

**Serologische Untersuchung der Blutproben
im Agar-Gel-Immunodiffusionstest**

1. Agar-Gel

a) Zusammensetzung

1000 ml	0,05 mol	Tris-HCl-Puffer, pH 7,2
85,0 g		NaCl reinst
0,01 g		Natriumacid
8,0 g		Agar

b) Herstellung:

Im Dampftopf aufkochen und je nach Gebinde-Größe etwa 20 bis 60 Min. darin belassen; bei 60 bis 70 °C abfüllen.

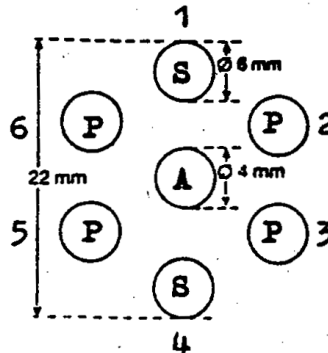
Der Agar wird auf geeignete Träger (vorzugsweise runde Petrischalen) in einer Schichttiefe von 2,5 mm gegossen (15 ml Agar in einer Petrischale von 85 mm bzw. 5 ml Agar in einer Petrischale von 50 mm Ø entsprechen etwa einer Schichttiefe von 2,5 mm).

2. Stanze

In die Agar-Gelschicht wird mit einer außen völlig planen, innen angeschliffenen Stanze ein rosettenartiges Lochmuster gestanzt. Ein zentrales Loch mit einem Durchmesser von 4 mm wird in einem Abstand von 3 mm umgeben von 6 peripheren Löchern mit einem Durchmesser von 6 mm. Verletzungen und Einrisse der Stanzlochwände sind möglichst zu vermeiden, auf Bodendichtigkeit der Stanzlöcher ist zu achten.

3. Testansatz

Dem untenstehenden Schema folgend dienen die peripheren Löcher 1 und 4 zur Aufnahme des Antiserums (positives Kontrollserum „S“). Die peripheren Löcher 2, 3, 5, 6 dienen der Aufnahme von zu untersuchenden Feldseren (Patientenserum „P“). In das zentrale Loch wird das Leukosevirus-Antigen (A) gegeben.



4. Probenmengen

Antigen: 30 bis 35 Mikroliter Leukosevirus-Antigen.

Positives Kontrollserum: 70 bis 75 Mikroliter unverdünntes Kontrollserum.

Patientenserum: 70 bis 75 Mikroliter natives Patientenserum.

5. Inkubation

Die geschlossene Petrischale wird bis zur Endablesung bei Zimmertemperatur in einem geschlossenen System (Schränk) inkubiert.

6. Antigen, Kontrollserum, nationales Referenz-Labor

Auf die Vorschriften über die staatliche Zulassung und Chargenprüfung von Sera, Impfstoffen und Antigenen wird hingewiesen. Die Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere, Tübingen, ist nationales Referenzlabor für Vergleichsuntersuchungen an Antigenen und Kontrollsera, die in der serologischen Leukosediagnostik verwendet werden.