



中华人民共和国国家标准

GB/T 17999.9—2008
代替 GB/T 17999.8—1999

SPF 鸡 微生物学监测 第 9 部分：SPF 鸡 试管凝集试验

SPF chicken—Microbiological surveillance—
Part 9: Tube agglutination 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 9 部分。

本部分代替 GB/T 17999.8—1999《SPF 鸡 试管凝集试验》。

本部分与 GB/T 17999.8—1999 相比主要变化如下：

- 增加了附录 A“试剂的配制”；
- 修改了凝集试验结果的判定；
- 删除了鸡伤寒沙门氏菌检测内容；
- 在范围中进一步明确本部分使用的情况。

本部分的附录 A 为规范性附录。

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、姜骞、韩凌霞、邵卫星、朱果、单忠芳、刘家森、司昌德、郭东春、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 17999.8—1999。

SPF 鸡 微生物学监测

第 9 部分：SPF 鸡 试管凝集试验

1 范围

GB/T 17999 的本部分规定了试管凝集试验的技术要求。

本部分适用于对 SPF 鸡进行鸡白痢沙门氏菌血清抗体检测。

用血清平板凝集试验进行鸡白痢沙门氏菌的抗体检测,结果难以判断时,可采用本部分进行复检。

2 原理

细菌性抗原与相应的抗体结合后,在适量电解质参与下,经过一段时间出现肉眼可见的凝集现象,结果判定以凝集价表示。

3 试剂和器材

3.1 试剂

鸡白痢抗原(含菌 10^9 CFU)、标准阳性、阴性血清,被检血清,0.5%石炭酸生理盐水(配制方法见附录 A)。

3.2 器材

试管(口径 $12.5\text{ mm} \sim 10\text{ mm}$)

4 操作程序

4.1 取 5 支试管,第 1 管加石炭酸生理盐水 1.8 mL,其余各管加 1 mL,第 1 管加被检血清 0.2 mL,与石炭酸生理盐水混匀(1:10 稀释),取 1 mL 移至第 2 管,连续倍比稀释至第 4 管,从第 4 管吸出 1 mL 弃去,各管血清最后稀释度依次为 1:20、1:40、1:80、1:160、1:320。

4.2 每管加入抗原液 1 mL。

4.3 抗原对照:在试管中加抗原液 1 mL,加 0.5%石炭酸生理盐水 1 mL。

4.4 阳性血清对照:将阳性血清稀释至工作浓度(按说明使用)。在试管中加抗原液 1 mL,加稀释的阳性血清 1 mL。

4.5 阴性血清对照:同阳性血清稀释度使用。

4.6 试管振荡后,置 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 温箱中孵育,24 h 后移入 $4\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱过夜。

4.7 结果观察:抗原对照结果与阴性血清对照,均呈“—”,阳性血清对照呈不同程度凝集,表明试验成立。凝集结果判定见表 1。凝集效价以呈现“++”凝集试管的血清最高稀释倍数作为该血清的凝集效价。

表 1 凝集试验结果判定

类别	试管所见	结果	判定
1	出现大的凝集块,上层液体完全透明	++++	阳性
2	出现明显凝集块,上层液透明度达 75%	+++	
3	出现可见的凝集颗粒,上层液透明度达 50%	++	
4	出现轻微可见的凝集颗粒,上层液透明度达 25%	±	可疑
5	无凝集块,液体均匀混浊	—	阴性

5 结果判定

5.1 阳性:凝集效价 $\geq 1:80$ 。

5.2 阴性:凝集效价 $\leq 1:20$ 。

5.3 可疑:凝集效价 $= 1:40$;判为可疑的需要复检,复检仍为可疑的样品判为阳性。

附 录 A
(规范性附录)
试剂的配制

A.1 0.5%石炭酸生理盐水

石炭酸:5 g;

氯化钠:8.5 g;

蒸馏水:1 000 mL;

混合溶化,6.897 Pa、20 min 消毒备用。
