



中华人民共和国国家标准

GB/T 28630.3—2012

白斑综合征(WSD)诊断规程 第3部分:原位杂交检测法

Diagnostic protocols for white spot disease—
Part 3: *In situ* hybridization method

2012-07-31 发布

2012-11-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

GB/T 28630《白斑综合征(WSD)诊断规程》分为五个部分：

- 第 1 部分：核酸探针斑点杂交检测法；
- 第 2 部分：套式 PCR 检测法；
- 第 3 部分：原位杂交检测法；
- 第 4 部分：组织病理学诊断法；
- 第 5 部分：新鲜组织的 T-E 染色法。

本部分为 GB/T 28630 的第 3 部分。

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本部分由中华人民共和国农业部提出。

本部分由全国水产标准化技术委员会(SAC/TC 156)归口。

本部分起草单位：中国水产科学研究院黄海水产研究所、农业部全国水产技术推广总站。

本部分主要起草人：黄捷、杨冰、陈爱平、宋晓玲、史成银、杨丛海、魏琦、刘莉。

白斑综合征(WSD)诊断规程

第3部分:原位杂交检测法

1 范围

GB/T 28630 的本部分规定了白斑综合征原位杂交检测法所需试剂与材料、仪器设备、操作步骤和结果判定。

本部分适用于进行对虾及白斑综合征的其他敏感宿主组织细胞的感染程度及病毒扩增状况的评估和疾病的确诊。不适用于对病毒的非感染性携带的标本进行病毒检测。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有修改单)适用于本文件。

GB/T 28630.1—2012 白斑综合征(WSD)诊断规程 第1部分:核酸探针斑点杂交检测法

GB/T 28630.4—2012 白斑综合征(WSD)诊断规程 第4部分:组织病理学诊断法

3 原理

3.1 白斑综合征的病原和病理学特征

见 GB/T 28630.4—2012 的 2.1。

3.2 技术原理

原位杂交检测方法是以非放射性标记物——地高辛(DIG)标记的白斑综合征病毒(WSSV)核酸探针与存在于切片中的 WSSV DNA 进行核酸分子杂交,并通过抗原-抗体反应和酶-底物的化学显色反应在组织切片上显示出 WSSV 的存在位点。原位杂交可完整保持组织与细胞形态,能在复杂组织中对单一细胞进行病毒检测,准确反映组织细胞中病毒的分布。

4 试剂和材料

- 4.1 除非另有说明,在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和蒸馏水或去离子水或相当纯度的水。
- 4.2 核酸探针按 GB/T 28630.1—2012 中 6.2 的规定。
- 4.3 碱性磷酸酶偶联的 DIG 抗体(AP-抗 DIG,0.75 U/ μ L,4 $^{\circ}$ C):生化试剂。
- 4.4 二甲苯。
- 4.5 无水乙醇。
- 4.6 95%乙醇。
- 4.7 中性树胶:生物染色用。
- 4.8 石蜡(熔点 52 $^{\circ}$ C~54 $^{\circ}$ C):切片级。
- 4.9 戴维森氏 AFA (Davidson's AFA)固定液:见附录 A 的规定。