



中华人民共和国国家标准

GB/T 14926.51—2001

实验动物 免疫酶试验

Laboratory animal—Immunoenzyme assay(IEA)

2001-08-29 发布

2002-05-01 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局 发布

前 言

本标准修订了 GB/T 14926.18—1994《实验动物 淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒检测方法》中的免疫酶试验方法,将其作为一个独立标准列出。

本标准由中华人民共和国科学技术部提出并归口。

本标准起草单位:中国实验动物学会。

本标准主要起草人:贺争鸣。

中华人民共和国国家标准

实验动物 免疫酶试验

GB/T 14926.51—2001

Laboratory animal—Immunoenzyme assay(IEA)

1 范围

本标准规定了免疫酶试验(IEA)所用试剂、器材和操作步骤等。

本标准适用于实验动物病毒抗体的检测。

2 原理

含有病毒抗原的细胞固定于玻片上,遇相应抗体形成抗原抗体复合物。此抗原抗体复合物仍保持其抗原活性,可与相应的第二抗体酶结合物结合,遇酶底物产生颜色反应。在普通显微镜下,根据颜色的反应判定结果。

3 主要试剂与器材

3.1 试剂

3.1.1 抗原片

3.1.1.1 抗原片的制备

将病毒接种敏感细胞(表1),待细胞出现病变或确知细胞内含有丰富的病毒抗原后,用胰酶消化分散细胞,PBS洗涤三次,最后用适量PBS悬浮细胞。将细胞悬液滴于玻片孔内。同时消化不感染病毒的同批同种细胞,滴加同一玻片另一孔内,作为正常细胞对照。孔内滴加的细胞以细胞铺开、不重叠为宜。室温干燥后,冷丙酮(4℃)固定10 min。用蒸馏水漂洗后充分干燥,置于-20℃备用。

3.1.1.2 抗原片的鉴定

每批抗原片在使用前,用相应的阳性血清和阴性血清进行鉴定。鉴定方法可用IEA或免疫荧光试验。在阴性血清与正常细胞和病毒感染细胞反应无色;阳性血清与正常细胞反应无色,而与病毒感染细胞呈棕褐色,且阳性细胞数达30%~50%时,此批抗原片可以使用。

3.1.2 酶结合物

抗小鼠、大鼠、豚鼠、兔、犬或猴IgG抗体辣根过氧化物酶结合物用于检查相应动物的血清抗体。葡萄球菌蛋白A(SPA)辣根过氧化物酶结合物可代替抗小鼠、豚鼠、兔、犬和猴IgG抗体辣根过氧化物酶结合物使用。

3.1.3 阳性血清

用病毒抗原免疫清洁或SPF级小鼠、大鼠、豚鼠、地鼠或普通级兔、犬、猴所获得的抗血清;或自然感染恢复后的犬、猴血清。

3.1.4 阴性血清

清洁或SPF级小鼠、大鼠、豚鼠、地鼠血清;或确认无相应病毒感染的兔、犬、猴血清。

3.1.5 PBS(0.01 mol/L,pH7.4)

氯化钠	8 g
氯化钾	0.2 g