

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 1171.2—2003

山羊关节炎-脑炎抗体检测方法 琼脂免疫扩散试验

Detection of antibodies against caprine arthritis-encephalitis
virus(CAEV)—Agar gel immunodiffusion(AGID)

2003-03-17 发布

2003-09-01 实施

中 华 人 民 共 和 国 发 布
国 家 质 量 监 督 检 验 检 疫 总 局

前 言

本标准根据 OIE/chapter 2.4.4《诊断试验和疫苗标准手册》起草。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国深圳出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：杨宝华、崔路、耿捷、曾晓平。

本标准是首次发布的出入境检验检疫行业标准。

山羊关节炎-脑炎抗体检测方法 琼脂免疫扩散试验

1 范围

本标准规定了应用琼脂免疫扩散试验检测山羊血清中抗山羊关节炎-脑炎病毒抗体的方法。
本标准适用于山羊关节炎-脑炎的流行病学调查、诊断、检疫和疫情监测。

2 试验原理

琼脂是一种含有硫酸基的多糖体,高温时能溶于水,冷却后凝固,形成凝胶,琼脂凝胶呈多孔结构,其孔径大小取决于琼脂的浓度。1%琼脂凝胶的孔径约 85 nm,这一孔径范围能允许可溶性抗原抗体分子在琼脂凝胶中自由扩散,并由近及远形成浓度梯度,当二者在比例适当处相遇,即发生沉淀反应,并形成沉淀带。根据有无沉淀带的形成判断是否存在相应的抗原抗体免疫反应,从而判断样品中是否存在相应的抗体或抗原。

3 仪器与试验准备

3.1 CAE 琼脂扩散抗原和阳性对照血清

由指定单位提供。

3.2 琼脂糖凝胶板的制备

用 Tris-HCl 缓冲液配置 0.9%~1% 琼脂糖并制板:Tris 0.605 g 和氯化钠(NaCl) 8.0 g 溶于 100 mL 蒸馏水中,继用 1 mol/L 盐酸(HCl)溶液调 pH 至 7.2,然后加入 0.9 g~1 g 琼脂糖,隔水煮沸溶解或高压溶解,冷却至 55℃ 左右取约 15 mL 倒入直径为 9 cm 平皿制作琼脂糖凝胶板,冷却后 4℃ 保存备用。

3.3 采样与样品处理

无菌条件下静脉采血 5 mL 左右,将血样进行血清分离后,经 56℃ 水浴灭活 30 min 后待检。

3.4 仪器

天平(0.001 g)、水浴锅、琼脂凝胶打孔器。

4 操作步骤

4.1 打孔

取冷却琼脂糖凝胶板用打孔模具按下列图示进行打孔,孔径 5 mm,孔距为 3 mm。打孔结束后将平板底部经过酒精灯火焰上方,来回 5 次~7 次封底(适用于玻璃平皿)。将所打的孔按图 1 进行编号(1~6)。

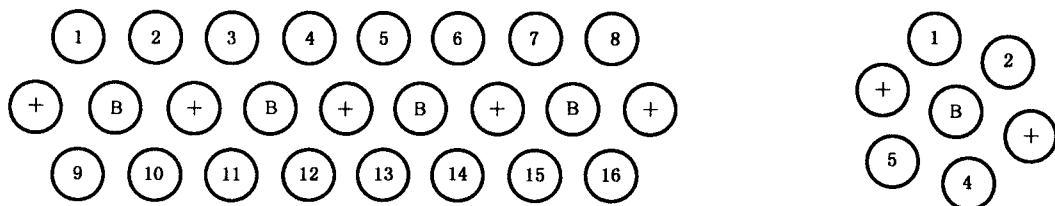


图 1