

ICS 11.220

B 41

备案号:

# DB42

## 湖北省地方标准

DB42/T 795—2012

---

### 禽流感病毒乳胶凝集检测方法

Method of the latex agglutination for the detection of avian influenza virus

地方标准信息服务平台

2012 - 01 - 06 发布

2012 - 03 - 01 实施

---

湖北省质量技术监督局

发布



## 目 次

前言.....	II
引言.....	III
1 范围.....	1
2 术语和定义.....	1
3 实验原理.....	1
4 实验条件.....	1
5 实验材料.....	1
6 样品处理.....	2
7 实验方法.....	2
8 结果判定.....	2
9 注意事项.....	3
附录 A.....	4

地方标准信息服务平台

## 前 言

本标准按 GB/T 1.1-2009《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写》给出的规则起草。

本标准由华中农业大学提出。

本标准由湖北省农业厅归口。

本标准起草单位：华中农业大学动物医学院、武汉科前动物生物制品有限责任公司、湖北省动物疫病预防控制中心。

本标准起草人：金梅林、钟广汉、但汉并、郭学波、徐高原、张安定、周艳君、孙小美、李淑云。

地方标准信息服务平台

## 引 言

禽流感病毒 (Avian Influenza Virus, AIV) 具有易变异的特点, 可通过突变获得对人的感染和致病能力, 导致重大的公共卫生危害。为加强禽流感监测, 制定了《禽流感病毒乳胶凝集试验检测方法》, 本方法具有简便、快速的优点, 尤其适合基层现场使用。

本文件的发布机构提请注意, 声明符合本文件时, 可能涉及到《一种禽流感病毒乳胶凝集检测试剂盒及应用》(专利号: ZL200510019512.3) 相关的专利的使用。

本文件的发布机构对于该专利的真实性、有效性和范围无任何立场。

该专利持有人已向本文件的发布机构保证, 他愿意同任何申请人在合理且无歧视的条款和条件下, 就专利授权许可进行谈判。该专利持有人的声明已在本文件的发布机构备案。相关信息可以通过以下联系方式获得:

专利持有人姓名: 金梅林、陈剑锋、喻正军、张安定、李红超、陈焕春。

地 址: 武汉市洪山区狮子山街1号华中农业大学

邮政编码: 430070

联系电话: 027-87282608

传 真: 027-87282608

请注意除上述专利外, 本文件的某些内容仍可能涉及其他专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

地方标准信息服务平台



# 禽流感病毒乳胶凝集检测方法

## 1 范围

本标准规定了禽流感病毒的乳胶凝集试验检测方法的术语和定义、实验原理、实验条件、实验材料、样品处理、实验方法、结果判定和注意事项等。

本标准适用于禽类咽/鼻拭子、肛拭子、内脏组织、鸡胚尿囊液、细胞培养物中禽流感病毒的检测。

## 2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

乳胶（Latex）：聚合物微粒分散于水中形成的胶体乳液。

## 3 实验原理

禽流感病毒核蛋白的多克隆抗体致敏固相载体羧化聚苯乙烯微球，当与相应的抗原反应时，可形成肉眼可见的凝集颗粒。

## 4 实验条件

### 4.1 实验室

实验操作宜在常温（18℃~25℃）进行。

### 4.2 仪器

台式低温高速离心机、微量移液器、冰箱、玻片、吸头。

### 4.3 人员

注意个人防护和环境保护。

## 5 实验材料

### 5.1 乳胶诊断液

### 5.2 阳性对照

含禽流感病毒的鸡胚尿囊液灭活处理。

### 5.3 阴性对照

未接种禽流感病毒的鸡胚尿囊液。

#### 5.4 样品处理液 A

配制见附录第A.1章

#### 5.5 样品处理液 B

配制见附录第A.2章

### 6 样品处理

#### 6.1 咽/鼻拭子和肛拭子

用无菌棉拭子于禽的咽喉或鼻腔、泄殖腔中沾取渗出液，然后浸泡于 1 mL 样品处理液 B 中，剧烈震荡 1 min 后挤出棉拭子中的液体，冻融 3 次后于 37 °C 感作 15 min，置 2 °C~8 °C，12,000 r/min 离心 5 min，取上清。

#### 6.2 内脏组织

剪取组织块 0.5 g，置于研磨器中，加样品处理液 A 1 mL，研磨后取出组织浸出液，冻融 3 次，然后于 2 °C~8 °C，12,000 r/min 离心 15 min，取上清。

#### 6.3 鸡胚尿囊液

鸡胚尿囊液样品，12,000 r/min 离心 5 min，取上清。

#### 6.4 细胞培养物

细胞培养物可直接用于检测或者冻融一次后检测。

### 7 实验方法

取样品、阳性对照、阴性对照各 8 μL~10 μL，分置于黑色背景的玻璃片上。各加等量的乳胶试剂，用纤细洁净物（牙签等）搅匀，使液面直径达到 1.5 cm 左右，前后左右缓慢连续摇动 30 sec，并在 1 min 内观察记录结果。

### 8 结果判定

#### 8.1 凝集反应可能出现以下几种结果：

- a) “++++” 全部胶乳凝集，颗粒聚于液滴边缘，液体完全透明；
- b) “+++” 大部分胶乳凝集，颗粒明显，液体稍混浊；
- c) “++” 约 50% 胶乳凝集，但颗粒较细，液体较混浊；
- d) “+” 有少许凝集，液体呈混浊；
- e) “-” 液滴呈原有的均匀乳状。

#### 8.2 成立条件

30 sec~60 sec 内出现如下结果，试验方可成立：阳性对照样品与乳胶诊断液进行乳胶凝集反应，应出现“++”以上凝集；阴性对照样品与乳胶诊断液进行乳胶凝集反应，应不凝集。



### 8.3 结果判断

30 sec~60 sec 内出现“++”以上凝集，判为阳性；30 sec~60 sec 内液滴呈原有的均匀乳状为阴性。

### 9 注意事项

实验过程中注意做好个人的生物安全防护措施，废弃物应做无害化处理。

地方标准信息服务平台

附录 A  
(规范性附录)  
试剂的配制

A.1 样品处理液A

四硼酸钠 ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ )	13.3 g
硼酸 ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ )	16.08 g
氯化钠 ( $\text{NaCl}$ )	8.5 g

加蒸馏水或去离子水 800 mL, 调 pH 值至 8.4 后定容至 1000 mL。置 2 °C~8 °C 下保存备用。

A.2 样品处理液B

N-乙酰-L-半胱氨酸	5 g
NP-40	5 mL

加 1000 mL 经 121 °C 高压蒸汽灭菌 30 min 的样品处理液 A。置 2 °C~8 °C 下保存备用。

---

地方标准信息服务平台