

ICS 65.020.30
B 41



中华人民共和国国家标准

GB/T 17999.9—1999

SPF 鸡 间接免疫荧光试验

SPF chicken—Indirect immunofluorescent assay

1999-11-10 发布

2000-04-01 实施

国家质量技术监督局 发布

前 言

鸡传染性贫血(CIA),是近年来新发生的鸡病,国外均对其进行监测。CIA在我国鸡群中也有流行,因此,SPF鸡微生物学质量控制国家标准将其列入监测项目。目前国内已建立了SPF鸡监测CIA的通用方法——间接免疫荧光试验(IFA),该方法已得到应用和验证,在此基础上制定本标准。

SPF鸡微生物学质量控制国家系列标准,包括SPF鸡微生物学监测总则和9种SPF鸡微生物学检测方法。本标准为《SPF鸡 间接免疫荧光试验》。

SPF鸡微生物学检测方法还包括以下部分:

GB/T 17999.1—1999 SPF鸡 红细胞凝集抑制试验;

GB/T 17999.2—1999 SPF鸡 血清中和试验;

GB/T 17999.3—1999 SPF鸡 血清平板凝集试验;

GB/T 17999.4—1999 SPF鸡 琼脂扩散试验;

GB/T 17999.5—1999 SPF鸡 酶联免疫吸附试验;

GB/T 17999.6—1999 SPF鸡 胚敏感试验;

GB/T 17999.7—1999 SPF鸡 鸡白痢沙门氏菌检验;

GB/T 17999.8—1999 SPF鸡 试管凝集试验。

本标准由中华人民共和国农业部、国家科学技术部提出。

本标准由农业部畜牧兽医司归口。

本标准起草单位:北京市农林科学院畜牧兽医研究所、农业部实验动物研究中心。

本标准主要起草人:周文平、赵立红、陈德威。

中华人民共和国国家标准

SPF 鸡 间接免疫荧光试验

GB/T 17999. 9—1999

SPF chicken—Indirect immunofluorescent assay

1 范围

本标准规定了间接免疫荧光试验试剂、材料、操作程序及结果判定等。

本标准适用于 SPF 鸡感染鸡传染性贫血病毒(Chicken Infectious Anaemia Virus, CIAV)后的抗体监测。

2 原理

间接免疫荧光试验,以病毒感染细胞作抗原,与待检血清中的特异抗体结合,再与荧光色素标记的抗抗体结合,形成抗原-抗体-抗抗体复合物。荧光色素在紫外光或蓝紫光的作用下,激发出可见的荧光。因此出现荧光就说明标记物的存在,同时也反映了特异性抗体的存在。常采用已知抗原及荧光色素标记的抗抗体检测相应的抗体。

3 试验和器材

3.1 试剂

- 3.1.1 阴性、阳性血清。
- 3.1.2 被检血清。
- 3.1.3 PBS(0.01 M, pH7.2)。
- 3.1.4 FITC-兔抗鸡 IgG(按说明稀释使用)。
- 3.1.5 缓冲甘油。

3.2 材料

- 3.2.1 湿盒。
- 3.2.2 培养箱。
- 3.2.3 荧光显微镜。

4 操作程序

4.1 感染细胞的制备

用 MDCC-MSB-1 细胞制备鸡传染性贫血病毒感染细胞及未感染细胞(病毒培养技术参见有关文献)。

4.2 抗原片的制备

- 4.2.1 收集培养 48 h 的细胞培养物,1 500 r/min 离心 10 min,弃上清液,用 PBS 洗涤细胞沉淀物三次,以少量 PBS 重悬细胞。
- 4.2.2 取 10 μ L 细胞悬液(含细胞 10^5 个),滴加于镀膜印孔载玻片各孔中,同时制备未感染细胞对照片。