



中华人民共和国国家标准

GB/T 18644—2020
代替 GB/T 18644—2002

猪囊尾蚴病诊断技术

Diagnostic techniques for porcine cysticercosis

2020-12-14 发布

2020-12-14 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

目 次

前言	III
引言	IV
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 缩略语	1
4 显微镜检查	1
4.1 试剂	1
4.2 仪器设备	1
4.3 虫体采集	2
4.4 压片制备	2
4.5 显微镜检查	2
4.6 显微镜检查结果判定	2
5 PCR法	2
5.1 试剂	2
5.2 仪器设备	2
5.3 引物	3
5.4 样品	3
5.5 PCR 操作程序	3
5.6 扩增产物电泳检测	4
5.7 试验成立条件	4
5.8 PCR 结果判定	4
6 间接 ELISA	4
6.1 试剂	4
6.2 仪器设备	4
6.3 样品	5
6.4 试验步骤	5
6.5 试验成立条件	6
6.6 ELISA 结果判定	6
7 Dot-ABC-ELISA	6
7.1 试剂	6
7.2 仪器设备	7
7.3 样品	7
7.4 试验步骤	7
7.5 试验成立条件	8
7.6 Dot-ABC-ELISA 结果判定	8
8 综合判定	8

附录 A (规范性附录)	生理盐水及猪囊尾蚴头节形态特征	9
附录 B (规范性附录)	PCR 引物位置、溶液配制及电泳结果	10
附录 C (规范性附录)	ELISA 试剂及其配制	12
附录 D (资料性附录)	猪囊尾蚴 TS-CC18 重组蛋白的制备	14
附录 E (资料性附录)	间接酶联免疫吸附试验的加样	16
附录 F (资料性附录)	猪囊尾蚴 TS-CC18 和烯醇化酶单克隆抗体的制备	17
附录 G (资料性附录)	Dot-ABC-ELISA 相关试剂配制及结果判定	20

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准代替 GB/T 18644—2002《猪囊尾蚴病诊断技术》，与 GB/T 18644—2002 相比，除编辑性修改外，主要技术变化如下：

- 范围部分增加了 PCR 和 Dot-ABC-ELISA 技术(见第 1 章)；
- 增加了缩略语部分(见第 3 章)；
- 增加了病原的 PCR 检测方法(见第 5 章)；
- 修改了酶联免疫吸附试验的检测抗原和检测步骤，直接对血清样品进行抗体检测(见第 6 章，2002 年版的第 3 章)；
- 增加了检测循环抗原的 Dot-ABC-ELISA 方法(见第 7 章)；
- 增加了综合判定(见第 8 章)；
- 增加了生理盐水及猪囊尾蚴头节图片(见附录 A)，PCR 引物位置、溶液配制及电泳图片(见附录 B)，ELISA 试剂及其配制(见附录 C，2002 年版的附录 A)，猪囊尾蚴 TS-CC18 重组蛋白的制备(见附录 D)，间接酶联免疫吸附试验加样示例(见附录 E)，猪囊尾蚴 TS-CC18 和烯醇化酶单克隆抗体的制备(见附录 F)，Dot-ABC-ELISA 相关试剂配制及结果判定(见附录 G)。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本标准由中华人民共和国农业农村部提出。

本标准由全国动物卫生标准化技术委员会(SAC/TC 181)归口。

本标准起草单位：中国农业科学院兰州兽医研究所。

本标准主要起草人：才学鹏、骆学农、张少华、郑亚东、郭爱疆、侯俊玲。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

- GB/T 18644—2002。

引 言

猪囊尾蚴病 (porcine cysticercosis) 是由猪带绦虫 (*Taenia solium*) 的幼虫所引起的一种危害严重的人兽共患寄生虫病。世界动物卫生组织将该病列为需申报的疾病之一。目前, 该病广泛存在于发展中国家, 而且发达国家的病例也有逐年增加的趋势, 不仅影响养猪业的发展, 造成巨大的经济损失, 而且还严重威胁人类健康。

猪囊尾蚴病的诊断包括病原学诊断与血清学诊断。病原学诊断的目的在于确定临床剖检样本中虫体的形态特征, 在显微镜下观察头节顶突上有内外两圈排列整齐的小钩, 即可判为猪囊尾蚴。若囊尾蚴主要寄生于肝脏, 则要注意与亚洲带绦虫囊尾蚴相区别。目前, 该病的生前诊断主要采用血清学方法, 所用的抗原有虫体抗原、囊液抗原或分泌代谢抗原等, 虽然这些抗原的检测敏感性较高, 但特异性差, 而且抗原来源非常有限。鉴于以上原因, 本次对 GB/T 18644—2002《猪囊尾蚴病诊断技术》的修订, 除间接 ELISA 所用抗原改为猪囊尾蚴期特异性 18 ku 基因 (TS-CC18) 重组蛋白外, 还增加了血清循环抗原 (CAg) 检测方法和病原的 PCR 检测方法, 以满足猪囊尾蚴病流行病学调查、药物治疗效果评价和动物流通风险评估等不同需求。

本文件的发布机构提请注意, 声明符合本文件时, 可能涉及到第 6 章间接酶联免疫吸附试验 (ELISA) 相关的专利使用。

本文件的发布机构对于该专利的真实性、有效性和范围无任何立场。

该专利持有人已向本文件的发布机构保证, 他愿意同任何申请人在合理且无歧视的条款和条件下, 就专利授权许可进行谈判。该专利持有人的声明已在本文件的发布机构备案。相关信息可以通过以下联系方式获得:

专利持有人姓名: 才学鹏、张少华、景志忠、骆学农、郭爱疆、郑亚东、窦永喜。

地址: 甘肃省兰州市盐场堡徐家坪 1 号。

请注意除上述专利外, 本文件的某些内容仍可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

猪囊尾蚴病诊断技术

1 范围

本标准规定了猪囊尾蚴病的显微镜检查、聚合酶链式反应法(PCR法)、间接酶联免疫吸附试验(间接ELISA)、斑点生物素-亲和素复合物酶联免疫吸附试验(Dot-ABC-ELISA)诊断技术及综合判定。

本标准适用于猪和野猪的囊尾蚴病诊断。

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。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

CNAS-GL 029:2018 基因扩增领域检测实验室认可指南

3 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

Avidin-HRP:亲和素-辣根过氧化物酶(Avidin-Horseradish Peroxidase)

DAB:二氨基联苯胺(3,3'-Diaminobenzidine)

Dot-ABC-ELISA:斑点生物素-亲和素复合物酶联免疫吸附试验(Dot-Avidin-Biotin-Complex-ELISA)

ELISA:酶联免疫吸附试验(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

HRP:辣根过氧化物酶(Horse Radish Peroxidase)

IPTG:异丙基-β-D-硫代半乳糖苷(Isopropyl β-D-Thiogalactoside)

NC:硝酸纤维素(Nitrocellulose)

OPD:邻苯二胺(O-phenylenediamine)

PBS:磷酸盐缓冲液(Phosphate Buffered Saline)

PBST:洗涤液(PBS containing 0.5% Tween-20)

PCR:聚合酶链式反应(Polymerase Chain Reaction)

TMB:四甲基联苯胺(3,3',5,5'-Tetramethyl Benzidine)

4 显微镜检查

4.1 试剂

生理盐水配制见附录A中的A.1。

4.2 仪器设备

4.2.1 正置生物显微镜。

4.2.2 手术剪、手术刀、镊子。

4.2.3 载玻片。