



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 14926.50~14926.55—2001

---

## 实验动物 微生物学检测方法(3)

Laboratory animal—Microbiological examination methods

2001-08-29 发布

2002-05-01 实施

---

中华人民共和国  
国家质量监督检验检疫总局 发布

## 目 录

|                    |      |                |    |
|--------------------|------|----------------|----|
| GB/T 14926.50—2001 | 实验动物 | 酶联免疫吸附试验 ..... | 1  |
| GB/T 14926.51—2001 | 实验动物 | 免疫酶试验 .....    | 5  |
| GB/T 14926.52—2001 | 实验动物 | 免疫荧光试验 .....   | 9  |
| GB/T 14926.53—2001 | 实验动物 | 血凝试验 .....     | 12 |
| GB/T 14926.54—2001 | 实验动物 | 血凝抑制试验 .....   | 15 |
| GB/T 14926.55—2001 | 实验动物 | 免疫酶组织化学法 ..... | 19 |

## 前 言

本标准规定了免疫酶组织化学法所用试剂、器材和操作步骤等。

本标准由中华人民共和国科学技术部提出并归口。

本标准起草单位：中国实验动物学会。

本标准主要起草人：贺争鸣。

## 1 范围

本标准规定了免疫酶组织化学法(IH)所用试剂、器材和操作步骤等。

本标准适用于实验动物病毒抗原的检测。

## 2 原理

用已知的特异性抗体与标本中待测抗原反应,如待测抗原是特异性抗体的相应抗原则形成抗原抗体复合物。此抗原抗体复合物仍保持其抗原活性,可与相应的第二抗体酶结合物结合,遇酶底物产生颜色反应。在普通显微镜下,根据颜色的反应判定结果。

## 3 主要试剂与器材

### 3.1 试剂

3.1.1 抗病毒单克隆抗体或抗血清。

3.1.2 羊或兔抗小鼠、大鼠、地鼠、豚鼠、兔、犬、猴 IgG 抗体标记辣根过氧化物酶。

3.1.3 PBS(0.01 mol/L, pH7.6)

|   |             |
|---|-------------|
| 氯化钠   | 8.5 g       |
| 磷酸二氢钠( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )  | 0.20 g      |
| 磷酸二氢钠( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) | 3.12 g      |
| 蒸馏水   | 加至 1 000 mL |

### 3.1.4 底物溶液

|                     |        |
|---------------------|--------|
| 3,3'-二胺基联苯胺盐酸盐(DAB) | 40 mg  |
| PBS                 | 100 mL |
| 丙酮                  | 5 mL   |
| 3%过氧化氢              | 0.1 mL |

### 3.2 器材

3.2.1 石蜡切片机或冰冻切片机。

3.2.2 载玻片及盖玻片。

3.2.3 普通显微镜。

## 4 操作步骤

4.1 冰冻切片风干后用丙酮固定 10~15 min,石蜡切片,常规脱蜡至 PBS(切片应用白胶或铬矾明胶做粘合剂,以防脱片)。

4.2 去内源酶

用 0.3%过氧化氢甲醇溶液或 1%盐酸酒精 37℃作用 30 min。

4.3 胰蛋白酶消化

必要时用胰蛋白酶消化处理,以便充分暴露抗原。

4.4 漂洗

PBS洗3次,每次5 min。

4.5 封闭

5%小牛血清或1:10稀释的正常马血清,37℃湿盒中作用30 min。

4.6 加适当稀释的已知单抗或抗血清,37℃湿盒中作用1 h或30 min后4℃过夜。

4.7 漂洗同4.4。

4.8 加适当稀释的第二抗体酶结合物,37℃湿盒作用1 h。

4.9 漂洗同4.4。

4.10 底物显色

新鲜配制的DAB溶液显色5~10 min后漂洗。

4.11 衬染

苏木素或甲基绿衬染细胞核或细胞质。

4.12 常规脱水、透明、封片、显微镜观察。

5 结果判定

对照片本底清晰,背景无非特异着染,被检物呈黄至棕褐色着染,即可判为阳性。

---