

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 577—2002

山羊关节炎/脑炎琼脂凝胶免疫扩散 试验方法

Agar gel immunodiffusion test for caprine arthritis/encephalitis

2002-08-27 发布

2002-12-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

山羊关节炎/脑炎(caprine arthritis/encephalitis,简称CAE)是由山羊关节炎/脑炎病毒(CAEV)引起的山羊的一种慢性病毒性传染病,其主要特征是成年的羊呈缓慢发展的关节炎,间或伴有间质性肺炎和间质性乳房炎。羔羊表现为上行性麻痹的神经症状,被世界动物卫生组织[World Organization for Animal Health(英),Office International des Epizooties(法),OIE]列为B类疾病,我国农业部把该病列为二类动物疫病。

本病的诊断方法为琼脂凝胶免疫扩散(AGID)试验,是根据OIE《诊断试验的疫苗标准手册》(2000版)和我国的实际情况制定的。技术上与OIE保持一致,该法简便、特异,在国际贸易中为指定的诊断方法。

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:中国农业科学院哈尔滨兽医研究所、新疆畜牧科学院。

本标准主要起草人:相文华、王治才。

山羊关节炎/脑炎琼脂凝胶免疫扩散 试验方法

1 范围

本标准规定了山羊关节炎/脑炎琼脂凝胶免疫扩散试验的技术要求。
本标准适用于山羊关节炎/脑炎的诊断和检疫。

2 琼脂凝胶免疫扩散试验

2.1 材料准备

2.1.1 试剂及器皿:氯化钠(NaCl),叠氮钠(NaN_3),1 mol/L 三羟甲基氨基甲烷-盐酸(Tris-HCl)琼脂糖,移液器($50\ \mu\text{L}\sim 100\ \mu\text{L}$)及吸嘴,外径7 mm 薄壁金属打孔器,直径9.5 cm 平皿。

2.1.2 抗原、标准阳性血清、阴性血清。

2.2 操作方法

2.2.1 琼脂糖凝胶板制备

称琼脂糖1.0 g、氯化钠8 g置100 mL三角瓶中,加入pH8.0 0.05 mol/L Tris-HCl 100 mL,隔水煮沸至全部溶化。将其自然冷却至 $60\text{ }^\circ\text{C}$ 左右时,倒入平皿。每只平皿加15 mL,待其凝固后加盖,置湿盒内,放 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 待用。

2.2.2 打孔

将琼脂板放于打孔模式图上(见图1),用打孔器按图样打梅花型孔,孔径7 mm,孔距2.5 mm。打完孔后,挑出孔中琼脂块,再用溶化的琼脂封底。

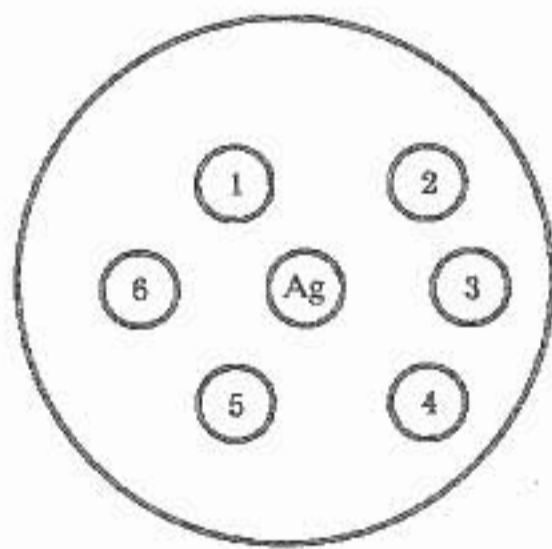


图1 AGID 打孔模式图

2.2.3 加样

按图上中心孔加入抗原,2、4、6孔滴加阳性血清,1、3、5孔滴加被检血清,加满样品后,置 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 温盒内。

2.3 结果判定

2.3.1 于24 h、48 h及72 h观察是否有沉淀线出现,终判时间为72 h。检查时用斜射光,背景要暗。

2.3.2 判定标准:当标准阳性血清与抗原孔间有明显沉淀线而被检血清与抗原孔间也有明显沉淀线,

或标准阳性血清与抗原孔间的沉淀线末端向毗邻的被检血清孔内侧偏弯时,判为阳性。

当标准阳性血清与抗原孔间有明显沉淀线,而被检血清与抗原孔间无沉淀线,或标准阳性血清与抗原孔间的沉淀线末端向毗邻的被检血清孔直伸或向外方偏弯时,判为阴性。

标准阳性血清孔与抗原孔之间的沉淀线末端,似乎向毗邻受检血清孔内侧偏弯,但又不易判断者为可疑。可疑应重检,仍为可疑判为阳性。
