

ICS 65.020.30
B 44



中华人民共和国国家标准

GB/T 14926.24-2001

实验动物 微生物学检测方法(4)

Laboratory animal—Microbiological examination methods

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

本标准是对 GB/T 14926.24—1994《实验动物 小鼠肺炎病毒检验方法》的修订。删除了血凝抑制试验检测方法，对个别文字作了修改。

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：屈霞琴。

本标准于 1994 年 1 月首次发布。

中华人民共和国国家标准

实验动物 小鼠肺炎病毒检测方法

GB/T 14926.24—2001

代替 GB/T 14926.24—1994

Laboratory animal—Method for examination of
pneumonia virus of mice (PVM)

1 范围

本标准规定了小鼠肺炎病毒(PVM)的检测方法、试剂等。

本标准适用于小鼠、大鼠、地鼠、豚鼠 PVM 的检测。

2 引用标准

下列标准所包含的条文,通过在本标准中引用而构成为本标准的条文。本标准出版时,所示版本均为有效。所有标准都会被修订,使用本标准的各方应探讨使用下列标准最新版本的可能性。

GB/T 14926.50—2001 实验动物 酶联免疫吸附试验

GB/T 14926.51—2001 实验动物 免疫酶试验

GB/T 14926.52—2001 实验动物 免疫荧光试验

3 原理

根据免疫学原理,采用 PVM 抗原检测小鼠、大鼠、地鼠、豚鼠血清中 PVM 抗体。

4 主要试剂和器材

4.1 试剂:

4.1.1 ELISA 抗原

4.1.1.1 特异性抗原

PVM 感染小鼠待发病后取肺脏,研磨,制成 10% 悬液,3 000 r/min 离心 10 min 后取上清液感染 BHK21 细胞,吸附 1.5~2 h,加维持液培养 10~14 d,当细胞病变达++时收获。冻融三次或超声波处理后,低速离心去除细胞碎片,上清液再经超速离心浓缩后制成 ELISA 抗原。

4.1.1.2 正常抗原

BHK21 细胞冻融破碎后,经低速离心去除细胞碎片而获得的上清液。

4.1.2 抗原片

PVM 感染 BHK21 细胞,培养 5~7 d,病变达++~+++ 时,将细胞用胰酶消化分散,PBS 洗涤,涂片。室温干燥后,冷丙酮固定 10 min,-20℃ 保存。

4.1.3 阳性血清

PVM 免疫清洁或 SPF 小鼠、大鼠、豚鼠、地鼠所获得的抗血清。

4.1.4 阴性血清

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 2001-08-29 批准

2002-05-01 实施

SPF 小鼠、大鼠、豚鼠、地鼠血清。

4.1.5 酶结合物

辣根过氧化物酶标记羊或兔抗小鼠、大鼠、豚鼠、地鼠 IgG 抗体, 用于检测相应动物血清抗体。辣根过氧化物酶标记葡萄球菌蛋白 A(SPA)可用于小鼠、豚鼠、地鼠血清抗体的检查。

4.1.6 异硫氰酸荧光素标记羊或兔抗小鼠、大鼠、豚鼠、地鼠 IgG 抗体, 用于检测相应动物血清抗体。

4.2 器材

4.2.1 酶标仪。

4.2.2 荧光显微镜。

4.2.3 普通显微镜。

4.2.4 37℃培养箱或水浴箱。

5 检测方法

5.1 采用 ELISA 方法(见 GB/T 14926.50—2001)进行血清学检测。

5.2 采用 IFA 方法(见 GB/T 14926.52—2001)进行血清学检测。

5.3 采用 IEA 方法(见 GB/T 14926.51—2001)进行血清学检测。

6 结果判定

对阳性检测结果, 选用同一种方法或另一种方法重试。如仍为阳性则判为阳性。

7 结果报告

根据判定结果, 作出报告。