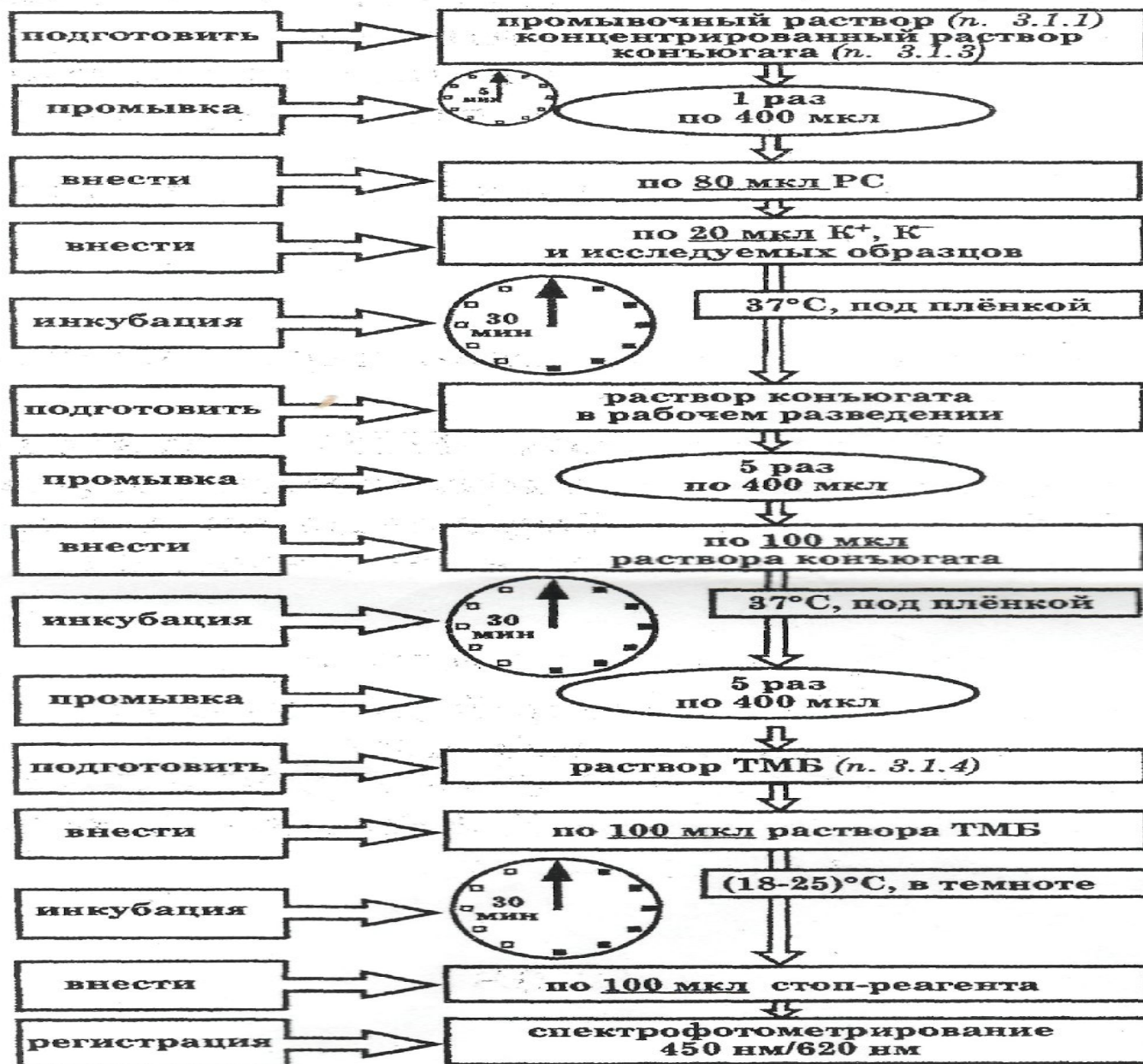
3. Планшетті байланыспаған антиденелерден бірнеше рет шайып, ферменттермен таңбаланған антиденелерді иммуноглобулиндерге (екіншілік антиденелер) қосады.

4. Планшетті қайтып шаяды, субстрат ферментін және хромоген қосады.

5. Ферментативтік реакцияның өнімі әсерінен хромоген өз түсін өзгертеді.

Ферментпен таңбаланған екіншілік антиденелердің антиген-антидене комплексімен қанша көп байланысы болса, соншама фермент белсенділігі және ерітінді боялу қарқындылығы көп болады. Антиденелер концентрациясы сынамасын спектрофотометриялық әдісімен анықтайды яғни боялған ерітіндінің оптикалық тығыздығымен. Сынамадағы антиденелерді анықтау үшін де осы әдіс қолданылады. Бұл жағдайда зерттелетін антигендерге антиденелермен сорбирленген планшет қолданылады, ферментпен таңбаланған екіншілік антиденелерде осы антигенге бағытталады.

Схема анализа D-1964



Қорытынды есеп

Спектрофотометрде - боялған ерітіндінің оптикалық тығыздығы бойынша (боялудың қарқындылығы)



4.1. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Оптическая плотность сыворотки	Результат	Титр IgG
от 0 до $ОП_{крит}$	отрицательный	—
от $ОП_{крит}$ до $2 \times ОП_{крит}$	слабоположительный	1:5
от $2 \times ОП_{крит}$ до $4 \times ОП_{крит}$	положительный	1:10
от $4 \times ОП_{крит}$ до $6 \times ОП_{крит}$	сильноположительный	1:20
от $6 \times ОП_{крит}$ до $8 \times ОП_{крит}$	сильноположительный	1:40
от $8 \times ОП_{крит}$ до $10 \times ОП_{крит}$	сильноположительный	1:80
более $10 \times ОП_{крит}$	сильноположительный	1:160



Иммуноферменттің оң қорытындысы диагноз ретінде есептелмейді.

Диагноз қою үшін дәрігер барлық клиникалық және лабораториялық деректер жиынтығын тексеруі қажет.

Аурудың кезеңін анықтау үшін белгілі бір мөлшердегі антиденелерді иммуноферментті анадлиз әдісімен қозғалыста анықтайды.

