ICS 11.220
B 41

NY

# 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($Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$)(化学纯) | 0.8 g |
| 柠檬酸($H_3C_6H_5O_7 \cdot H_2O$)(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:

a) "++++"符号为100%凝集,无红细胞沉积;

b) "+++"符号为75%以上凝集,有少于25%的红细胞沉积;

c) "++"符号为50%~75%凝集,有少于50%的红细胞沉积;

d) "+"符号为凝集的红细胞少于50%,沉积的红细胞多于50%;

e) “－”符号为100%的红细胞沉积。

出现＋＋的最高稀释度作为其凝集价，凝集价≥1：160(即第4孔)的判为阳性，如在(1：20)～(1：80)之间，定为可疑，应重做，重做后仍为可疑的判为阳性。

### 2.3 微量血凝抑制试验

2.3.1 从第1排开始到第11孔每孔加生理盐水0.025 mL。

2.3.2 第2孔加可疑兔肝组织悬液0.025 mL。

2.3.3 稀释方法同2.2.3。其他各排与此相同。

2.3.4 第12孔为正常兔肝悬液对照。

2.3.5 第2排起每孔加阳性血清0.025 mL，于微型振荡器上摇匀，37℃温箱放置10 min。

2.3.6 每孔加入1%人“O”型红细胞0.025 mL，立即在微型振荡器上摇匀，置4℃冰箱作用45 min，待对照孔红细胞完全沉积后观察结果。

2.3.7 结果判定：第1排微量血凝试验和其他微量血凝抑制试验相应两排孔的血凝效价相差2个滴度以上(含2个滴度)为阳性。

## 3 现场快速诊断(玻片血凝法)

用直径5 mm滤纸片插入可疑兔肝片刻，取出滤纸片放入预先已经滴有1%人“O”型红细胞的玻片上，若有兔出血病病毒，肉眼可直接观察到血凝现象。