

ICS 65.020.30

B 44

DB33

浙 江 省 地 方 标 准

DB 33/T XXXXX.1—XXXX

实验动物 长爪沙鼠  
第1部分：微生物控制等级及监测

Laboratory animal Mongolian gerbil

Part1: Microbiological standards and monitoring

(报批稿)

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

浙江省质量技术监督局 发布

## 前　　言

《实验动物 长爪沙鼠》分为七个部分：

- 第1部分：微生物控制等级及监测；
- 第2部分：寄生虫控制等级及监测；
- 第3部分：遗传质量控制；
- 第4部分：组织病理检查规程；
- 第5部分：配合饲料营养成分；
- 第6部分：环境及设施；
- 第7部分：饲养管理规程。

本部分为《实验动物 长爪沙鼠》的第1部分。

本部分依据GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

本部分由浙江省科技厅提出并归口。

本部分起草单位：浙江省医学科学院、杭州师范大学

本部分主要起草人：褚晓峰、戴方伟、宋晓明、王吉、周莎桑、岳秉飞、李巍、杜江涛、郭红刚、应华忠、萨晓婴。

本部分为首次发布。

# 实验动物长爪沙鼠

## 第1部分：微生物控制等级及监测

### 1 范围

本部分规定了实验动物长爪沙鼠（Mongolian gerbil）微生物学等级分类、检测要求、检测程序、检测方法、检测规则、结果判定和检测结论等。

本部分适用于实验动物长爪沙鼠微生物控制等级及监测。

### 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 14922.2	实验动物 微生物学等级及监测
GB/T 14926.1	实验动物 沙门菌检测方法
GB/T 14926.4	实验动物 皮肤病原真菌检测方法
GB/T 14926.5	实验动物 多杀巴斯德杆菌检测方法
GB/T 14926.6	实验动物 支气管鲍特杆菌检测方法
GB/T 14926.8	实验动物 支原体检测方法
GB/T 14926.9	实验动物 鼠棒状杆菌检测方法
GB/T 14926.10	实验动物 泰泽病原体检测方法
GB/T 14926.11	实验动物 大肠埃希菌检测方法
GB/T 14926.12	实验动物 嗜肺巴斯德杆菌检测方法
GB/T 14926.13	实验动物 肺炎克雷伯杆菌检测方法
GB/T 14926.14	实验动物 金黄色葡萄球菌检测方法
GB/T 14926.15	实验动物 肺炎链球菌检测方法
GB/T 14926.16	实验动物 乙型溶血性链球菌检测方法
GB/T 14926.17	实验动物 绿脓杆菌检测方法
GB/T 14926.18	实验动物 淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒检测方法
GB/T 14926.19	实验动物 汉坦病毒检测方法
GB/T 14926.22	实验动物 小鼠肝炎病毒检测方法
GB/T 14926.23	实验动物 仙台病毒检测方法
GB/T 14926.24	实验动物 小鼠肺炎病毒检测方法
GB/T 14926.25	实验动物 呼肠孤病毒 III 型检测方法
GB/T 14926.26	实验动物 小鼠脑脊髓炎病毒检测方法
GB/T 14926.28	实验动物 小鼠细小病毒检测方法
GB/T 14926.41	实验动物 无菌动物生活环境及粪便标本的检测方法
GB/T 14926.42	实验动物 细菌学检测 标本采集
GB/T 14926.43	实验动物 细菌学检测染色法、培养基和试剂

- GB/T 14926.50 实验动物 酶联免疫吸附试验  
GB/T 14926.51 实验动物 免疫酶试验  
GB/T 14926.52 实验动物 免疫荧光试验  
GB/T 14926.54 实验动物 血凝抑制试验  
NY/T 541 动物疫病实验室检验采样方法

### 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

#### 3.1

**长爪沙鼠** Mongolian gerbil (*Meriones unguieulataus*)

经人工饲育，对其携带的病原微生物和寄生虫实行控制，遗传背景明确或者来源清楚，用于科学研究、教学、生产和检定以及其他科学实验的长爪沙鼠。

#### 3.2

**普通级长爪沙鼠** conventional (CV) Mongolian gerbil

不携带重要人兽共患病病原和烈性传染病病原。

#### 3.3

**清洁级长爪沙鼠** clean (CL) Mongolian gerbil

除普通级应排除的病原外，不携带对科学实验干扰大的病原。

#### 3.4

**无特定病原体级长爪沙鼠** specific-pathogen free (SPF) Mongolian gerbil

除清洁级动物应排除的病原外，不携带主要潜在感染或条件致病和对科学实验产生干扰的病原。

#### 3.5

**无菌级长爪沙鼠** germ free (GF) Mongolian gerbil

利用现有的生物学技术，无可检出的一切生命体。

### 4 缩略语

- ELISA：酶联免疫吸附试验  
HAI：间接血凝试验  
IEA：免疫酶试验  
IFA：免疫荧光试验

### 5 长爪沙鼠等级

根据对病原微生物和寄生虫控制的程度，长爪沙鼠分为普通级、清洁级、无特定病原体级和无菌级四个等级，各等级的具体控制指标见表1、表2。

## 6 检测要求

### 6.1 临床观察

外观检查无异常。

### 6.2 微生物检测项目

微生物检测项目分为必须检测项目和必要检测项目。必须检测项目是在进行长爪沙鼠质量评价时必须检测的项目。在引进种源和疑有本病流行时，除必须检测项目外，需增加必要检测项目。

病原菌检测项目按表1执行，病毒检测项目按表2执行。

表1 长爪沙鼠病原菌检测项目

动物等级		病原菌检测项目		检测要求		
无菌级	无特定病原体级	普通级	沙门菌 <i>Salmonella</i> spp.	●		
			皮肤病原真菌 <i>Pathogenic dermal fungi</i>	○		
		清洁级	泰泽病原体 <i>Tyzzer's organism</i>	●		
			支原体 <i>Mycoplasma</i> spp.	●		
			多杀巴斯德杆菌 <i>Pasteurella multocida</i>	●		
			支气管鲍特杆菌 <i>Bordetella bronchiseptica</i>	●		
			大肠埃希菌 0115a,c:K(B) <i>Escherichia coli</i> 0115a,c:K(B)	○		
	普通级	清洁级	嗜肺巴斯德杆菌 <i>Pasteurella pneumotropica</i>	●		
			肺炎克雷伯杆菌 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	●		
			金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	●		
			鼠棒状杆菌 <i>Corynebacterium kutscheri</i>	●		
			绿脓杆菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	●		
			肺炎链球菌 <i>Streptococcus pneumoniae</i>	○		
			乙型溶血性链球菌 $\beta$ -hemolytic <i>Streptococcus</i>	○		
			产酸克雷伯杆菌 <i>Klebsiella oxytoca</i>	○		
			螺杆菌 <i>Helicobacter</i> spp.	○		
			幽门螺旋杆菌 <i>Helicobacter pylori</i>	○		
用现有的生物学技术，无可检出的病原菌				●		
注：“●”为必须检测项目，“○”为必要检测项目。						

表2 实验动物长爪沙鼠病毒检测项目

动物等级			病毒检测项目	检测要求
无菌级	无特定病原体级	普通级	汉坦病毒 Hantavirus (HV) 淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒 Lymphocytic Choriomeningitis Virus (LCMV)	● ●
		清洁级	仙台病毒 Seandai Virus (SV)	●
			小鼠肝炎病毒 Mouse Hepatitis Virus (MHV)	●
			小鼠肺炎病毒 Pneumonia Virus of Mice (PVM) 呼肠孤病毒 III 型 Reovirus type III (Reo-3)	● ●
			小鼠细小病毒 Minute Virus of Mice (MVM) 小鼠脑脊髓炎病毒 Theiler's Mouse Encephalomyelitis Virus (TMEV)	● ●
			用现有的生物学技术，无可检出的病毒	●
			注：“●”为必须检测项目。	

## 7 检测程序

检测程序按图 1 执行。在采样时，结合临床症状和实验室检查结果，需要进一步确证的，可取特定样本进行检测。



图 1 检测程序

## 8 检测方法

检测方法见表3。

表3 长爪沙鼠微生物检测方法

微生物检测项目	方法
沙门菌	GB/T 14926.1
皮肤病原真菌	GB/T 14926.4
多杀巴斯德杆菌	GB/T 14926.5
支气管鲍特杆菌	GB/T 14926.6
支原体	GB/T 14926.8
鼠棒状杆菌	GB/T 14926.9
泰泽病原体	GB/T 14926.10
大肠埃希菌	GB/T 14926.11
嗜肺巴斯德杆菌	GB/T 14926.12

肺炎克雷伯杆菌	GB/T 14926.13
金黄色葡萄球菌	GB/T 14926.14
肺炎链球菌	GB/T 14926.15
乙型溶血性链球菌	GB/T 14926.16
绿脓杆菌	GB/T 14926.17
小鼠细小病毒	见附录 A
汉坦病毒	见附录 B
小鼠肝炎病毒	见附录 C
小鼠肺炎病毒	见附录 D
呼肠孤病毒 III 型	见附录 E
仙台病毒	见附录 F
淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒	见附录 G

## 9 检测规则

### 9.1 检测频率

9.1.1 普通级、清洁级和无特定病原体级长爪沙鼠：每三个月至少检测一次。

9.1.2 无菌级长爪沙鼠：每年至少检测一次。每 2 周~4 周检查一次动物的生活环境标本和粪便等标本。

### 9.2 采样

#### 9.2.1 方式

选择 12 周龄以上的长爪沙鼠用于检测，随机取样；新鲜粪便样本应在饲养单元中选取至少 4 个点随机取样。

微生物的采样应当与寄生虫采样联合进行。

#### 9.2.2 方法

采样方法按照标准 NY/T 541 进行。

#### 9.2.3 数量

根据实验动物长爪沙鼠群体大小，采样数量见表 4。血液采样不少于 1 毫升/只；每个隔离器采样不少于 2 只动物。

表 4 采样数量

群体大小（只）	采样数量
<100	不少于 5 只
100~500	不少于 10 只
>500	不少于 15 只

### 9.3 送检要求

样本要求有明显标识，包装完好，安全送达实验室，送检单应写明检品名称、品系、等级、数量及检测项目等内容。

## 10 结果判定

### 10.1 抗体检查

待检血清经 ELISA、IEA、IFA 或 HAI 检测，血清特异性抗体阴性判为合格。

### 10.2 病原体检查

待检样品经分离培养和鉴定，未见病原体判为合格。

## 11 结论与报告

按照相应的等级控制要求，所有项目的检测结果均为阴性，判为合格。报告应包括检测结果、检验结论等内容。

**附录 A**  
**(规范性附录)**  
**长爪沙鼠的小鼠细小病毒 (MVM) 检测方法**

### A. 1 原理

根据免疫学原理，采用MVM抗原检测长爪沙鼠血清中MVM抗体。

### A. 2 主要试剂和器材

#### A.2.1 试剂

##### A.2.1.1 ELISA抗原

###### A. 2. 1. 1. 1 特异性抗原

MVM接种小鼠胚胎 (ME) 或3T3细胞，加维持液培养7 d~10 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。

###### A. 2. 1. 1. 2 正常抗原

ME或3T3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。

##### A.2.1.2 抗原片

MVM接种大鼠胚胎 (RE) 或ME细胞，培养7 d~10 d，病变达++~+++时，将细胞用胰酶消化分散，用PBS洗涤，涂片。室温干燥的同时，冷丙酮固定10 min，-20 °C保存。

##### A.2.1.3 阳性血清

MVM抗原免疫SPF级长爪沙鼠所获得的抗血清。

##### A.2.1.4 阴性血清

SPF级长爪沙鼠血清。

##### A.2.1.5 酶结合物

辣根过氧化物酶标记羊抗长爪沙鼠IgG抗体或兔抗长爪沙鼠IgG抗体。用于检测相应动物血清抗体。

##### A.2.1.6 荧光抗体

异硫氰酸荧光素标记羊抗长爪沙鼠IgG抗体或兔抗长爪沙鼠IgG抗体。

#### A.2.2 器材

主要有酶标仪、荧光显微镜、37 °C培养箱或水浴箱。

### A. 3 检测方法

采用ELISA方法(见GB/T14926.50)进行血清学检测。

采用IEA方法(见GB/T14926.51) 进行血清学检测。

采用IFA方法(见GB/T14926.52) 进行血清学检测。

#### A.4 结果判断

血清特异性抗体阴性判为合格。

附录 B  
(规范性附录)  
长爪沙鼠的汉坦病毒(HV)检测方法

## B. 1 原理

根据免疫学原理，采用HV抗原检测长爪沙鼠血清中HV抗体。

## B. 2 主要试剂和器材

### B.2.1 试剂

#### B.2.1.1 ELISA抗原

在生物安全柜内，用Hantaan型或Seoul型毒株感染的E6细胞，当特异性荧光达+++时，即可收获培养物。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。

#### B.2.1.1.2 正常抗原

E6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。

#### B.2.1.2 抗原片

生物安全柜内，用Hantaan型或Seoul型毒株感染的E6细胞，每2 d~3 d更换维持液，培养7 d~10 d，用IFA法测定细胞内特异性荧光。当荧光达+++时，将细胞用胰酶分散，用PBS洗涤，涂片。室温干燥的同时，在紫外线下20 cm处照射30 min，冷丙酮固定10 min，-20 °C保存。

#### B.2.1.3 阳性血清

用β-丙内脂灭活HV抗原，免疫SPF级长爪沙鼠所获得的抗血清。

#### B.2.1.4 阴性血清

SPF级长爪沙鼠血清。

#### B.2.1.5 酶结合物

辣根过氧化物酶标记羊抗长爪沙鼠IgG抗体或兔抗长爪沙鼠IgG抗体。用于检测相应动物血清抗体。

#### B.2.1.6 荧光抗体

异硫氰酸荧光素标记羊抗长爪沙鼠IgG抗体或兔抗长爪沙鼠IgG抗体，用于检测相应动物血清抗体。

## B. 2.2 器材

主要有酶标仪、荧光显微镜、37 °C培养箱或水浴箱。

### B. 3 检测方法

采用ELISA方法(见 GB/T 14926.50)进行血清学检测。

采用IFA方法(见GB/T 14926.52) 进行血清学检测。

### B. 4 结果判断

血清特异性抗体阴性判为合格。

附录 C  
(规范性附录)  
长爪沙鼠的小鼠肝炎病毒(MHV)检测方法

### C.1 原理

根据免疫学原理，采用MHV抗原检测长爪沙鼠血清中MHV抗体。

### C.2 主要试剂和器材

#### C.2.1 试剂

##### C.2.1.1 ELISA抗原

MHV(包括MHV<sub>1</sub>、MHV<sub>3</sub>、MHV-A<sub>59</sub>、MHV-JHM四个毒株)感染DBT或L929细胞，接种后2 d~4d，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。

##### C.2.1.1.2 正常抗原

DBT或L929细胞细胞冻融破碎后，经低速离心去除细胞碎片而获得的上清液。

##### C.2.1.2 抗原片

MHV感染DBT或L929细胞，接种后2 d~4 d，病变达++~+++时收获，将细胞用胰酶分散，用PBS洗涤，涂片。室温干燥后，冷丙酮固定10 min，-20 ℃保存。

##### C.2.1.3 阳性血清

MHV抗原免疫SPF级长爪沙鼠所获得的抗血清。

##### C.2.1.4 阴性血清

SPF级长爪沙鼠血清。

##### C.2.1.5 酶结合物

辣根过氧化物酶标记羊抗长爪沙鼠IgG抗体或兔抗长爪沙鼠IgG抗体。用于检测相应动物血清抗体。

##### C.2.1.6 荧光抗体

异硫氰酸荧光素标记羊抗长爪沙鼠IgG抗体或兔抗长爪沙鼠IgG抗体，用于检测相应动物血清抗体。

### C.2.2 器材

主要有酶标仪、荧光显微镜、37 ℃培养箱或水浴箱。

### C. 3 检测方法

采用ELISA方法(见 GB/T 14926.50)进行血清学检测。

采用IEA方法（见 GB/T 14926.51）进行血清学检测

采用IFA方法(见GB/T 14926.52) 进行血清学检测。

### C. 4 结果判断

血清特异性抗体阴性判为合格。

**附录 D**  
(规范性附录)  
长爪沙鼠的小鼠肺炎病毒（PVM）检测方法

#### D. 1 原理

根据免疫学原理，采用PVM抗原检测长爪沙鼠血清中PVM抗体。

#### D. 2 主要试剂和器材

##### D.2.1 试剂

###### D.2.1.1 ELISA抗原

###### D. 2. 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，3000 rpm离心10 min后取上清液感染BHK21细胞，吸附1.5 h~2 h，加维持液培养10 d~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。

###### D. 2. 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。

###### D.2.1.2 抗原片

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

###### D.2.1.3 阳性血清

PVM免疫SPF级长爪沙鼠所获得的抗血清。

###### D.2.1.4 阴性血清

SPF级长爪沙鼠血清。

###### D.2.1.5 酶结合物

辣根过氧化物酶标记羊抗长爪沙鼠IgG抗体或兔抗长爪沙鼠IgG抗体。用于检测相应动物血清抗体。

###### D.2.1.6 荧光抗体

异硫氰酸荧光素标记羊抗长爪沙鼠IgG抗体或兔抗长爪沙鼠IgG抗体，用于检测相应动物血清抗体。

##### D.2.2 器材

主要有酶标仪、荧光显微镜、37 °C培养箱或水浴箱。

#### D. 3 检测方法

采用ELISA方法(见 GB/T 149 26.50)进行血清学检测。

采用IEA方法(见GB/T 1 4926.51) 进行血清学检测。

采用IFA方法(见GB/T 14926.52) 进行血清学检测。

#### D. 4 结果判断

血清特异性抗体阴性判为合格。

附录 E  
(规范性附录)  
长爪沙鼠的呼肠孤病毒 III 型 (Reo3) 检测方法

### E. 1 原理

根据免疫学原理，采用Reo3抗原检测长爪沙鼠血清中Reo3抗体。

### E. 2 主要试剂和器材

#### E.2.1 试剂

##### E.2.1.1 ELISA抗原

用Reo3感染的BSC-1或BHK21细胞，当病变达+++~++++时，收获培养物。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。

##### E. 2. 1. 1. 2 正常抗原

BSC-1或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。

##### E.2.1.2 抗原片

用Reo3感染的BSC-1或BHK21细胞，每4 d~5 d，病变达++~+++时，将细胞用胰酶分散，用 PBS 洗涤，涂片。室温干燥的同时，在紫外线下20 cm处照射30 min，冷丙酮固定10 min，-20 +保存。

##### E.2.1.3 阳性血清

Reo3免疫SPF级长爪沙鼠所获得的抗血清。

##### E.2.1.4 阴性血清

SPF级长爪沙鼠血清。

##### E.2.1.5 酶结合物

辣根过氧化物酶标记羊抗长爪沙鼠IgG抗体或兔抗长爪沙鼠IgG抗体。用于检测相应动物血清抗体。

##### E.2.1.6 荧光抗体

异硫氰酸荧光素标记羊抗长爪沙鼠IgG抗体或兔抗长爪沙鼠IgG抗体，用于检测相应动物血清抗体。

#### E. 2.2 器材

主要有酶标仪、荧光显微镜、37 °C培养箱或水浴箱。

### E. 3 检测方法

采用ELISA方法(见 GB/T 14926.50)进行血清学检测。

采用IFA方法(见GB/T 14926.52) 进行血清学检测。

采用IEA方法(见GB/T 14926.51) 进行血清学检测。

#### E. 4 结果判断

血清特异性抗体阴性判为合格。

**附录 F**  
**(规范性附录)**  
**长爪沙鼠的仙台病毒(SV)检测方法**

## F. 1 原理

根据免疫学原理，采用SV抗原检测长爪沙鼠血清中SV抗体；或根据SV在一定条件下，能凝集鸡、豚鼠红细胞。这种凝集红细胞的能力可被特异性所抑制的原理，检测长爪沙鼠血清中的SV抗体。

## F. 2 主要试剂和器材

### F.2.1 试剂

#### F.2.1.1 ELISA抗原

##### F. 2. 1. 1. 1 特异性抗原

用SV感染SPF鸡胚尿囊腔，培养于36 °C温箱，72 h后收冻于4 °C，次日无菌收取尿囊液，4 °C，次日无菌 rpm 离心10 min，用0.5%鸡或豚鼠红细胞和SV阳性血清做血凝和血凝抑制试验，验证其病毒特异性和血凝效价。上清液再经过超速离心浓缩后制成ELISA抗原。

##### F. 2. 1. 1. 2 正常抗原

9 d龄SPF鸡胚尿囊液。

#### F.2.1.2 抗原片

用SV感染的BHK21细胞，接种后2 d~3 d，病变达++~+++时用胰蛋白酶消化分散，用PBS洗涤，涂片。室温干燥后，冷丙酮固定10 min，-20 °C保存。

#### F.2.1.3 血凝素

见ELISA特异性抗原制备。

#### F.2.1.4 阳性血清

SV免疫SPF级长爪沙鼠所获得的抗血清。

#### F.2.1.5 阴性血清

SPF级长爪沙鼠血清。

#### F.2.1.6 酶结合物

辣根过氧化物酶标记羊抗长爪沙鼠IgG抗体或兔抗长爪沙鼠IgG抗体。用于检测相应动物血清抗体。

#### F.2.1.7 荧光抗体

异硫氰酸荧光素标记羊抗长爪沙鼠IgG抗体或兔抗长爪沙鼠IgG抗体，用于检测相应动物血清抗体。

#### F.2.2 器材

主要有酶标仪、荧光显微镜、37 °C培养箱或水浴箱。

#### F. 3 检测方法

采用ELISA方法(见 GB/T 14926.50)进行血清学检测。

采用IFA方法(见GB/T 14926.52) 进行血清学检测。

采用IEA方法(见GB/T 14926.51) 进行血清学检测。

采用HAI方法(见GB/T 14926.54) 进行血清学检测。

#### F. 4 结果判断

血清特异性抗体阴性判为合格。

## 附录 G (规范性附录)

### 长爪沙鼠的淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒(LCMV)检测方法

#### G. 1 原理

根据免疫学原理，采用LCMV抗原检测长爪沙鼠血清中LCMV抗体。

#### G. 2 主要试剂和器材

##### G.2.1 试剂

###### G.2.1.1 ELISA抗原

###### G. 2. 1. 1. 1 特异性抗原

用LCMV感染的Vero细胞，当特异性荧光达+++~++++时，收获培养物。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。

###### G. 2. 1. 1. 2 正常抗原

Vero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。

###### G.2.1.2 抗原片

用LCMV感染的E6细胞，每2 d~3 d更换维持液，培养7 d~10d，用IFA法测定细胞内特异性荧光。当荧光达++~+++时，将细胞用胰酶消化分散，用 PBS洗涤，涂片。室温干燥的同时，在紫外线下20 cm处照射30 min，冷丙酮固定10 min，-20 ℃保存。

###### G.2.1.3 阳性血清

用β-丙内脂灭活LCMV抗原，免疫SPF级长爪沙鼠所获得的抗血清。

###### G.2.1.4 阴性血清

SPF级长爪沙鼠血清。

###### G.2.1.5 酶结合物

辣根过氧化物酶标记羊抗长爪沙鼠IgG抗体或兔抗长爪沙鼠IgG抗体。用于检测相应动物血清抗体。

###### G.2.1.6 荧光抗体

异硫氰酸荧光素标记羊抗长爪沙鼠IgG抗体或兔抗长爪沙鼠IgG抗体，用于检测相应动物血清抗体。

#### G.2.2 器材

主要有酶标仪、荧光显微镜、37 ℃培养箱或水浴箱。

#### G. 3 检测方法

采用ELISA方法(见 GB/T 14926.50)进行血清学检测。

采用IFA方法(见GB/T 14926.52) 进行血清学检测。

采用IEA方法(见GB/T 14926.51) 进行血清学检测。

#### G. 4 结果判断

血清特异性抗体阴性判为合格。

---