

# DB33

## 浙江省地方标准

DB33/T 2110.1—2018

---

### 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

2018 - 04 - 12 发布

2018 - 05 - 12 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 unguiculatus*)

经人工饲养，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<br>菌<br>级              | 无<br>特<br>定<br>病<br>原<br>体<br>级 | 清<br>洁<br>级                       | 普<br>通<br>级 | 沙门菌 <i>Salmonella spp.</i>                              | ●    |
|                          |                                 |                                   |             | 皮肤病原真菌 <i>Pathogenic dermal fungi</i>                   | ○    |
|                          |                                 |                                   |             | 泰泽病原体 <i>Tyzzers' organism</i>                          | ●    |
|                          |                                 |                                   |             | 支原体 <i>Mycoplasma spp.</i>                              | ●    |
|                          |                                 |                                   |             | 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) | ○    |
|                          |                                 |                                   |             | 嗜肺巴斯德杆菌 <i>Pasteurella pneumotropica</i>                | ●    |
|                          |                                 |                                   |             | 肺炎克雷伯杆菌 <i>Klebsiella pneumonia</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 pnemoniae</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 spp.</i>                            | ○    |
|                          |                                 | 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<br>菌<br>级 | 无<br>特<br>定<br>病<br>原<br>体<br>级 | 清<br>洁<br>级 | 普<br>通<br>级 | 汉坦病毒 Hantavirus (HV)<br>淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒 Lymphocytic Choriomeningitis Virus (LCMV)                                                                                                | ●<br>●           |
|             |                                 |             |             | 仙台病毒 Seandai Virus (SV)<br>小鼠肝炎病毒 Mouse Hepatitis Virus (MHV)                                                                                                                 | ●<br>●           |
|             |                                 |             |             | 小鼠肺炎病毒 Pneumonia Virus of Mice (PVM)<br>呼肠孤病毒 III 型 Reovirus type III (Reo-3)<br>小鼠细小病毒 Minute Virus of Mice (MVM)<br>小鼠脑脊髓炎病毒 Theiler's Mouse Encephalomyelitis Virus (TMEV) | ●<br>●<br>●<br>● |
|             |                                 |             |             | 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。

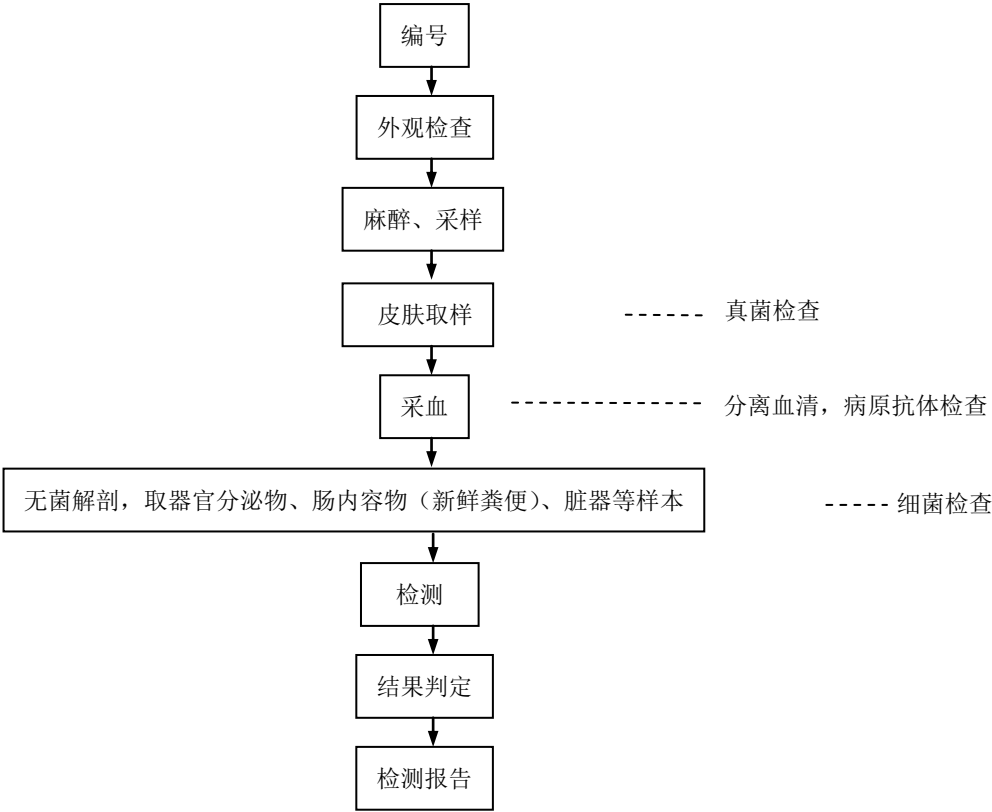


图1 检测程序

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 ℃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 ℃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

##### B.2.1.1.1 特异性抗原

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℃保存。

##### B.2.1.3 阳性血清

用 $\beta$ -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℃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

##### C.2.1.1.1 特异性抗原

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~4 d, 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 °C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 °C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~7 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℃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

##### E.2.1.1.1 特异性抗原

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℃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℃温箱,72 h后收冻于4℃,次日无菌收取尿囊液,4℃以2000 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℃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℃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~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 $\beta$ -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。

---