

# ENZYME LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY (ELISA)

Prof.Dr. Yılmaz Akça  
Prof.Dr. Feray Alkan  
Prof.Dr. Aykut Özkul  
Prof.Dr. Seval Bilge-Dağalp  
Prof.Dr. M. Taner Karaoğlu  
Prof.Dr. Tuba Çiğdem Oğuzoğlu

Tanım: Enzim ile işaretli antikorlar (konjugat) ve substrat kullanılarak , şüpheli materyalde bulunan etken (ya da Ag) ya da bunlara karşı oluşmuş antikor varlığının araştırılması amacıyla kullanılan bir yöntemdir.

## Kullanım Amaçları

- Şüpheli materyalde etken/antijen varlığının araştırılması
- Antikor tesbiti

# ELISA testi uygulaması için,

➤ ELISA tableti (polysteren, polyvinil, vb)

➤ Konjugat

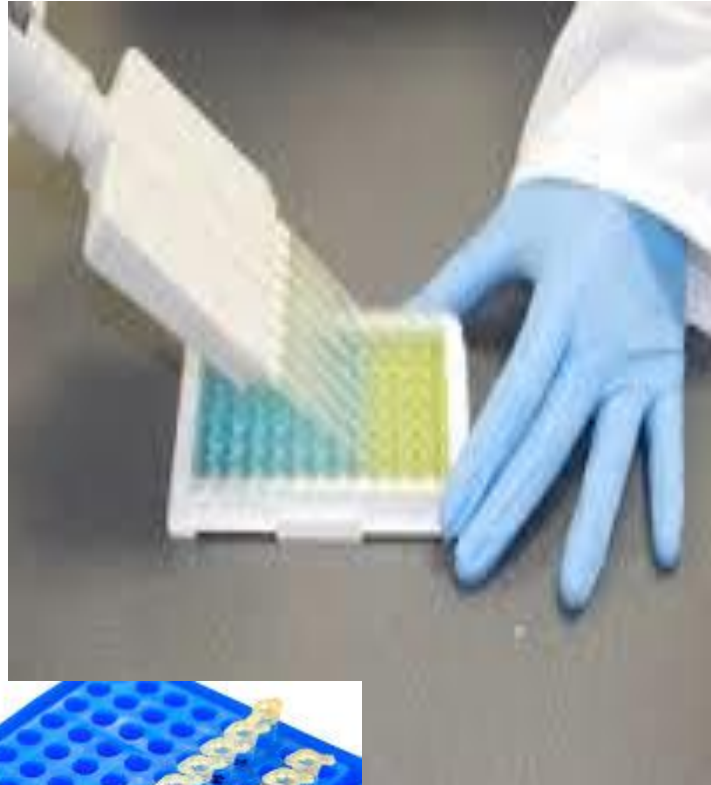
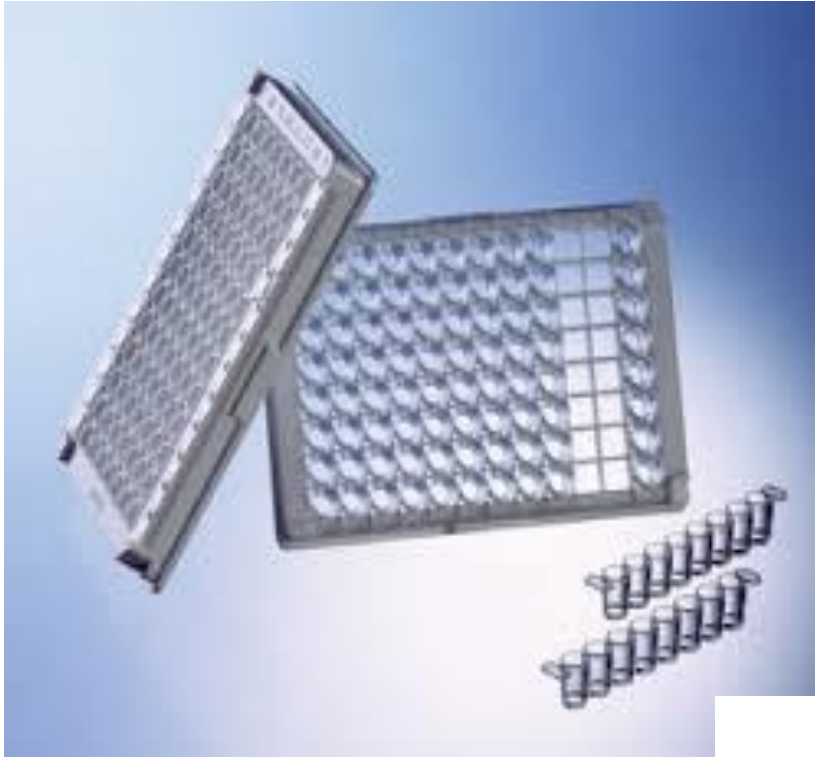
➤ Substrat

➤ Virus (Bilinen yada şüpheli)

➤ Serum (bilinen veya şüpheli)

➤ ELISA okuyucusu

➤ Test solusyonları



Konjugat: Enzim ile işaretli antikor.  
( işaretleyici madde + Antikor)

➤ **ELISA testinde kullanılan işaretleyici enzimler peroksidaz, alkalen fosfataz, glukoz oksidaz,**

➤ **B-galoktosidaz,vb.**

➤ **En sıklıkla kullanılan işaretleyiciler ise peroxidase ve alkalen fosfatazdır.**

# Konjugatın yapısındaki antikor

## ➤ **Tespiti amaçlanan etken için spesifiktir**

(Örneğin ELISA testi “A” antijenin varlığını araştırmak için yapılıyor ise antikor “A”antijenine karşı oluşmuştur)

## ➤ **Primer antikora spesifiktir.** ( Örneğin sığır serumunda bir antikor varlığı arınıyor ise, anti-sığır Ig G’ler konjugatın yapısında bulunur)

➤ Direkt ELISA testinde konjugat antijene karşı, indirekt ELISA testinde ise primer antikora karşı hazırlanmıştır.

# Substrat

➤ Konjugatın yapısındaki enzim ile reaksiyona girerek, antijen-antikor komplekslerinin oluşumunu ortaya koyan maddedir. Reaksiyon sonucunda substratın yapısındaki kromajen maddenin yapısına göre mavi, yeşil, sarı, vb. renklerde ürünler oluşur.



# Konjugat-Substrat İlişkisi

## ↗Konjugat-Substrat-Renk

↗**Peroksidaz**- OPD-Portakal sarısı

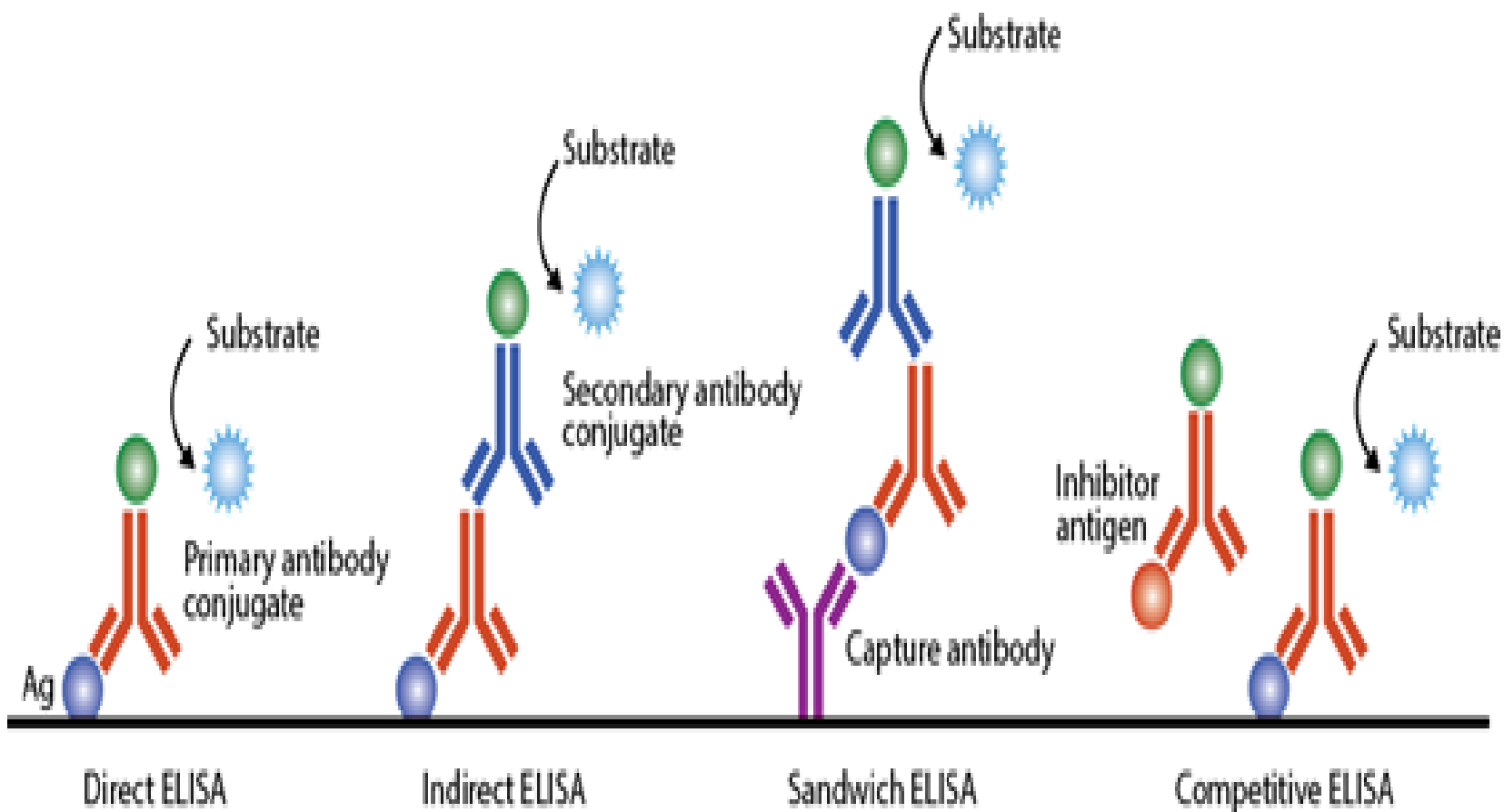
↗ -5aminosalisilik asit-menekşe

↗ -Orthotolidine- mavi

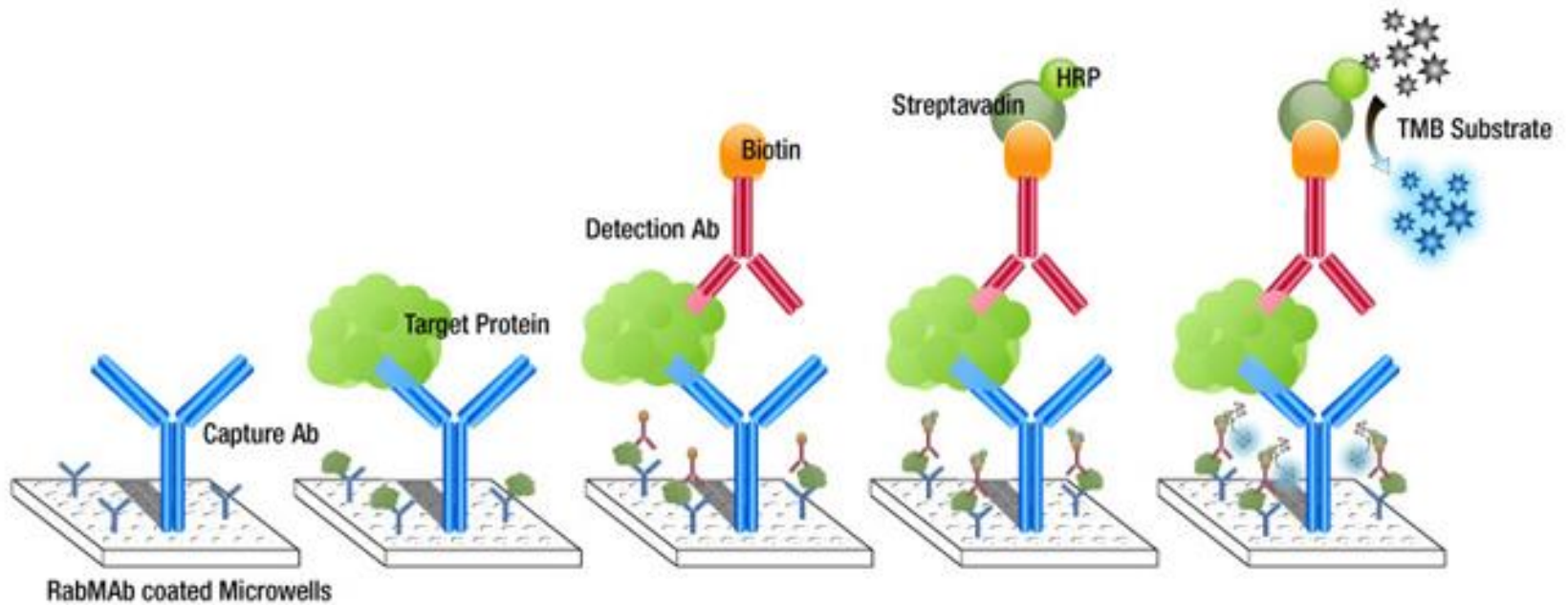
↗**Alkalen Fosfataz**- p nitrophenil fosfat-sarı



# Test Yöntemleri



# Biotin-Streptoavidin ELISA



## DİREKT ELISA

➤ **Yöntemin esası**, ELISA tabletine kaplanmış, şüpheli antijene spesifik antikorlardan yararlanarak **antijenin varlığının** incelenmesidir.

# Testin Uygulanışı

- 1. Tablet Bilinen Ab ile kaplanır.
- 2. Şüpheli materyal (Ag) konulur.
- 3. Virusa spesifik konjugat ilave edilir.
- 4. Substrat konulur.
- NOT: Her basamaktan sonra uygun süre inkubasyonu takiben yıkama işlemi yapılır.



## İndirekt ELISA

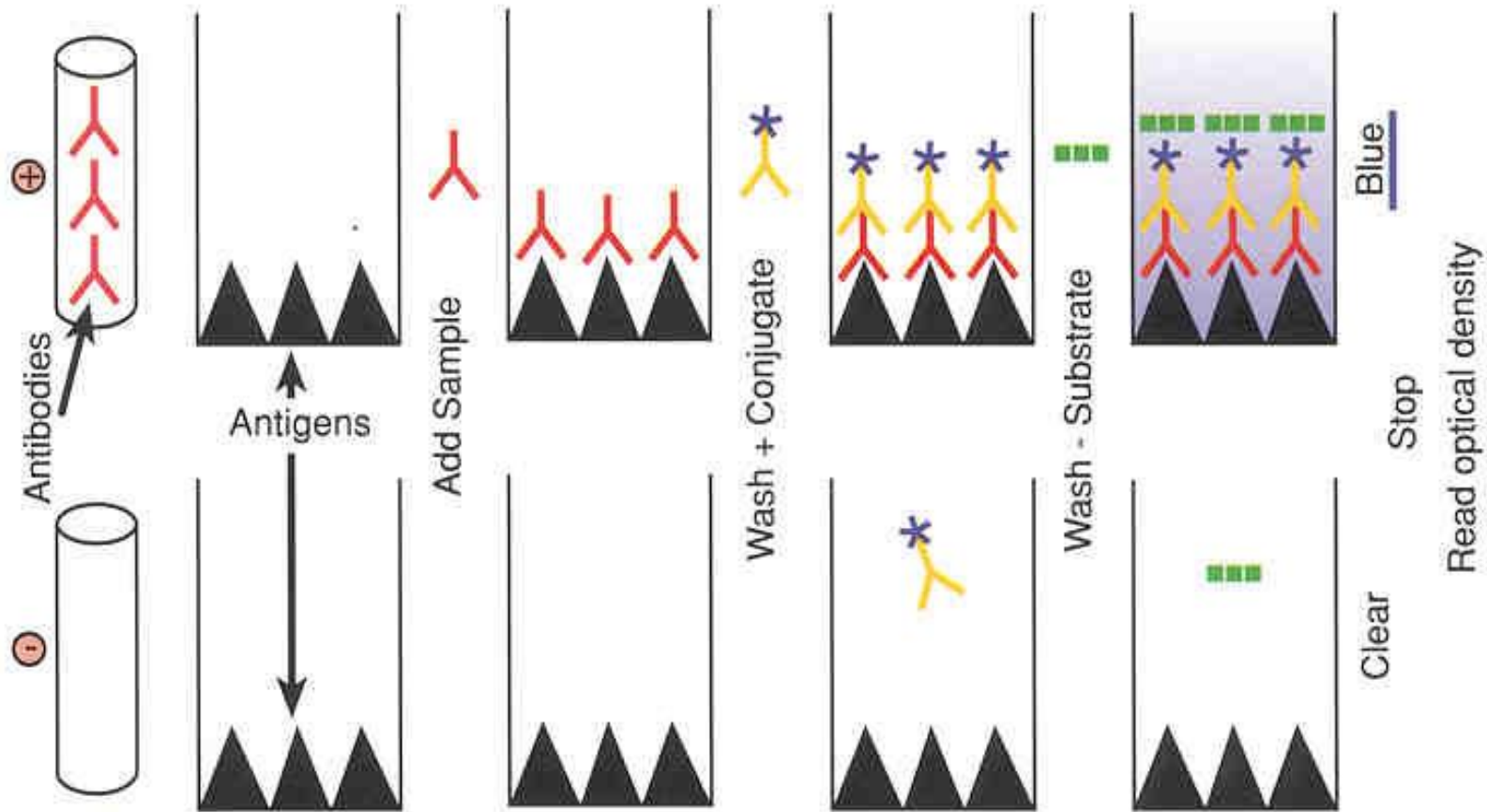
➤Yöntem, şüpheli serumda **antikorların saptanması** ve **titrelerinin ölçülmesi** amacıyla kullanılır.



# Testin uygulanışı

- 1. Tablet bilinen antijen ile kaplanır.
- 2. Süpheli kan serumu ilave edilir.
- 3. Konjugat ilave edilir. ( Anti-antikordur)
- 4. Substrat konulur.
- NOT: Her basamaktan sonra uygun süre inkubasyonu takiben, yıkama işlemi yapılır.

## Diagram of steps in an Indirect ELISA



CVM PRODUCTION ANIMAL SERVICES

1-800-548-9997 (Livestock)

1-800-943-3999 (Poultry)

09-62241-00

# Indirekt ELISA

