

**中华人民共和国农业行业标准**

NY/T 573—2002

---

**弓形虫病诊断技术**

**Diagnostic techniques for toxoplasmosis**

2002-08-27 发布

2002-12-01 实施

---

**中华人民共和国农业部** 发布

## 前 言

弓形虫病是由刚第弓形虫(*Toxoplasma gondii*)引起的一种人畜共患寄生虫病。该病呈世界性分布,各种家畜,包括猪、牛、羊、犬、猫和实验动物,包括小白鼠、天竺鼠、家兔等,以及人类,都能感染弓形虫。弓形虫病可使孕畜流产死胎,急性弓形虫病可造成家畜的死亡。弓形虫感染孕妇后可引起流产,胎儿畸形或产出弱智儿。弓形虫感染成人后,可侵害神经系统、呼吸系统、心脏、淋巴内皮系统等多种器官或系统,并造成损伤,严重时会造成死亡。因此,弓形虫病具有重要的公共卫生意义。

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:中国农业大学、中国农业科学院兰州兽医研究所。

本标准主要起草人:汪 明、杜重波、潘保良、刘 群。

# 弓形虫病诊断技术

## 1 范围

本标准规定了弓形虫病的诊断技术要求。

本标准所规定弓形虫的分离鉴定适用于本病的确诊；间接血凝试验适用于大批量样品的普查。

## 2 弓形虫的分离鉴定

### 2.1 材料准备

2.1.1 器材：玻璃组织研钵，无菌砂子，5 mL 注射器及针头。

2.1.2 0.8%生理盐水：加入青霉素和链霉素，使其终浓度分别为 100 IU/mL 和 10  $\mu$ g/mL。

2.1.3 蛋白酶。

2.1.4 健康实验小白鼠 27 只。

### 2.2 待检样品的采集及处理

无菌采取病畜的脑组织、心、肝、肺、肾、骨骼肌各 2 g，以及 3 mL 腹腔液，所取组织或器官材料分别放入玻璃组织研钵中，加入无菌砂子和 0.8% 的无菌盐水进行研磨，研磨成组织糜。研磨好的组织（器官），用 0.8% 的盐水配制成 10%~20% 的组织悬浮液。肺组织和肌肉组织悬浮液加入蛋白酶消化。消化后的组织悬浮液用于接种，腹腔液不用处理可直接接种。

### 2.3 操作方法

接种：选取 27 只健康试验用小白鼠，分为 9 组，每组 3 只，作如下处理：

空白对照组（1 组）：不作任何处理；

生理盐水接种组（1 组）：每只小鼠腹腔接种生理盐水 1 mL；

病料接种组（共 7 组）：每只小鼠分别腹腔接种 2.2 所制备的待检样品 1 mL。

### 2.4 检查与判定

小鼠接种待检样品后，如在 2 d~14 d 内发生死亡，则应抽取腹腔渗出液涂片镜检。同时另采集脑、肝、肺、脾涂片，涂片进行姬姆萨染色后用显微镜镜检。若小鼠未发生死亡，则应在接种后的 6~8 周对小鼠进行捕杀，并按上述方法取样镜检。若在小鼠腹腔液中查出速殖子<sup>1)</sup>或所取的组织样品中查出包囊<sup>2)</sup>或缓殖子<sup>3)</sup>，则可将待检样品判为阳性。没有查出则判为阴性。

当空白对照组和生理盐水接种组没有查出弓形虫时，可进行结果判定，否则应重检。当所检样品中，有一个为阳性，即说明被检动物已被弓形虫感染，将其判为阳性；当所检样品全部为阴性时，将被检动物判为阴性。

1) 速殖子呈月牙形，长为 4  $\mu$ m~8  $\mu$ m，宽为 2  $\mu$ m~4  $\mu$ m。包囊呈球形，囊壁薄，直径为 25  $\mu$ m~100  $\mu$ m。

2) 包囊内往往充满圆形或月牙状的缓殖子，缓殖子长为 3  $\mu$ m，宽为 2  $\mu$ m~3  $\mu$ m。

3) 缓殖子对姬姆萨染液高度敏感，呈嗜碱性。

3 间接血凝试验(IHA 试验)

3.1 材料准备

3.1.1 96(12×8)孔 110°V 形有机玻璃反应板,100 μL 微量加样器,振荡器,医用离心机,移液管等。

3.1.2 弓形虫诊断制剂(IHA 抗原),稀释液,阳性、阴性血清。

3.2 操作方法

3.2.1 弓形虫诊断制剂按瓶上标示毫升数加入灭菌蒸馏水稀释摇匀,1 500 r/min~2 000 r/min 离心 5 min~10 min,弃上清液,加等量稀释液摇匀,置 4℃ 下静置 24 h 后使用。

3.2.2 采被检疫动物或人的血液 2 mL~2.5 mL,分离血清(应无血球)。

3.2.3 用微量加样器往 96 孔有机玻璃反应板每孔加 75 μL 稀释液。每个样品加 4 孔。每块板设阳性、阴性血清对照。对照均加 8 孔。

3.2.4 往各组第 1 孔加 25 μL 的被检血清,或阳性血清,或阴性血清。

3.2.5 用加样器对每组进行 1:4 系列稀释,被检血清组稀释至第 3 孔,阳、阴性对照组稀释至第 7 孔。被检血清组第 4 孔,阳、阴性对照组第 8 孔为稀释液(见表 1)。

表 1 各组各孔的稀释度

孔号	1	2	3	4	5	6	7	8
被检血清组	(第一组) 4	16	64	稀释液对照	(另一组) 4	16	64	
阴性对照组	4	16	64	256	1 024	4 096	16 384	稀释液对照
阳性对照组	4	16	64	256	1 024	4 096	16 384	稀释液对照

3.2.6 将准备好的诊断液摇匀,用移液管加 25 μL 诊断液于每孔中。加完后将反应板置微型振荡器上振荡 1 min~2 min,直至诊断液中的血球分布均匀,从振荡器上取下反应板,用干净的玻璃板或纸板盖住反应板,以防灰尘落入,置 22℃~37℃ 静置 2 h~3 h 后观察结果。

3.3 判定

在阳性对照血清滴度不低于 1:1 024(第 5 孔);阴性对照血清除第 1 孔允许存在前滞现象(+)外,其余各孔均为(-);稀释液对照为(-)的前提下,对被检血清进行判定,否则应重做。

间接血凝试验的判定标准如下:

“++++”:100%红细胞在孔壁下部呈均质的膜样凝集。边缘整齐,致密。因重力关系,膜样凝集的红细胞有时出现下滑现象。

“+++”:75%的红细胞在孔壁下部呈膜样凝集,不凝集的红细胞在孔底中央集中成很小的圆点。

“++”:50%的红细胞在孔壁更下部呈稀疏的凝集,不凝集的红细胞在孔底中央集中成较大的圆点。

“+”:25%的红细胞在孔底凝集,其余不凝集的红细胞在孔底中央集中成大的圆点。

“-”:所有的红细胞均不凝集,并集中于孔底中央呈规则的最大的圆点。

被检血清第 3 孔(1:64 稀释)达到“++”或以上,将被检样品判为阳性。

被检血清第 3 孔(1:64 稀释)为“+”或“-”,将被检样品判为阴性。