

ICS 65.020.30
B 41



中华人民共和国国家标准

GB/T 17999.5—1999

SPF 鸡 酶联免疫吸附试验

SPF chicken—Enzyme-linked immunosorbent assay

1999-11-10 发布

2000-04-01 实施

国家质量技术监督局 发布

前 言

酶联免疫吸附试验(ELISA)是国外监测 SPF 鸡淋巴白血病毒感染的通用方法。我国建立的淋巴白血 ELISA 方法敏感性高、特异性强、重复性好,已广泛用于商品种鸡场淋巴白血病的净化和 SPF 鸡场淋巴白血病毒感染的监测,本标准在此基础上,规定了 SPF 鸡酶联免疫吸附试验。

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 酶联免疫吸附试验》。

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 17999.6—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;
- GB/T 17999.9—1999 SPF 鸡 间接免疫荧光试验。

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:农业部实验动物研究中心。

本标准主要起草人:陈德威、张冰、赵立红、黄进、李军。

中华人民共和国国家标准

GB/T 17999.5—1999

SPF 鸡 酶联免疫吸附试验

SPF chicken—Enzyme-linked immunosorbent assay

1 范围

本标准规定了酶联免疫吸附试验所用试剂、材料,操作程序及结果判定等。
本标准适用于 SPF 鸡感染淋巴白血病毒后的群特异性抗原的监测。

2 原理

检测 SPF 鸡蛋清中禽白血病毒主要群特异性抗原 P27 的方法为双抗体夹心酶联免疫吸附试验。先用抗 P27 抗体包被酶标板,然后与蛋清作用,蛋清中的 P27 与包被抗体结合,洗去未结合的物质。再加入 HRP-兔抗 P27 抗体,作用后洗去未结合的酶标物。加入底物溶液,出现颜色变化。颜色变化的速度及程度与样品中 P27 的含量有关。

3 试剂和器材

3.1 试剂

3.1.1 包被抗体(兔抗 P27 IgG)。

3.1.2 阳性抗原(P27)。

3.1.3 阴性抗原。

3.1.4 被检蛋清。

3.1.5 HRP-兔抗 P27。

3.1.6 包被液:

0.05 mol/L、pH9.6 碳酸盐缓冲液配制:碳酸钠 1.59 g,碳酸氢钠 2.93 g,蒸馏水加至 1 000 mL。

3.1.7 洗涤液:

pH7.4、PBS-Tween20 配制:0.01mol/L、pH7.4 PBS 1 000 mL,吐温-20 0.5 mL。

3.1.8 底物溶液:

pH 5.0 磷酸盐-柠檬酸缓冲液-OPD-H₂O₂ 配制:0.2 mol/L 磷酸氢二钠溶液 25.7 mL,0.1 mol/L 柠檬酸溶液 24.3 mL,蒸馏水 50 mL,邻苯二胺(OPD)40 mg,30% H₂O₂ 0.15 mL。

3.1.9 终止液:2 mol/L 硫酸。

3.2 器材

3.2.1 酶标板。

3.2.2 移液器。

3.2.3 恒温培养箱。

3.2.4 ELISA 读数仪。

4 操作程序

4.1 抗体包被:用包被液将兔抗 P27 IgG 作适当稀释,每孔 100 μL,4℃过夜。