

# 中华人民共和国农业行业标准

NY/T 542—2002

---

## 茨城病和鹿流行性出血病琼脂凝胶 免疫扩散试验方法

Agar gel immunodiffusion test for ibaraki  
and epizootic haemorrhagic disease

2002-08-27 发布

2002-12-01 实施

---

中华人民共和国农业部 发布

## 前 言

茨城病和鹿流行性出血病是由呼肠孤病毒科、环状病毒属同一病毒群经媒介昆虫传播的传染病,能感染家养及野生的反刍动物,在国外曾造成严重损失;其血清与蓝舌病有交叉反应,应加以鉴别。本标准提供了相应的检测和鉴别方法。

本标准是根据澳大利亚热带动物科学 Long Poket 实验室(CSIRO Division of Tropical Animal Science Long Poket Laboratories)的方法和本国的实验研究成果制定的。

本标准由农业部畜牧兽医局提出。

本标准由全国动物检疫标准化技术委员会归口。

本标准起草单位:中华人民共和国农业部动物检疫所。

本标准主要起草人:李晓成、张燕霞。

# 茨城病和鹿流行性出血病琼脂凝胶 免疫扩散试验方法

## 1 范围

本标准规定了茨城病和鹿流行性出血病琼脂凝胶免疫扩散试验技术。

本标准适用于茨城病及鹿流行性出血病病毒特异性抗体的检测及流行病学调查。

## 2 琼脂凝胶免疫扩散试验方法

### 2.1 材料

#### 2.1.1 器材与试剂：

打孔器：内径 4 mm。

琼脂糖：电泳纯琼脂。

氯化钠、叠氮钠。

#### 2.1.2 琼脂扩散抗原。

#### 2.1.3 标准阳性血清。

#### 2.1.4 被检血清：按常规方法采血分离血清，4℃条件下 10 d 内检测有效；-20℃冻结保存，一年有效。

### 2.2 琼脂凝胶平板的制备

#### 2.2.1 成分

琼脂糖	0.8 g
氯化钠	0.85 g
叠氮钠	0.01 g
蒸馏水	100 mL

#### 2.2.2 配制方法

上述各种试剂置于 100 mL 蒸馏水中混合后加热充分溶解，分装刻度试管中塞紧后 4℃ 保存，有效期 2 个月。

#### 2.2.3 平板制作

将分装于刻度试管中的琼脂凝胶充分融化冷却至 50℃~60℃ 后，倒在干净的载玻片、玻璃片或平皿上，凝胶厚度为 2.5 mm。注意不要产生气泡，浇好的板须放在平台上，等凝胶凝固后即可使用。

### 2.3 操作方法

2.3.1 将琼脂凝胶平板按图 1 所示的图型打孔，孔径 4 mm，孔距 3 mm，孔内琼脂糖用针头小心挑出，勿破坏周围琼脂，打孔后用酒精灯加热封底。

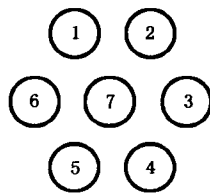


图 1 琼脂凝胶平板打孔示意图

2.3.2 加样。在图 1 中按下述要求加样：

- a) 中央孔(第 7 孔)添加抗原(Ag)；
- b) 1、3、5 号孔加标准阳性血清；
- c) 2、4、6 孔加被检血清；
- d) 每孔均以加满不溢出为度。

2.3.3 反应：加样完毕后，静置 10 min，然后放入 37℃带盖湿盒中反应，24 h 观察结果，48 h 判定结果，72 h 终判。

## 2.4 结果判定

### 2.4.1 判定方法

将琼脂板置有暗背景的自然光下或强光照射下观察。标准阳性血清孔与抗原孔之间出现一条清晰的沉淀线，则试验成立；若无沉淀线或沉淀线不明显，则试验不成立，应重做。

### 2.4.2 判定标准

2.4.2.1 被检血清孔与抗原孔间形成沉淀线，且同标准阳性血清孔与抗原孔间形成的沉淀线末端完全融合，则被检血清判为阳性。

2.4.2.2 被检血清孔与抗原孔间无沉淀线，但两侧阳性参考血清孔末端形成的沉淀线在被检血清孔处向抗原孔方向弯曲，则被检血清判为弱阳性。

2.4.2.3 被检血清孔和抗原孔间无沉淀线，阳性参考血清形成的沉淀线直伸到被检血清孔的边缘无弯曲者，则被检血清判为阴性。

2.4.2.4 抗原孔与被检血清孔之间沉淀线粗且浑浊，或与标准阳性血清和抗原孔间的沉淀线交叉并直伸待检血清孔边缘者，则判为非特异性反应，应重试。若仍出现非特异反应判为阴性。