

# 中华人民共和国农业行业标准

NY/T 569—2002

---

## 马传染性贫血病琼脂凝胶免疫扩散 试验方法

Agar gel immunodiffusion test for equine infectious anemia

2002-08-27 发布

2002-12-01 实施

---

中华人民共和国农业部 发布

## 前 言

马传染性贫血病(equine infectious anemia,简称 EIA)是马属动物以反复发作、贫血和持续病毒血症为特征的传染性疾病,被世界动物卫生组织[World Organization for Animal Health(英),Office International des Epizooties(法),OIE]列为 B 类疫病,我国农业部列为二类动物疫病。

本病是由反转录病毒科、慢病毒属的马传贫病毒(ELAV)引起的,经吸血昆虫传播。

本标准规定的琼脂凝胶免疫扩散试验(AGID)诊断方法,是根据 OIE《诊断试验和疫苗标准手册》(2000 年版)和我国实际情况制定的,技术上一致。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:相文华、沈荣显。

## 马传染性贫血病琼脂凝胶免疫扩散 试验方法

### 1 范围

本标准规定了马传染性贫血病的琼脂凝胶免疫扩散技术要求。

本标准适用于马传染性贫血病的诊断和检疫。

### 2 琼脂凝胶免疫扩散试验

#### 2.1 材料准备

2.1.1 抗原:检测用抗原按说明书使用。

2.1.2 血清:

a) 检验用标准阳性血清:能与合格抗原在 12 h 内产生明显致密沉淀线的传贫马血清,做 8 倍以上的稀释仍保持阳性反应者为宜。小量分装,冻结保存。

b) 被检血清:不含防腐剂和抗凝剂的被检马血清。

2.1.3 pH 7.2 0.01 mol/L 的磷酸盐缓冲液(PBS),配制方法见附录 A(规范性附录)。

#### 2.2 操作方法

##### 2.2.1 制备琼脂板

2.2.1.1 取优质琼脂 1.0 g,直接放入含有万分之一硫柳汞的 100 mL 的 PBS 中,用热水浴溶化混匀。

2.2.1.2 将直径 90 mm 的平皿放在水平台上,每平皿倒入热溶化琼脂液 15 mL ~18 mL,厚度约 2.5 mm 左右,注意不要产生气泡,冷凝后加盖,把平皿倒置,防止水分蒸发,放在普通冰箱中可保存两周左右。

根据受检血清样品多少亦可采用大、中、小三种不同规格的玻璃板。10 cm×16 cm 的玻璃板加注热琼脂液 40 mL;6 cm×7 cm 的加注 11 mL;3.2 cm×7.6 cm 的加注 6 mL。

配成的琼脂液,可装瓶中用胶塞盖好,以防水分蒸发,待使用时,现溶化现制板。

##### 2.2.2 打孔

反应孔现用现打。在坐标纸上画好七孔型图案。把坐标纸放在带有琼脂板的平皿或玻璃板下面,照图案在固定位置上用金属管打孔,将切下的琼脂片取出,勿使琼脂膜与玻璃面离动。抗原孔及外周孔孔径均为 5 mm,孔间距 3 mm(见图 1)。

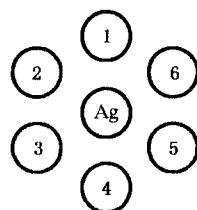


图 1 七孔型

##### 2.2.3 滴加抗原和血清

在琼脂板上端写上日期及编号。在图 1 七孔型的中央孔加抗原,外周 2、4、6 孔加检验用标准阳性血