



中华人民共和国国家标准

GB/T 17999.2—2008
代替 GB/T 17999.1—1999

SPF 鸡 微生物学监测 第 2 部分: SPF 鸡 红细胞凝集抑制试验

SPF chicken—Microbiological surveillance—
Part 2: Hemagglutination inhibition test 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 发布
中国国家标准化管理委员会

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 2 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》、SN/T 1109—2002《新城疫微量红细胞凝集抑制 试验操作规程》、SN/T 1182.2—2004《禽流感微量红细胞凝集抑制试验》、NY/T 551—2002《产蛋下降综合征诊断技术》、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 17999.1—1999《SPF 鸡 红细胞凝集抑制试验》。

本部分与 GB/T 17999.1—1999 相比主要变化如下：

- 增加了规范性附录 A“试剂的配制”和资料性附录 B“1%鸡血红细胞悬液的制备”；
- 增加了对 V 形孔微量血凝板进行试验的结果判定；
- 对禽流感病毒、新城疫病毒、传染性支气管炎病毒、禽腺病毒 III 群(EDS)鸡毒支原体和滑液囊支原血凝抑制抗体的判定标准进行了修改。

本部分的附录 A 为规范性附录，附录 B 为资料性附录。

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、刘家森、韩凌霞、邵卫星、朱果、单忠芳、姜骞、司昌德、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 17999.1—1999。

SPF 鸡 微生物学监测

第 2 部分:SPF 鸡 红细胞凝集抑制试验

1 范围

GB/T 17999 的本部分规定了红细胞凝集抑制试验的技术要求。

本部分适用于对 SPF 鸡进行以下病原微生物的血凝抑制抗体检测:禽流感病毒(Avian Influenza Virus),传染性支气管炎病毒(Infectious Bronchitis Virus),新城疫病毒(Newcastle Disease Virus),禽腺病毒Ⅲ群(减蛋综合征病毒)(Avian Adenovirus Group III),鸡毒支原体(*Mycoplasma gallisepticum*),滑液囊支原体(*Mycoplasma synoviae*)。

2 原理

许多病原微生物具有凝集动物红细胞的能力,这种凝集红细胞的能力能被特异性抗体所抑制,因此可用已知病原微生物检测相应的血凝抑制性抗体。

3 试剂和器材

3.1 试剂

- 3.1.1 血凝抗原。
- 3.1.2 阴性、阳性血清。
- 3.1.3 被检血清。
- 3.1.4 鸡红细胞。
- 3.1.5 0.85%氯化钠(NaCl)(见附录 A)。
- 3.1.6 阿氏液(见附录 A)。

3.2 器材

- 3.2.1 96 孔微量血凝板(U 形孔或 V 形孔)。
- 3.2.2 微量移液器(量程为 25 μL 、50 μL 、100 μL)或可调微量移液器(量程涵盖 25 μL 、50 μL 、100 μL)及吸头。
- 3.2.3 水浴锅。
- 3.2.4 离心机与刻度离心管。

4 操作程序

4.1 红细胞悬液的制备和抗原血凝效价测定

4.1.1 1%鸡红细胞悬液的制备

参见附录 B。

4.1.2 抗原血凝效价测定

4.1.2.1 于 96 孔微量血凝板的第 1 孔~第 12 孔加入生理盐水 25 μL ,共作 2 排。每排的第 1 孔加入抗原 25 μL ,用微量移液器,从第 1 孔~第 11 孔对抗原作系列倍比稀释:即将第 1 孔的抗原与生理盐水用移液器反复吹吸 3 次后,吸出 25 μL 移至第 2 孔,再反复吹吸 3 次后,吸出 25 μL 移至第 3 孔,依此类推,直至第 11 孔。从第 11 孔中吸出 25 μL 弃去,此孔抗原的最终稀释度为 1:2¹¹(即 11 log₂)。第 12 孔作为对照孔。