



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 14926.50—2001

## 实验动物 酶联免疫吸附试验

Laboratory animal—Enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)

2001-08-29 发布

2002-05-01 实施

中 华 人 民 共 和 国 发 布  
国家质量监督检验检疫总局

## **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》中的酶联免疫吸附试验方法,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 酶联免疫吸附试验

GB/T 14926.50—2001

Laboratory animal—Enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)

### 1 范围

本标准规定了酶联免疫吸附试验(ELISA)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

包被于固相载体表面的已知抗原与待检血清中的特异性抗体结合形成免疫复合物。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。在酶的催化作用下底物发生反应,产生有色物质。颜色反应的深浅与待检血清中所含有的特异性抗体的量成正比。

### 3 主要试剂和器材

#### 3.1 试剂

##### 3.1.1 抗原

###### 3.1.1.1 特异性抗原

将病毒接种其敏感细胞培养增殖(表1),当细胞病变达十十~十十十时收获,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。

###### 3.1.1.2 正常抗原

未接种病毒的相应细胞冻融破碎后,经低速离心去除细胞碎片而获得的上清液。

##### 3.1.2 酶结合物

ELISA 法常用以下两类酶结合物。

3.1.2.1 辣根过氧化物酶标记羊或兔抗小鼠、大鼠、豚鼠、地鼠、兔、犬或猴 IgG 抗体。用于检测相应动物血清抗体。

3.1.2.2 辣根过氧化物酶标记葡萄球菌蛋白 A(SPA)。用于检测小鼠、豚鼠、兔、犬和猴血清抗体。

##### 3.1.3 对照血清

###### 3.1.3.1 阳性血清

用病毒抗原免疫清洁或 SPF 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。

###### 3.1.3.2 阴性血清

清洁或 SPF 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。

##### 3.1.4 包被液(0.05 mol/L pH9.6)

碳酸钠 1.59 g

碳酸氢钠 2.93 g

蒸馏水 加至 1 000 mL

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