



中华人民共和国国家标准

GB/T 17999.6—2008
代替 GB/T 17999.5—1999

SPF 鸡 微生物学监测 第 6 部分:SPF 鸡 酶联免疫吸附试验

SPF chicken—Microbiological surveillance—
Part 6: Enzyme-linked immunosorbent assay for SPF chicken

2008-12-31 发布

2009-05-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
SPF 鸡 微生物学监测
第 6 部分:SPF 鸡 酶联免疫吸附试验

GB/T 17999.6—2008

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街 16 号
邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.5 字数 9 千字

2009 年 4 月第一版 2009 年 4 月第一次印刷

*

书号: 155066·1-36493

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话:(010)68533533

前 言

GB/T 17999《SPF 鸡 微生物学监测》分为 10 个部分：

- 第 1 部分：SPF 鸡 微生物学监测总则；
- 第 2 部分：SPF 鸡 红细胞凝集抑制试验；
- 第 3 部分：SPF 鸡 血清中和试验；
- 第 4 部分：SPF 鸡 血清平板凝集试验；
- 第 5 部分：SPF 鸡 琼脂扩散试验；
- 第 6 部分：SPF 鸡 酶联免疫吸附试验；
- 第 7 部分：SPF 鸡 胚敏感试验；
- 第 8 部分：SPF 鸡 鸡白痢沙门氏菌检验；
- 第 9 部分：SPF 鸡 试管凝集试验；
- 第 10 部分：SPF 鸡 间接免疫荧光试验。

本部分为 GB/T 17999 的第 6 部分。

本部分修订参照了 GB/T 18936—2003《高致病性禽流感诊断技术》、GB/T 19167—2003《传染性囊病诊断技术》、NY/T 538—2002《鸡传染性鼻炎诊断技术》、OIE《陆生动物(哺乳动物、禽鸟和蜜蜂)诊断试验和疫苗手册》(第五版)中的有关规定。

本部分代替 GB/T 17999.5—1999《SPF 鸡 酶联免疫吸附试验》。

本部分与 GB/T 17999.5—1999 相比主要变化如下：

- 增加了间接酶联免疫吸附试验；
- 增加了附录 A“试剂的配制”。

本部分的附录 A 为规范性附录。

本部分由中华人民共和国农业部提出。

本部分由全国动物防疫标准化技术委员会(SAC/TC 181)归口。

本部分起草单位：中国农业科学院哈尔滨兽医研究所、中国动物卫生与流行病学中心、济南斯帕法斯家禽有限公司。

本部分主要起草人：曲连东、姜骞、韩凌霞、邵卫星、朱果、单忠芳、刘家森、司昌德、郭东春、于海波、孟庆文。

本部分所代替标准的历次版本发布情况为：

- GB/T 17999.5—1999。

SPF 鸡 微生物学监测

第 6 部分:SPF 鸡 酶联免疫吸附试验

1 范围

GB/T 17999 的本部分规定了酶联免疫吸附试验的技术要求。

本部分间接酶联免疫吸附试验适用于对 SPF 鸡进行以下病原微生物的血清抗体检测:副鸡嗜血杆菌(*Haemophilus*)、鸡毒支原体(*Mycoplasma gallisepticum*)、滑液囊支原体(*Mycoplasma synoviae*)、禽流感病毒(Avian Influenza Virus)、新城疫病毒(Newcastle Disease Virus)、传染性支气管炎病毒(Infectious Bronchitis Virus)、传染性法氏囊病病毒(Infectious Bursal Disease Virus)、网状内皮增生症病毒(Reticuloendotheliosis Virus)、鸡传染性贫血病毒(Chicken Infectious Anaemia Virus)、禽呼肠孤病毒(病毒性关节炎)(Avian Reovirus)、禽脑脊髓炎病毒(Avian Encephalomyelitis Virus)、传染性喉气管炎病毒(Infectious Laryngotracheitis Virus)、禽腺病毒Ⅲ群(EDS)(Avian Adenovirus Group Ⅲ)、淋巴细胞白血病毒(Lymphoid Leukosis Virus)。

本部分双抗体夹心酶联免疫吸附试验适用于对 SPF 鸡进行淋巴细胞白血病毒 P27 抗原检测。

2 原理

间接酶联免疫吸附试验采用已知微生物抗原检测未知抗体,双抗体夹心酶联免疫吸附试验采用已知抗体检测未知抗原。

3 间接酶联免疫吸附试验

3.1 试剂

3.1.1 包被抗原,阴性、阳性对照血清,羊抗鸡 IgG 酶标抗体,按说明书保存和使用。

3.1.2 包被液、稀释液、底物液、终止液配制方法见附录 A。

3.2 器材

酶标板,移液器,37℃恒温培养箱,酶标仪。

3.3 操作程序

3.3.1 抗原包被:将禽流感病毒、传染性支气管炎病毒、传染性法氏囊病病毒、传染性喉气管炎病毒、新城疫病毒、副鸡嗜血杆菌、禽腺病毒Ⅲ群(EDS)、鸡毒支原体、滑液囊支原体、禽脑脊髓炎病毒、淋巴细胞白血病毒、网状内皮增生症病毒、禽呼肠孤病毒(病毒性关节炎)、鸡传染性贫血病毒抗原用包被液稀释至工作浓度,加入酶标板各孔中,每孔 100 μL,置 4℃冰箱过夜。

3.3.2 洗涤:甩净孔内抗原溶液,用洗涤液加满各孔,放置 5 min,然后甩净,如此重复 3 次。

3.3.3 加被检血清:用稀释液将被检血清以 1:100 稀释,每孔加入 100 μL,每次操作均设置阴性对照孔两个,阳性对照孔、空白对照孔各一个,分别加入同样稀释的阴性血清、阳性血清和稀释液各 100 μL,加不同的血清样品时应换吸头,37℃温箱中作用 30 min。

3.3.4 洗涤:同 3.3.2。

3.3.5 加羊抗鸡 IgG 酶标抗体:用稀释液将酶标抗体稀释至工作浓度,每孔加入 100 μL,37℃温箱中作用 30 min。

3.3.6 洗涤:同 3.3.2。

3.3.7 显色:加入底物液 100 μL,室温避光反应 5 min 左右(至阴性对照孔开始产生颜色时)。