

3403 红细胞凝集试验法（标准草案）

1 50 孔板或试管法

按下表用 PBS（0.1mol/L，pH 值 7.0~7.2，下同）将被检样品稀释成不同倍数，加入 1%鸡红细胞悬液，置室温（15~25℃）20~40 分钟或置 2~8℃ 40~60 分钟，当对照孔中的红细胞呈显著纽扣状时判定结果，以使红细胞完全凝集（++++）的最高稀释度作为判定终点。

表 红细胞凝集试验术式（以 1%鸡红细胞悬液为例）

单位：ml

孔或管号	1	2	3	4	5	6	7	8...	对照
样品稀释倍数	10	20	40	80	160	320	640	1280	
PBS	0.9	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
	} \	} \	} \	} \	} \	} \	} \	} \ 弃 0.5	
样品（病毒原液）	0.1	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	-
1%鸡红细胞悬液	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5

结果判定标准：

++++：红细胞全部凝集，均匀铺于孔底，即 100%红细胞凝集。

+++：红细胞凝集基本同++++，但孔底有大圈。

++：红细胞于孔底形成中等大的圈，四周有小凝块。

＋：红细胞于孔底形成小圆点，四周有少许凝集块。

—：红细胞于孔底呈小圆点，边缘光滑整齐，即红细胞完全不凝集。

2 96 孔微量板法

2.1 在微量板上，从第 1 孔至 12 孔或所需之倍数孔，用移液器每孔加入 PBS 0.025ml，用移液器吸取被检样品 0.025ml，从第 1 孔起，依次作 2 倍系列稀释，至最后 1 个孔，弃去移液器内 0.025ml 液体（稀释倍数依次为 2、4、8、16、32...4096）。

2.2 每孔加入 1%鸡红细胞悬液 0.025ml，并设不加样品的红细胞对照孔，立即在微量板振荡器上摇匀，置室温（15~25℃）20~40 分钟或置 2~8℃ 40~60 分钟，当对照孔中的红细胞呈显著纽扣状时判定结果。

2.3 以使红细胞完全凝集（++++）的最高稀释度作为判定终点。

修订说明：

1. 本标准系在 2020 年版《中国兽药典》附录 3403 的基础上提出修订。

2. 依据 2024 年第 2 次审查会议建议，同意将“室温”反应温度修改为“室温（15~25℃）”。理由：《中国兽药典》2020 版三部凡例中指定室温范围为 10~30℃，但在检验中发现，高温在 HA 试验中易引起试验不成立，故以加括弧的形式对室温的温度范围加以限制，修改为“室温（15~25℃）”。

3. 会议同意根据国家标准 GB/T 17999.2-2008，增加血凝反应程度判定标准。

4. 依据 2024 年第 2 次审查会议建议，删除增加“或适宜稀释液”“其它红细胞悬液(.....)”，删除“或置 37℃ 60 分钟”的修改。

5. 修订完善后的标准，与 2020 年版兽药典三部附录 3403 相比，主要有 2 处修改，一是规定了室温的温度限定为（15~25℃），二是增加了血凝反应程度标准。其余属于文字规范性修订。修订之处已用红色字体标出。