

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 565—2002

**梅迪-维斯纳病琼脂凝胶免疫扩散
试验方法**

Agar gel immunodiffusion test for maedi-visna 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

梅迪-维斯纳(Maedi-Visna)病是羊的慢性致死性传染病,世界动物卫生组织[World Organization for Animal Health(英),Office International des Epizootic(法),OIE]将之列为B类、我国将其列为二类动物疫病。

梅迪-维斯纳病(Visna-Maedi)又称绵羊进行性肺炎、进行性间质性肺炎等,是在临床和病理学上明显不同的两种慢性进行性传染病。这两种病的潜伏期均长达数月甚至数年,病程长,发展缓慢,均以死亡而告终。梅迪病以慢性进行性间质性肺炎为特征,病羊消瘦,呼吸困难,出现干咳,最后死亡,羊群病死率达20%~30%。维斯纳病以慢性脱髓鞘的亚急性脑炎为特征,病羊口唇震颤,头部姿势异常,后肢麻痹,随后发展为截瘫病,全身麻痹,羊群病死率为6%~10%。尽管梅迪病和维斯纳病在临床症状和病理变化上有很大差别,但病毒学、血清学、分子生物学和动物试验都证明,这两种病的病原是同一种病毒,即梅迪-维斯纳病毒。1923年在加拿大蒙大拿绵羊中首先发现梅迪病,1933年在冰岛绵羊中大流行,其后发现维斯纳病。目前此病主要发生或曾经发生于冰岛、德国、法国、荷兰、美国、南非、肯尼亚、印度、以色列、秘鲁等国和地区。

我国60年代也曾发现可疑病例,其临床症状和剖检变化与梅迪病相似。1984年从澳大利亚和新西兰引进的边区莱斯特绵羊及其后代检出了抗体,并于1985年分离出病毒。该病既无疫苗可供预防,又无有效治疗方法,羊群一旦感染本病,生产性能下降,最终死亡,给养羊业造成巨大损失。

本标准是根据OIE《诊断试验和生物试剂标准手册》(2000年版)(Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines,2000)第2.4.4/5章所规定的“琼脂免疫扩散试验(国际贸易指定试验)”和本国的多年实验研究及实践制定的,但进行了以下修改:试验的孔径和孔距稍有不同,不影响试验结果且更易于操作和观察。

本标准的附录A为规范性附录。

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。

本标准主要起草人:荣骏弓、魏仁山。

梅迪-维斯纳病琼脂凝胶免疫扩散 试验方法

1 范围

本标准规定了梅迪-维斯纳病琼脂凝胶免疫扩散试验的技术要求。

本标准适用于梅迪-维斯纳病感染的检测、诊断和流行病学调查。

2 琼脂免疫凝胶扩散试验

2.1 材料准备

2.1.1 琼脂板,制备方法见附录 A(规范性附录)。

2.1.2 抗原,标准阳性血清、阴性血清。

2.2 操作方法

2.2.1 琼脂平皿,制备、打孔见附录 A。

2.2.2 吸取抗原滴加中心孔,加满为止。

2.2.3 吸取标准阳性血清分别滴加外周 2、4、6 孔,加满为止。每一试验应包括一弱阳性对照。

2.2.4 吸取被检血清分别滴加外周 1、3、5 孔,加满为止。

2.3 判定

2.3.1 抗原、标准阳性血清和被检血清滴加完毕后,将平皿倒置,放湿盒内置 37℃ 下孵育,并于 24 h 及 48 h 观察是否有沉淀线出现。

2.3.2 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,并与标准阳性血清的沉淀线相融合,或标准阳性血清与抗原孔的沉淀线末端明显在毗邻的被检血清孔处向中央孔方向偏弯时,该被检血清为阳性(+)。

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沉淀线末端向毗邻的被检血清孔直伸或向该孔偏弯时,该被检血清为阴性(-)。

介于阴、阳性之间为可疑(±)。

可疑应重检,仍为可疑判为阳性(+)

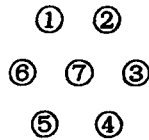
附 录 A
(规范性附录)
琼 脂 板 的 制 备

A.1 三羟甲基氨基甲烷(Tris)琼脂板制备

以 pH 8.0 含 8%氯化钠的 0.05 mol/L 三羟甲基氨基甲烷-盐酸(Tris-HCl)缓冲液,配制 1%琼脂糖,煮沸溶化后滤去沉淀,加 0.01%硫柳汞,倒成 2 mm~2.5 mm 厚琼脂板,待凝固后用打孔器打成孔径 5 mm,孔间距为 3 mm 的 7 孔“梅花型”。打好孔的平板封底备用。

A.2 琼脂板

琼脂板见图 A.1。



注: 7 孔为抗原;1、3、5 孔为被检血清;2、4、6 孔为标准阳性血清。

图 A.1 琼脂板扩孔模式图