



中华人民共和国国家标准

GB/T 19915.1—2005

猪链球菌 2 型平板和试管凝集 试验操作规程

Procedure of plate and tube agglutination for *Streptococcus suis* type 2

2005-09-27 发布

2005-11-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

猪链球菌 2 型是链球菌属的成员,其致病菌株可致猪链球菌病,引起猪败血症、脑膜炎等。人可通过伤口感染该菌,并导致发病和死亡。为了通过检测猪血清中猪链球菌 2 型的抗体,进行猪链球菌 2 型病的检测和监测,特制定本标准。

本标准由国家标准化管理委员会提出。

本标准由全国动物防疫标准化技术委员会归口。

本标准由中华人民共和国江苏出入境检验检疫局和中国检验检疫科学院负责起草。

本标准主要起草人:陈国强、张敬友、张常印、唐泰山、姜焱、王凯民、林祥梅、韩雪清、吴绍强、刘建、贾广乐、梅琳。

本标准为首次发布。

猪链球菌 2 型平板和试管凝集 试验操作规程

1 范围

本标准规定了猪链球菌 2 型平板和试管凝集试验的操作技术要求。

本标准适用于猪及其他各种家畜猪链球菌 2 型抗体的检测。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682—1992 分析实验室用水规格和试验方法

3 试剂和材料

3.1 试剂

- 3.1.1 标准抗原：由指定单位提供，按说明书使用，使用时须回至室温，并充分摇匀。
- 3.1.2 标准阳性血清：由指定单位提供，按说明书使用，使用时须回至室温，并充分摇匀。
- 3.1.3 标准阴性血清：由指定单位提供，按说明书使用，使用时须回至室温，并充分摇匀。
- 3.1.4 试验用蒸馏水：GB/T 6682—1992 中的三级水。
- 3.1.5 稀释液：0.5% 石炭酸生理盐水(含 0.5% 石炭酸、0.85% NaCl)。

3.2 材料

- 3.2.1 玻璃板：要求洁净，划成每格 3 cm×3 cm 的区域，每一格下留少许位置，用于填写血清号。
- 3.2.2 移液器和(或)可调连续加样器及配套的移液器枪头。
- 3.2.3 试管架和试管：规格为 13 mm×100 mm，圆底，洁净。
- 3.2.4 被检血清：按常规方法采血分离血清，血清必须新鲜，无明显蛋白凝固，无溶血，无腐败气味。

运送和保存血清样品时，应防止血清冻结和受热，以免影响凝集价。若 3 天内不能送到实验室，可用冷藏方法运送血清。试验时须回至室温。

4 操作方法

4.1 平板凝集试验

- 4.1.1 将玻璃板上各格标上阳性血清、阴性血清和被检血清号，每格各加 25 μ L 平板凝集抗原。
- 4.1.2 在各格凝集抗原旁分别加入阳性血清、阴性血清和相应的被检血清 25 μ L。
- 4.1.3 用牙签或移液器枪头搅动被检血清和抗原使之均匀混合，形成直径约 2 cm 的液区。轻微摇动，室温下于 4 min 内观察结果。
- 4.1.4 每次操作以不超过 20 份血清样品为宜，以免样品干燥而不易观察结果。

4.2 试管凝集试验

4.2.1 稀释被检血清

- 4.2.1.1 每份被检血清用 6 支试管，标记检验编号后各管加入 0.5 mL 稀释液。
- 4.2.1.2 取被检血清 0.5 mL，加入第 1 管，充分混匀，从第 1 管中吸取 0.5 mL 加入到第 2 管，混合均匀后，再从第 2 管吸取 0.5 mL 至第 3 管，如此倍比稀释至第 6 管，从第 6 管弃去 0.5 mL，稀释完毕。
- 4.2.1.3 从第 1 至第 6 管的血清稀释度分别为 1:2、1:4、1:8、1:16、1:32、1:64。

4.2.2 加抗原

将 0.5 mL 抗原加入已稀释好的各血清管中,并振荡均匀,血清稀释度则依次变为 1:4、1:8、1:16、1:32、1:64、1:128。各反应管反应总量为 1 mL。

4.2.3 设立对照

每次试验都应设立下列对照。

4.2.3.1 阴性血清对照

阴性血清的稀释和加抗原的方法与被检血清同。

4.2.3.2 阳性血清对照

阳性血清的最高稀释度应超过其效价滴度,加抗原的方法与被检血清同。

4.2.3.3 抗原对照

在 0.5 mL 稀释液中,加 0.5 mL 抗原。

4.2.4 配制比浊管

每次试验均须配制比浊管,作为判定凝集反应程度的依据,先将抗原用等量稀释液作一倍稀释,然后按下表配制比浊管。

表 1 比浊管的配制

试 管 号	1	2	3	4	5
抗原稀释液	1.00	0.75	0.50	0.25	0
0.5%石炭酸生理盐水	0	0.25	0.50	0.75	1.00
清亮度/(%)	0	25	50	75	100
凝集度标记	—	+	++	+++	++++
注:“++++”表示完全凝集,菌体 100%下沉,上层液体 100%清亮; “+++”表示几乎完全凝集,上层液体 75%清亮; “++”表示凝集很显著,液体 50%清亮; “+”表示有沉淀,液体 25%清亮; “—”表示无沉淀,液体不清亮。					

4.2.5 感作

所有试验管充分振荡后,置 37℃温箱感作 20 h。

5 判定

5.1 平板凝集试验结果判定

当阴性血清对照不出现凝集(—),阳性血清对照出现凝集(+)时,则试验成立,可以判定。否则应重做。

在 4 min 内出现肉眼可见凝集现象者判为阳性(+),不出现凝集者判为阴性(—)。出现阳性反应的样品,可经试管凝集试验定量测定其效价。

5.2 试管凝集试验结果判定

5.2.1 试验成立条件

当阴性血清对照和抗原对照不出现凝集(—),阳性血清的凝集价达到其标准效价±1个滴度,则证明试验成立,可以判定。否则,试验应重做。

5.2.2 确定每份被检血清效价

比照比浊管判读,出现++以上凝集现象的最高血清稀释度为血清凝集价。
待检血清最终稀释度 1:4 并出现“++”以上的凝集现象时,判为阳性反应。