

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 572—2002

兔出血病血凝和血凝抑制试验方法

**Haemagglutination and haemagglutination inhibition
tests for rabbit 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

兔出血病(曾称兔病毒性出血症),是兔的毁灭性疫病,世界动物卫生组织[World Organization for Animal Health(英),Office International des Epizooties(法),OIE]和我国分别将之列为B类和二类动物疫病。

本标准采用了OIE《诊断试验和疫苗标准手册》(2000版)(Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines)第2.8.3章规定的常规诊断方法(该方法最早系由我国建立),与该章的规定相比,本标准特点:根据本国实践经验,将其具体化,成为操作程序。

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:江苏省农业科学院畜牧兽医研究所。

本标准主要起草人:王启明、董亚芳。

兔出血病血凝和血凝抑制试验方法

1 范围

本标准规定了兔出血病血凝和血凝抑制试验的技术要求。

本标准适用于兔出血病的诊断和流行病学调查。

2 血凝试验(HA)和血凝抑制试验(HI)

2.1 材料和试剂

2.1.1 可疑兔及正常兔肝悬液的制备:分别将肝脏剪碎,按1:10加入生理盐水后匀浆,再以4 000 r/min离心30 min,取上清液做血凝试验。

2.1.2 生理盐水。

2.1.3 阿氏液(Alsever's)

成分:

葡萄糖(化学纯)	2.05 g
氯化钠	0.42 g
柠檬酸钠($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)(化学纯)	0.8 g
柠檬酸($\text{H}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$)(化学纯)	0.055 g
蒸馏水	100 mL

制法:将以上药品混合加热溶解、过滤,68.94 kPa 15 min 灭菌,4℃保存备用。

2.1.4 1%人“O”型红细胞悬液的制备:取新鲜人“O”型红细胞于阿氏液中保存(置4℃可保存一周)。用时取人“O”型红细胞以20倍量生理盐水混匀洗涤红细胞,2 000 r/min离心15 min,弃上清,重复洗涤4次,最后一次离心前,计算红细胞悬液体积(在离心后扣减弃去上清液的体积,即为红细胞的体积)。洗涤后的红细胞用生理盐水配成1%悬液,置4℃备用。

2.1.5 阳性血清。

2.2 微量血凝试验

2.2.1 在96孔V型微量滴定板上,从第2孔至第11孔,每孔加入生理盐水0.025 mL。

2.2.2 然后在第1、2孔加入1:10的可疑兔肝悬液0.025 mL。

2.2.3 从第2孔开始,充分混合后用0.025 mL移液管作等量倍比稀释至第10孔,最后1孔弃去0.025 mL。

2.2.4 第11孔是生理盐水对照,第12孔加1:10的正常兔肝悬液对照。

2.2.5 每孔各加1%人“O”型红细胞0.025 mL,立即在微型振荡器上摇匀,置4℃冰箱45 min,待对照孔的红细胞完全沉积后观察结果。

2.2.6 结果判定和红细胞凝集效价表示方法:

- “++++”符号为100%凝集,无红细胞沉积;
- “+++”符号为75%以上凝集,有少于25%的红细胞沉积;
- “++”符号为50%~75%凝集,有少于50%的红细胞沉积;
- “+”符号为凝集的红细胞少于50%,沉积的红细胞多于50%;