

ICS 65.020.30
B 41



中华人民共和国国家标准

GB/T 17999.4—1999

SPF 鸡 琼脂扩散试验

SPF chicken—Agar gel precipitation test

1999-11-10 发布

2000-04-01 实施

国家质量技术监督局 发布

前 言

本标准是在我国建立的琼脂扩散试验(AGP)的基础上,并参照美国 SPAFAS 公司 AGP 操作规程编制而成。

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 琼脂扩散试验》。

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 17999.5—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;

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、山东省农科院家禽研究所。

本标准主要起草人:赵立红、陈德威、张秀美、靳彦华、秦卓明。

中华人民共和国国家标准

GB/T 17999.4—1999

SPF 鸡 琼脂扩散试验

SPF chicken—Agar gel precipitation test

1 范围

本标准规定了琼脂扩散试验所用试剂、材料,操作程序及结果判定等。

本标准适用于 SPF 鸡感染以下病毒后的沉淀抗体的监测:禽流感病毒 A 型(Avian Influeza Virus Type A)、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)、传染性喉气管炎病毒(Infectious Laryngotracheitis Virus)、禽痘病毒(Fowl Pox Virus)、马立克氏病病毒(Marek's Disease Virus)、禽脑脊髓炎病毒(Avian Encephalomyelitis Virus)、网状内皮增生症病毒(Reticuloendotheliosis Virus)、禽呼肠孤病毒(病毒性关节炎)(Avian Reovirus)、禽腺病毒 I 群(Avian Adenovirus Group I)、多杀性巴氏杆菌(*Pasteurella multocida*)。

2 原理

琼脂扩散试验是一种沉淀反应。抗原、抗体在含有电解质的琼脂凝胶中,可以向四周自由扩散,二者互相结合,在最适比例处出现沉淀线。常采用已知抗原检测相应的沉淀抗体。

3 试剂和材料

3.1 试剂

- 3.1.1 琼扩抗原。
- 3.1.2 阳性血清。
- 3.1.3 被检血清。
- 3.1.4 0.01 M、pH7.2、8%氯化钠磷酸缓冲液。
- 3.1.5 优质琼脂粉或琼脂糖。

3.2 材料

- 3.2.1 琼扩板。
- 3.2.2 打孔器。
- 3.2.3 移液器。

4 操作程序

4.1 琼脂板制备

1 g 优质琼脂粉或 0.8 g~1 g 琼脂糖加入 100 mL 0.01 M、pH7.2、8%氯化钠磷酸缓冲液中(检测禽流感病毒感染时,同 0.01 mol/L、pH6.4 的 8%氯化钠磷酸缓冲液配制琼脂),水浴加热融化,稍凉(60℃~65℃),倒入琼扩板内(厚度为 3 mm),待琼脂凝固后,4℃冰箱保存备用。

4.2 打孔

用六角形打孔器在琼脂板上按 7 孔梅花图案打孔,孔径 3 mm~4 mm,孔距 3 mm。用 8# 针头挑出