



中华人民共和国国家标准

GB/T 18651—2002

牛无浆体病快速凝集检测方法

Methods of fast agglutination test
for bovine anaplasmosis

2002-02-19 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

前 言

过去认为无浆体(anaplasma)是原虫,现确定是一种立克次氏体,译名还有微粒孢子虫、无形体等,根据生物学特征,“无浆体”最为确切,因此本标准中用此名。牛无浆体病是一种牛血液传播病。牛一旦感染,即可成为终生带虫者,使养牛业造成很大经济损失。世界动物卫生组织[World Organization for Animal Health(英),Office International des Epizootic(法),OIE]将本病列为 B 类传染病,本病也是我国出入境动物检疫对象之一。

OIE 推荐诊断牛无浆体病的方法中,卡片凝集检测具有微量、快速、灵敏度高和特异性好等优点,故得到广泛应用。我国曾报道过用补体结合试验诊断牛无浆体病,但因部分血清有抗补体作用,而常被误判,目前,国内尚无卡片凝集检测标准。

本标准以 OIE 推荐技术为依据,参考了澳大利亚和美国检测方法,抗原保存期为一年到三年,试验温度范围为 25℃~28℃。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

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:农业部动物检疫所。

本标准主要起草人:吴鉴三、张肖正。

中华人民共和国国家标准

牛无浆体病快速凝集检测方法

GB/T 18651—2002

Methods of fast agglutination test for bovine anaplasmosis

1 范围

本标准规定了牛无浆体病快速凝集检测方法。

本标准适用于牛无浆体病的诊断。其他动物无浆体病的诊断亦可参照本方法。

2 试剂和器械

2.1 试剂

- a) 无浆体凝集抗原, 4℃保存;
- b) 阴性协同血清(牛血清因子), -70℃~-80℃保存;
- c) 阳性对照血清, -20℃保存;
- d) 阴性对照血清, -20℃保存。

以上试剂由制标单位提供。

2.2 器械

- 2.2.1 微量移液器: 5 μL、10 μL 或 5 μL~25 μL(连续可调)。
- 2.2.2 微量移液器头若干个。
- 2.2.3 试验用板: 取 85 mm×12.5 mm 洁净透明塑料平板, 用油漆或油性记号笔划成 4 排×6 个区位。

3 操作步骤

实验应在 25℃~28℃环境下进行。

- 3.1 被检血清按常规采集和分离, 从采集到第一次检测前, 要在室温放置 38 h~48 h, 然后冷藏或冻存备用, 长期低温保存会使阳性率下降。
- 3.2 取出凝集抗原、阴性协同血清、阳性和阴性对照血清以及被检血清, 在 25℃~28℃下放置 15 min~20 min。
- 3.3 同时在平板第一排左起 1、2 区位划上阳性(+)和阴性(-)符号, 其余各区位依次编上被检血清号。
- 3.4 用微量移液器在编号区内按号分别加阳性、阴性对照血清和待检血清 10 μL。
- 3.5 在各区位加凝集抗原 5 μL, 靠近血清, 互不接触。
- 3.6 在各区位抗原旁加阴性协同血清 10 μL, 互不接触。
- 3.7 用牙签将各区位的三种反应物摊成液面(约成人小指甲盖面积), 混合均匀。做一份血清换用一根牙签。
- 3.8 用手轻轻晃动该平板, 在 4 min~8 min 内, 当阳性对照血清开始出现凝集反应时, 对着黑色背景判读结果。