

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 1421—2004

SN/T 1421—2004

猪水疱病病毒微量血清中和试验

Micro-serum neutralization test for swine vesicular disease virus

中华人民共和国出入境检验检疫
行业标准
猪水疱病病毒微量血清中和试验
SN/T 1421—2004

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

网址 www.bzcbs.com

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 9 千字

2004年10月第一版 2004年10月第一次印刷

*

书号: 155066·2-15896 定价 8.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话:(010)68533533



SN/T 1421—2004

2004-06-01 发布

2004-12-01 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局 发布

前 言

本标准的附录 A 是规范性附录,附录 B 是资料性附录。
本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。
本标准起草单位:中华人民共和国珠海出入境检验检疫局。
本标准主要起草人:杨素、潘文波、廖秀云、冯家望。
本标准系首次发布的出入境检验检疫行业标准。

附 录 A
(规范性附录)
试剂配制

A.1 细胞培养液的配制

199 培养基(或 MEM 等其他培养基),加入 10% 胎牛血清(56℃ 30 min 灭能),含青霉素 200 IU/mL,链霉素 200 μg/mL,抽滤除菌分装,4℃ 保存备用。

A.2 细胞维持液的配制

199 培养基(或 MEM 等其他培养基),加入 2% 胎牛血清(56℃ 30 min 灭能),含青霉素 200 IU/mL,链霉素 200 μg/mL,抽滤除菌分装,4℃ 保存备用。

A.3 抗生素选用及工作浓度参考表(每毫升培养液含量)

两性霉素 B	1.25 μg
制霉菌素	100 IU
庆大霉素	50 μg
卡那霉素	50 μg
新霉素	50 μg
青霉素 G	100 IU~200 IU
链霉素	100 μg~200 μg
多黏菌素 B	100 IU

A.4 细胞分散液的配制

胰酶	2.5 g
乙二胺四乙酸二钠(EDTA)	0.2 g
无钙镁 PBS	1 000 mL

抽滤除菌,冻存。

A.5 无钙镁 PBS 的配制

氯化钠	8.0 g
氯化钾	0.2 g
磷酸氢二钠	1.15 g
磷酸二氢钾	0.2 g
三蒸水	1 000 mL

将上述成分依次溶解,分装、高压灭菌或抽滤备用。

A.6 固定液的配制

10% 福尔马林。

A.7 染色液的配制

亚甲蓝	0.5 g
固定液	1 000 mL

猪水疱病病毒微量血清中和试验

1 范围

本标准规定了猪水疱病病毒微量血清中和试验方法。
本标准适用于猪水疱病病毒中和抗体的检测。

2 缩略语

下列缩略语适用于本标准

2.1

CPE:致细胞病变作用。

2.2

TCID₅₀:半数细胞感染量。

2.3

SVD:猪水疱病。

3 原理

特异性的血清中和抗体与病毒结合后,能使病毒失去对敏感细胞的感染能力,从而阻止病毒的繁殖。这一反应不但表现为一种病毒只能被相应的免疫血清所中和,而且还表现在中和一定量的病毒,必须有一定效价的免疫血清。本标准规定的中和试验是以定量病毒稀释血清为基础,当血清能阻止定量病毒 50% 致细胞病变能力时,其血清的稀释度即为其效价。因而本中和试验是一种定量测定猪水疱病血清抗体的方法。

4 试剂和材料

4.1 本标准所用试剂配制见附录 A。

4.2 本标准试剂除特殊规定外,均指分析纯试剂。

4.3 本标准所用试剂、玻璃器皿除有特殊规定外,均需高压灭菌。

4.4 病毒:用经蚀斑法纯化并经血清学鉴定的猪水疱病病毒作为标准病毒。

4.5 标准血清:标准阴性血清采用无 SVD 病毒抗体的猪血清,标准强阳性和弱阳性血清采用 SVD 病毒感染发病后康复的猪血清。

4.6 细胞系:IB-Rs-2 传代细胞系。

4.7 细胞培养液:含 10% 胎牛血清(经 56℃,30 min 灭能)及抗生素的细胞培养液。

4.8 细胞维持液:含 2% 胎牛血清(经 56℃,30 min 灭能)及抗生素的细胞维持液。

4.9 细胞分散液。

4.10 固定液。

4.11 染色液。

5 器械和设备

5.1 二氧化碳培养箱、微量振荡器、倒置显微镜、冰箱、超声波细胞破碎仪。

5.2 100 mL 细胞培养瓶、96 孔微量细胞培养板、吸头、多道可调移液器、单道可调移液器。