

УДК 616:619

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

*Королец Е.А.¹, студентка 4 курса факультета ветеринарной
медицины и биотехнологии*

*Научные руководители – Васильева Ю.Б.¹, кандидат
ветеринарных наук, доцент; Колбасова О.Л.², кандидат
биологических наук, доцент; Барышникова Е.И.², кандидат
биологических наук, заведующая лабораторией
ФГБОУ ВО Ульяновская ГСХА¹
ГНУ ВНИИВВиМ²*

Ключевые слова: ИФА, лейкоз, антиген, антитело

*Работа посвящена освоению методики проведения иммуно-
ферментного анализа.*

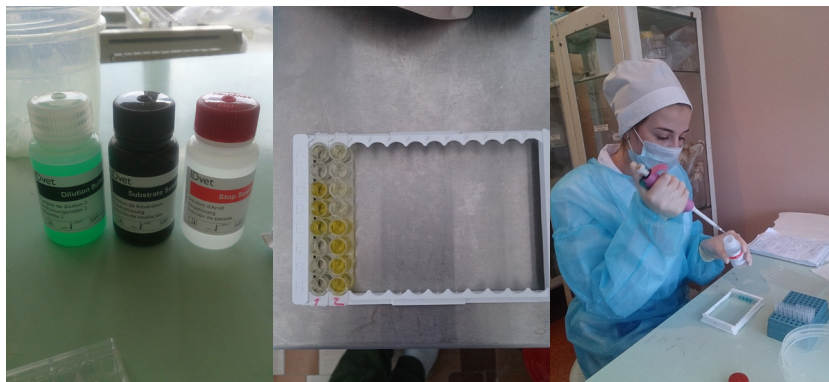
Целью нашей работы являлось освоение методики проведения иммуноферментного анализа для выявления антител вируса лейкоза крс.

Настоящая работа выполнена на базе лаборатории «Ретровирусных инфекций животных» ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии.

Для проведения ИФА использовали коммерческую тест-систему фирмы IDVet «Тест-система для выявления антител к gP51 вируса лейкоза в индивидуальных образцах сыворотки крови, а также в пуле из 10 сывороток крови КРС» (рис. 1-3).

Для проведения ИФА перед началом работы необходимо подготовить образцы. Во избежание разницы во времени инкубации образцов, рекомендуется предварительно внести все образцы и контроли в отдельный 96-луночный микропланшет, затем внести многоканальным дозатором в рабочий микропланшет. При подготовке промывочного раствора нужно довести концентрат промывочного раствора (20X) до комнатной температуры перед разведением. При наличии кристаллов необходимо тщательно перемешать [1-8].

Для приготовления промывочного раствора (1X) необходимо развести концентрат промывочного раствора (20X) в соотношении 1:20 в дистиллированной воде.



**Рисунок 1 -
Компоненты тест-
системы**

**Рисунок 2 - Панель
образцов после
внесения стоп-
реагента.**

**Рисунок 3 -
Проведение ИФА**

Постановку ИФА и учет результатов проводили согласно инструкции изготовителя. При внесении в лунки микропланшета образцов и контролей исследуемых сывороток, антитела, специфичные к вирусу лейкоза, связывались на твердой фазе с антигеном, образуя комплексы антиген-антитело. После этапа промывки в лунки вносили конъюгат, меченный пероксидазой, который связывается со свободными эпитопами антигена, образуя комплексы антиген-конъюгат. После отмывки микропланшета в лунки добавляли субстратный раствор (ТМБ). Реакцию останавливали, добавляя стоп-реагент. Окрашивание раствора в лунках свидетельствовало об отсутствии или наличии в исследуемых образцах антител против вируса лейкоза: при отсутствии антител раствор имел синий цвет, который становится желтым после добавления стоп-реагента; при наличии антител раствор не окрашивался.

Результаты теста считали достоверными, если: отношение между средними значениями оптической плотности положительного контроля (ОПК+) и отрицательного контроля (ОПК-) меньше, чем 0,3 или среднее значение оптической плотности отрицательного контроля (ОПК-) больше 0,7.

Для каждого образца рассчитывается значение S/N:

$$S/N \% = \frac{\text{ОП образца}}{\text{ОП к-}} \times 100\%$$

ОП к-

Значение S/N	Интерпретация результата
$S/N\% \leq 50\%$	Положительный
$50\% < S/N\% < 60\%$	Сомнительный
$S/N\% \geq 60\%$	Отрицательный

В результате проведенной работы мы освоили методику проведения ИФА. Рекомендуем данный метод к внедрению в практику для быстрой и точной лабораторной диагностики лейкоза.

Библиографический список

1. Васильева Ю.Б. Интерактивные формы обучения студентов / Ю.Б. Васильева, И.И. Богданов, С.Н. Золотухин, О.Н. Марьина / Инновационные технологии в высшем профессиональном образовании. Материалы научно-методической конференции профессорско-преподавательского состава академии . - 2013. - С. 39-42.
2. Васильева Ю.Б. Эпизоотология и инфекционные болезни животных / Ю.Б. Васильева, И.И. Богданов / Для студентов по специальности «Ветеринария» / Ульяновск, 2015.
3. Васильева Ю.Б. Биопрепараты для детекции бактерий *Bordetella bronchiseptica* / Ю.Б. Васильева, Д.А. Васильев, А.В. Мастиленко, Д.Г. Сверкалова / Инфекция и иммунитет. - 2014. - № 5. - С.70-71.
4. Мухин Е.Б. Разработка препарата на основе бактериофагов / Е.Б. Мухин, Ю.Б. Васильева, А.Г. Семанин, А.В. Загуменнов, Е.И. Суркова / Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны. - 2015. - С. 147-148.
5. Найденова В.А. Инфекции: неизбежность или безответственность? / В.А. Найденова, Ю.Б. Васильева / Студенческий научный форум - 2015. - VII Международная студенческая электронная научная конференция, электронное издание. 2015.
6. Нафеев А.А. Зоонозные инфекции, с природной очаговостью, с позиции эпидемиологического и эпизоотологического диагнозов / А.А. Нафеев, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, Ю.Б. Васильева Ю.Б. / Актуальные вопросы ветеринарной науки. Материалы Международной научно-практической конференции. - 2015. - С. 50-53.

7. Нафеев А.А. Оптимизация эпидемиологического надзора с применением современных технологий / А.А. Нафеев / Медицинская паразитология и паразитарные болезни. - 2009. - № 2. - С. 57-58.
8. Пирюшова А.Н. Анализ эпизоотической ситуации по карантинным инфекциям / А.Н. Пирюшова, Ю.Б. Васильева / Студенческий научный форум -2014. - VI Международная студенческая электронная научная конференция: Электронное издание. 2014.

THE METHOD OF IMMUNOASSAY

Korolets E.A.

Keywords: *IFA, leukosis, antigen*

The work is devoted to development of methods of immunoassay.