



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
Facultad de Veterinaria
Departamento de Sanidad Animal



СТАНДАТНАЯ МЕТОДИКА ПОСТАНОВКИ НЕПРЯМОГО ВАРИАНТА ИФА С ПОМОЩЬЮ КОММЕРЧЕСКОГО НАБОРА ДЛЯ СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ АЧС

jmvizcaino@vet.ucm.es
Av/ Puerta de Hierro s/n.
28040 Madrid.

Tel: (34) 913944082
Fax: (34) 913943908



1. МАТЕРИАЛЫ И РЕАГЕНТЫ

- Перманентная ручка
- Латексные перчатки
- Пробирка на 10 мл
- Плашка сенсibiliзирoванная
- Плашка несенсибилизированная
- Многоканальная пипетка
- Дозатор жидкости
- Набор микропипеток на 200 μ l
- Термостат на 37°C
- Реагенты из набора: ASF COMPACT ELISA (INGENASA®)

2. МЕТОДОЛОГИЯ:

2.1 Подпишите несенсибилизированный планшет, в котором будут выполнены разведения анализируемых и контрольных сывороток.

2.2 Разведите сыворотки:

50 μ l сыворотки + 50 μ l раствора для разведения

2.3 Подпишите сенсibiliзирoванную планшету. Маркируйте контрольные лунки.

2.4 Добавьте по 100 μ l разведенных сывороток в двух повторах в лунки планшеты. Рекомендуется использовать лунки планшета в повторностях и для контрольных сывороток.

2.5 Накройте планшет и инкубируйте в течение 1 часа при температуре 37°C.

2.6 Промойте планшеты 4 раза отмывочным буфером. Переверните их на бумажную салфетку.

❖ **Отмывочный буфер:** Разведите отмывочный буфер, предоставленный в составе набора в 24 раза дистиллированной водой (например: 40 мл концентрата + 960 мл дистиллированной воды)

2.7 Приготовьте конъюгат. Добавьте по 100 μ l конъюгата на лунку.

2.8 Накройте планшет и инкубируйте в течение 1 часа при температуре 37°C.



- 2.9 Промойте планшеты 4 раза отмывочным буфером. Переверните их на бумажную салфетку.
- 2.10 Добавьте по 100 μ l субстрата в каждую лунку.
- 2.11 Инкубируйте 15 минут в темном помещении.
- 2.12 Добавьте 100 μ l стоп-буфера.
- 2.13 Учитывайте результаты с помощью спектрофотометра UV/VIS при длине волны 459 нм.

3. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

➤ ВАЛИДАЦИЯ ТЕСТА:

Тест считается валидным, если оптическая плотность (ОП) отрицательного контроля (ОК) как минимум в 4 раза выше ОП положительного контроля (ПК).

$$\frac{\text{ОП ОК}}{\text{ОП ПК}} > 4$$

➤ РАСЧЕТ КРАЙНИХ ЗНАЧЕНИЙ ДЛЯ ПОЛОЖИТЕЛЬНОГО И ОТРИЦАТЕЛЬНОГО КОНТРОЛЕЙ:

Предел для положительного контроля: $\text{ОК} - ((\text{ОК} - \text{ПК}) \times 0,5)$

Предел для отрицательного контроля: $\text{ОК} - ((\text{ОК} - \text{ПК}) \times 0,4)$

➤ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ:

Положительная сыворотка: ОП < Положительного предела

Отрицательная сыворотка: ОП > Отрицательного предела

Сомнительная сыворотка: ОП между обоими пределами

- ❖ ПК: Положительный контроль
- ❖ ОК: Отрицательный контроль
- ❖ ОП: Оптическая плотность