

# 中华人民共和国农业行业标准

NY/T 573—2022  
代替 NY/T 573—2002

## 动物弓形虫病诊断技术

Diagnostic techniques for animal toxoplasmosis

2022-07-11 发布

2022-10-01 实施



中华人民共和国农业农村部 发布

## 前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件代替 NY/T 573—2002《弓形虫病诊断技术》，与 NY/T 573—2002 相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- a) 增加了临床诊断和病理变化(见第 5 章)；
- b) 病原学检测方法增加了直接镜检和聚合酶链式反应(见第 6 章和第 8 章)；修订了动物接种实验(见第 7 章)；
- c) 血清学检测删除了间接血凝试验(见 2002 年版的第 3 章)，增加了改良凝集试验和间接免疫荧光试验(见第 9 章和第 10 章)。

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专利的责任。

本文件由农业农村部畜牧兽医局提出。

本文件由全国动物卫生标准化技术委员会(SAC/TC 181)归口。

本文件起草单位：中国农业大学。

本文件主要起草人：刘晶、刘群、潘保良。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

——2002 年首次发布为 NY/T 573—2002。

——本次为第一次修订。

## 引 言

弓形虫病(*Toxoplasmosis*)是由刚地弓形虫(*Toxoplasma gondii*)引起的一种人兽共患寄生虫病。该病呈世界性分布,可感染许多温血动物,包括猪、羊、牛、犬和猫等。弓形虫病可使孕畜流产、产死胎,急性弓形虫病可造成家畜的死亡,对猪和羊的危害最为严重。动物弓形虫是人弓形虫病的主要感染来源。弓形虫感染孕妇后可引起流产,胎儿畸形或产出弱智儿;免疫功能低下人群感染后,可侵害多种器官或系统,并造成损伤甚至死亡。我国《一、二、三类动物疫病病种名录》规定,弓形虫病为二类动物疫病中的多种动物共患病。动物弓形虫病的诊断具有重要的公共卫生意义。

本文件在 2002 版《弓形虫病诊断技术》的基础上,参考了 OIE《陆生动物诊断试验和疫苗标准手册》(2018 版)相关国际标准。本文件中补充了病原学诊断的直接镜检和聚合酶链式反应(PCR)诊断方法,修订了动物接种实验,修订了原有的血清学诊断方法,删除了间接血凝试验(IHA),增加了改良凝集试验(MAT)、间接免疫荧光抗体试验(IFAT),所列的标准既适用于我国动物弓形虫病的诊断需求,也符合国际标准。

# 动物弓形虫病诊断技术

## 1 范围

本文件规定了动物弓形虫病诊断的直接镜检、动物接种、聚合酶链式反应、改良凝集试验和间接免疫荧光试验的技术要求。

本文件适用于猪、牛、羊、犬、猫、兔等动物弓形虫病的诊断与流行病学调查。所列方法包括病原学诊断和血清学诊断,其中:

- 病原学诊断,包括直接镜检、动物接种和聚合酶链式反应适用于在动物淋巴结、脑组织、肌肉、各组织中弓形虫病原的鉴定;
- 血清学诊断,包括改良凝集试验、间接免疫荧光抗体试验适用于对动物血清抗体的检测。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用本文件。

- GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法
- GB 19489 实验室 生物安全通用要求
- NY/T 511—2016 兽医诊断样品采集、保存与运输技术规范

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

#### 速殖子 tachyzoite

弓形虫无性生殖阶段。速殖子呈月牙形,一端偏尖,一端偏钝圆,长 $4\ \mu\text{m}\sim 8\ \mu\text{m}$ ,宽 $2\ \mu\text{m}\sim 4\ \mu\text{m}$ ,在有核细胞内呈出芽生殖。速殖子常见于急性感染阶段的体液、淋巴细胞及全身的有核细胞(见附录A)。

### 3.2

#### 缓殖子 bradyzoite

弓形虫发育阶段之一,呈月牙形,长 $3\ \mu\text{m}$ ,宽 $2\ \mu\text{m}\sim 3\ \mu\text{m}$ ,存在于包囊中。速殖子可转化成缓殖子,缓殖子也可以在环境适宜时转化成速殖子(见附录A)。

### 3.3

#### 包囊 cyst

呈球形,囊壁薄,直径 $25\ \mu\text{m}\sim 100\ \mu\text{m}$ ,内含圆形或月牙形缓殖子,每个包囊含数十个至数千个缓殖子不等。包囊可在宿主体内长期存在,常见于脑及肌肉组织内(见附录A)。

## 4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

- BSA:牛血清白蛋白(Bovineserumalbumin)
- DAPI:4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole)
- EDTA:乙二胺四乙酸(Ethylene diamine tetraacetic acid)
- FITC:异硫氰酸荧光素(Fluorescein isothiocyanate)
- IFAT:间接免疫荧光抗体试验(Indirect immunofluorescence antibodytest)
- IHA:间接血凝试验(Indirect hemagglutination assay)
- MAT:改良凝集试验(Modified agglutination test)

PBS:磷酸盐缓冲液(Phosphate-buffered saline)

PCR:聚合酶链式反应(Polymerase chain reaction)

## 5 临床诊断

### 5.1 临床症状

5.1.1 不同动物感染弓形虫后的临床症状差异很大。弓形虫病对猪和羊的危害最为严重。

5.1.2 猪弓形虫病临床症状包括:

- a) 高热,精神委顿,食欲减退或废绝,渴欲增加;
- b) 呼吸困难呈腹式呼吸,严重者呈犬坐姿势,流水样或黏液性鼻涕;
- c) 耳、唇、腹部及四肢下部皮肤前期充血,后期发绀或有淤血斑,耳尖出现干性坏死;
- d) 腹股沟淋巴结肿大;
- e) 妊娠期母猪发生流产、产死胎或产出患有先天性弓形虫病的仔猪。

5.1.3 羊弓形虫病临床症状包括:

- a) 发病急,精神沉郁,体温可达41℃以上,呈稽留热;
- b) 呼吸频率加快,呈明显腹式呼吸,流泪、流涎,病羊眼内有大量的浆液性或黏脓性分泌物;
- c) 少数病羊运动失调、全身震颤,出现神经系统和呼吸系统的症状;
- d) 妊娠羊发生流产,妊娠早期胚胎死亡和吸收、胎儿死亡和木乃伊化。

5.1.4 其他动物弓形虫病临床症状包括:

- a) 牛、鸡、犬、猫等动物都可以被弓形虫感染;
- b) 孕牛感染弓形虫,增加流产的风险;
- c) 鸡急性弓形虫病出现斜颈和侧卧位等神经症状;
- d) 除急性症外,大多数宿主呈慢性(或隐性)感染,在体内形成包囊,多不表现出明显临床症状。

### 5.2 病理变化

#### 5.2.1 急性感染

5.2.1.1 常出现全身性病变,表现为全身淋巴结肿大,有出血点和小坏死灶。

5.2.1.2 肺高度水肿,有出血斑点和白色坏死灶。

5.2.1.3 脾脏肿大,呈棕红色。

5.2.1.4 肝脏呈灰红色,散在有小点坏死。

5.2.1.5 肠系膜淋巴结肿大,肠道重度充血,肠黏膜上常可见到扁豆大小的坏死灶,肠腔和腹腔内有多量渗出液。

5.2.1.6 肾皮质有出血点和灰白色坏死灶。膀胱有少数出血点。

5.2.1.7 弓形虫病心肌炎的特征是多灶性坏死性心肌炎。

#### 5.2.2 慢性感染

各内脏器官水肿,并有散在的坏死灶。在脑组织和肌肉中可见弓形虫包囊。

## 6 直接镜检

### 6.1 仪器设备与耗材

6.1.1 离心机。

6.1.2 光学显微镜。

6.1.3 剪刀和镊子。

6.1.4 载玻片和盖玻片。

6.1.5 试管、微量移液器及吸头。

### 6.2 试剂材料

6.2.1 姬姆萨染液(见附录 B 中的 B.1)。

6.2.2 除特殊说明以外,本文件所有试剂均为分析纯,水符合 GB/T 6682 的规定。

### 6.3 样品处理

取动物淋巴结穿刺液、腹水或羊水等体液 0.5 mL~1 mL,1 500 r/min 离心 10 min;取沉淀涂片,干燥、固定和姬姆萨液染色,光镜下观察。组织涂片或触片经姬姆萨液染色,光镜下观察。

### 6.4 结果判定

淋巴结穿刺液、腹水、羊水等体液,在光镜下检测到弓形虫速殖子则判定为病原学阳性;组织涂片或触片,光镜下检测到弓形虫速殖子、包囊或缓殖子则判定为病原学阳性。

## 7 动物接种

### 7.1 仪器设备与耗材

7.1.1 小鼠独立通气笼 IVC。

7.1.2 生物安全柜。

7.1.3 离心机。

7.1.4 光学显微镜。

7.1.5 剪刀和镊子。

7.1.6 玻璃组织研钵。

7.1.7 注射器。

7.1.8 载玻片和盖玻片。

7.1.9 微量移液器及吸头。

### 7.2 试剂材料

6 周龄~8 周龄 SPF 级 BALB/c 小鼠,0.8% 无菌生理盐水(含 100 IU/mL 青霉素和 10 μg/mL 链霉素)、蛋白酶、姬姆萨染液。

### 7.3 样品的采集及处理

无菌采集被检动物的脑、心、肺组织和骨骼肌各 1 g 或腹腔液 3 mL,所取组织混合后放入玻璃组织研钵中,加入无菌沙和 0.8% 的无菌生理盐水研磨成组织糜。研磨好的组织用 0.8% 的无菌生理盐水配制成 10%~20% 的组织悬液。

### 7.4 操作方法

将小鼠分为 3 组,每组 3 只小鼠。第 1 组为组织糜灌胃接种组,经口灌胃接种小鼠;第 2 组为腹腔液接种组,直接腹腔接种,每只小鼠分别接种待检样品 1 mL;第 3 组为阴性对照组,腹腔接种生理盐水 1 mL。

小鼠接种待检样品后,如在 2 d~14 d 内死亡,则应抽取腹腔渗出液涂片,姬姆萨液染色后镜检。同时,另采集脑、肝、肺、脾涂片,姬姆萨液染色后镜检。若小鼠未死亡,则应在接种后 8 周对小鼠进行扑杀,按上述操作取脑组织染色镜检并辅助进行 PCR 检测(见第 8 章)。

### 7.5 结果判定

当阴性对照组没有查出弓形虫时,可进行结果判定,否则应重检。

- a) 阳性标准判定:若在小鼠腹腔液中查出速殖子,或所取的小鼠组织样品中查出包囊或速殖子,则可将被检动物样品判为阳性;当所检动物样品中有一个为阳性,即说明被检动物已被弓形虫感染,将其判定为阳性。若小鼠脑组织镜检发现包囊或 PCR 检测为阳性,即说明被检动物已被弓形虫感染,将其判定为阳性。
- b) 阴性标准判定:若所有小鼠腹腔液未查出速殖子、组织样品未检出包囊或缓殖子,脑组织 PCR 检测为阴性,即接种结果为阴性时,被检动物判定为阴性。

## 8 PCR 检测

### 8.1 仪器设备与耗材

- 8.1.1 PCR 基因扩增仪。
- 8.1.2 台式离心机。
- 8.1.3 核酸电泳仪。
- 8.1.4 核酸电泳槽。
- 8.1.5 凝胶成像仪。
- 8.1.6 微量移液器及吸头、PCR 管等。

## 8.2 试剂

- 8.2.1 商品化组织、细胞、全血基因组 DNA 快速提取试剂盒。
- 8.2.2 普通 PCR 聚合酶(2×*Taq* MasterMix)。
- 8.2.3 1×TAE 缓冲液(见 B.3)。
- 8.2.4 1%琼脂糖凝胶(见 B.3)。
- 8.2.5 Goldview 核酸染料。
- 8.2.6 引物(1 μmol/mL)、DNA Marker、ddH<sub>2</sub>O、PBS (pH 7.2)。

## 8.3 样品的采集、运输和保存

采集的病畜组织 2 g(如脑、肺、心、肌肉、胎盘)样品应在 24 h 内尽快送检,送检过程中样品应保存在 0℃~4℃中;若不能及时送检,应冻存在-20℃中。

## 8.4 操作方法

### 8.4.1 PCR 反应模板

依据商品化组织、细胞、全血基因组 DNA 快速提取试剂盒说明书,提取样品组织基因组 DNA,作为 PCR 反应的模板。阴性对照为弓形虫阴性组织 DNA;阳性对照为弓形虫速殖子 DNA;空白对照为无菌去离子水。

### 8.4.2 PCR 引物

以弓形虫(RH 株)特异性基因 529 bp 为靶基因,扩增样品组织中弓形虫 DNA。

上游引物 F:5'-CGCTGCAGGGAGGAAGACGAAAGTTG-3';

下游引物 R:5'-CGCTGCAGACACAGTGCATCTGGATT-3'。

### 8.4.3 PCR 反应体系

PCR 反应体系 20.0 μL,包括上下游引物(10 mmol/L)各 1.0 μL;2×*Taq* MasterMix 10.0 μL;待检样品 DNA 2.0 μL;双蒸水补足体积至 20.0 μL。

### 8.4.4 PCR 扩增条件

95℃预变性 10 min,95℃变性 30 s,56℃退火 30 s,72℃延伸 30 s,35 个循环,72℃延伸 10 min。

### 8.4.5 PCR 产物电泳

PCR 反应结束后,取 PCR 产物 5 μL,于 1%琼脂糖凝胶中电泳,电泳后在凝胶成像系统中观察结果。

## 8.5 质控标准

阳性对照样品出现清晰、单一的 529 bp 大小的扩增片段,阴性对照和空白对照未出现任何扩增条带时实验成立,否则应重做。

样本 DNA 制备的质控标准:检测样本的宿主管家基因(如 ACTIN)可有效扩增。

## 8.6 结果判定

按附录 C 进行判定。

待检样品在 529 bp 处出现条带,即为阳性,表述为检出弓形虫 DNA。

待检样品在 529 bp 处未出现条带,即为阴性,表述为未检出弓形虫 DNA。

## 9 改良凝集试验(MAT)

### 9.1 仪器设备与耗材

- 9.1.1 恒温箱。
- 9.1.2 台式离心机。
- 9.1.3 微量移液器及吸头。
- 9.1.4 U型96孔板。
- 9.1.5 保鲜膜。

## 9.2 试剂

- 9.2.1 6%甲醛溶液(见B.4)。
- 9.2.2 碱性缓冲液(见B.4)。
- 9.2.3 抗体稀释液(见B.4)。

## 9.3 样品的采集、运输和保存

对不同动物采取适宜的方式无菌采集动物血液样品1 mL,静置自然析出血清,或血液凝固后1 500 r/min~3 000 r/min,离心5 min,分离上层血清。分离后的血清应呈淡黄色透明液体。

采集的样品送检过程中应保存在0℃~4℃中;若不能及时送检,应冻存在-20℃条件下。

## 9.4 质控血清的制备

### 9.4.1 阳性血清

弓形虫全虫抗原或速殖子免疫后的动物血清,或经其他方法验证弓形虫抗体为阳性的动物血清样品。

### 9.4.2 阴性血清

未感染弓形虫的健康羊、猪、犬、猫等动物血清,或经其他方法验证为弓形虫抗体阴性的动物血清样品。

## 9.5 操作方法

### 9.5.1 纯化

待细胞培养的弓形虫速殖子接近完全释放时,用细胞刮将细胞刮离,用27G针头吹打破碎细胞,使胞内虫体完全释放。细胞混悬液用5 μm孔径的滤器过滤,3 000 r/min离心10 min,弃上清液,PBS重悬洗涤沉淀物并离心,重复2次,获得纯化的速殖子。

### 9.5.2 固定

用6%甲醛溶液将新鲜释放纯化的弓形虫速殖子重悬,4℃过夜(至少16 h)。

### 9.5.3 洗涤

2 500 r/min离心10 min,弃上清液,5 mL PBS重悬沉淀,再离心,重复3次,充分洗涤,除去甲醛。

### 9.5.4 保存

以 $2 \times 10^7$ 个/mL的浓度将虫体重悬于碱性缓冲液,置于4℃低温保存,作为稳定的抗原备用液。

### 9.5.5 样品稀释

用微量加液器在U型96孔板上每组的第1孔中加入92 μL抗体稀释液,其余各组加入50 μL抗体稀释液。分别取8 μL待检血清加入每组的第1孔(1:12.5),充分混匀后取出50 μL置入第2孔进行混匀,依次到最后一孔,取出50 μL弃掉。

9.5.6 每孔加入50 μL虫体悬液,充分吹打混匀,保鲜膜封口,37℃恒温箱静置16 h后观察结果。

## 9.6 质控标准

在阳性对照血清滴度不低于1:200(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。

## 9.7 结果判定

按附录D进行判定。

“+”:25%~100%弓形虫速殖子在孔壁下部呈均质的膜样或者絮状凝集,边缘整齐,致密,不凝集的虫体在孔底中央集中成圆点。

“+/-”:<25%的弓形虫速殖子在孔底凝集,其余不凝集的虫体在孔底中央集中成大的圆点。



“—”:所有的虫体孔底沉淀呈圆点状,边缘光滑,轮廓清晰,无分散凝集。

在标准阳性血清抗体滴度不低于1:100的条件下,被检血清滴度达到1:25即判为阳性。

## 10 间接免疫荧光抗体试验(IFAT)

### 10.1 仪器设备与耗材

10.1.1 恒温箱。

10.1.2 台式离心机。

10.1.3 荧光显微镜。

10.1.4 真空抽液器。

10.1.5 微量移液器及吸头。

10.1.6 10孔载玻片及盖玻片。

### 10.2 试剂

10.2.1 抗体稀释液(含3% BSA的PBS)。

10.2.2 PBS(pH 7.2)。

10.2.3 甲醇。

10.2.4 DAPI。

10.2.5 FITC标记二抗。

10.2.6 FITC conjugated protein A/G。

10.2.7 抗荧光淬灭剂。

10.2.8 封片剂。

10.2.9 BSA。

### 10.3 样品的采集、运输和保存

同9.3。

### 10.4 质控血清的制备

同9.4。

### 10.5 操作方法

#### 10.5.1 抗原备用液

用6%甲醛溶液将新鲜释放纯化的弓形虫速殖子(RH株)重悬,调整至 $2 \times 10^7$ 个/mL,4℃过夜并保存,作为抗原备用液。

#### 10.5.2 固定

将虫体悬液滴加于10孔载玻片上,每孔20 μL,自然干燥后每孔滴加预冷的甲醇50 μL固定虫体,自然干燥。

#### 10.5.3 洗涤

每孔滴加PBS 50 μL,静置10 min,吸去液体,反复2次。

#### 10.5.4 封闭

每孔滴加含3% BSA的PBS封闭液50 μL,37℃恒温箱孵育30 min。

#### 10.5.5 加样

将待检血清用抗体稀释液做1:50稀释,每孔滴加50 μL,同时设阴性血清对照和阳性血清对照,37℃恒温箱孵育30 min。

#### 10.5.6 洗涤

每孔滴加PBS 50 μL,静置10 min,吸去液体,重复2次。

#### 10.5.7 二抗

抗体稀释液稀释 FITC 标记的 IgG 二抗(或 FITC conjugated protein A/G)和 DAPI,每孔滴加 50  $\mu\text{L}$ ,37  $^{\circ}\text{C}$  避光孵育 30 min。

#### 10.5.8 洗涤

每孔滴加 PBS 50  $\mu\text{L}$ ,静置 10 min,吸去液体,反复 3 次,操作过程避光。

#### 10.5.9 封片

每孔滴加抗荧光淬灭剂,覆盖盖玻片,并用封片剂将盖玻片边缘封闭,于避光处保存。

#### 10.5.10 观察

将玻片置于荧光显微镜下观察,在 488 nm 激发光(绿色荧光)、360 nm 激发光下(蓝色荧光)观察。在 40 倍物镜下可观察到发光的速殖子,100 倍油镜下可观察到形态清晰的虫体。

#### 10.6 质控标准

阳性对照在荧光显微镜下观察到明显绿色的形态完整的弓形虫以及蓝色的弓形虫细胞核;阴性对照在荧光显微镜下观察到发蓝色荧光的弓形虫细胞核,但无法观察到绿色的形态完整的弓形虫。否则,应重做。

#### 10.7 结果判定

按附录 E 进行判定。

“+”:荧光显微镜下观察到明显发绿色荧光的形态完整的弓形虫。

“-”:荧光显微镜下观察不到发绿色荧光的弓形虫,仅看到虫体细胞核呈蓝色荧光。

#### 11 综合判定

动物表现出的临床症状(5.1)和病理变化(5.2)不能单独作为弓形虫病诊断的依据,必须配合病原学诊断或血清学诊断。

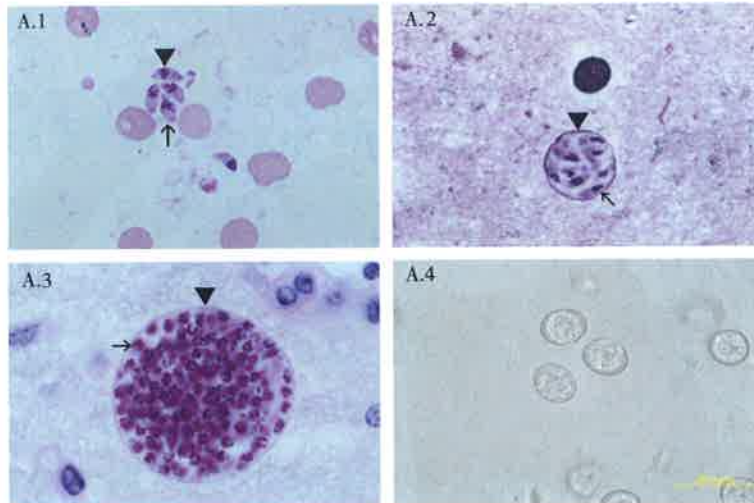
病原检测阳性,即直接镜检阳性(6.4)、小鼠接种结果阳性(7.5)或 PCR 结果阳性(8.6),3 种检测方法中 1 种为阳性即表明动物被弓形虫感染,为弓形虫阳性动物。

抗体检测阳性,即 MAT 结果阳性(9.7)或 IFAT 结果阳性(10.7)均表明动物感染过弓形虫,为弓形虫抗体阳性动物。



附录 A  
(资料性)  
弓形虫各阶段虫体形态

弓形虫各阶段虫体形态见图 A. 1。



标引序号说明：

- A. 1——姬姆萨液染色的弓形虫速殖子；
- A. 2——组织抹片中的弓形虫包囊，三角所指为包囊壁，箭头所指为缓殖子；
- A. 3——组织切片中的弓形虫包囊，三角所指为包囊壁，箭头所指为缓殖子；
- A. 4——猫粪便中弓形虫未孢子化的卵囊，标尺为 20.0  $\mu\text{m}$ 。

图片引自 Louis M. Weiss and Kami Kim. *Toxoplasma gondii*-The Model Apicomplexan, Perspectives and Methods. Second edition. 2014 Elsevier Ltd., Chapter 1.

图 A. 1 弓形虫各阶段虫体形态

**附录 B**  
**(规范性)**  
**试剂配制方法**

**B.1 姬姆萨染色液****B.1.1 成分**

姬姆萨染料 0.5 g, 甘油(中性) 25 mL, 甲醇 25 mL。

**B.1.2 制法**

将姬姆萨染料放入研钵中, 加少量甘油充分研磨后, 倒入全部甘油, 置于 55 °C~60 °C 水浴中加热 2 h, 其间不断摇动混匀。冷却至室温后加入甲醇, 将配制好的染液密封保存于棕色瓶内, 室温静置 6 个月, 过滤备用。使用时, 在 1 份姬姆萨染色液中加入 19 份新制备的蒸馏水或 pH 7.2 的 PBS(B.2) 中, 配成工作液。

**B.2 PBS(pH 7.2, 0.01 mol/L) 缓冲液**

NaCl 8.5 g, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.1 g, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O 0.3 g, 加蒸馏水至 1 000 mL 溶解。

**B.3 PCR 溶液的配制****B.3.1 0.5 mol/L EDTA(pH 8.0)**

EDTA 186.1 g, 蒸馏水 800 mL, NaOH 调至 pH 8.0, 定容至 1 L, 室温储存。

**B.3.2 电泳缓冲液(TAE)**

50×TAE 缓冲液: Tris-Base 121.4 g, 冰醋酸 28.6 mL, 0.5 mol/L EDTA(pH 8.0) 50 mL, 蒸馏水定容至 500 mL, 室温保存。

1×TAE 工作液: 50×TAE 缓冲液 10 mL, 加蒸馏水 490 mL, 即为 1×TAE 工作液。

**B.3.3 1% 琼脂糖凝胶**

琼脂糖 1 g, 加入 1×TAE 缓冲液 100 mL, 加热融化, 待冷却至 50 °C~60 °C 时加入核酸染料 Gold-view 8 μL, 混匀后倒入制胶板中。

**B.4 MAT 溶液配制****B.4.1 6% 甲醛溶液**

15 mL 甲醛分析纯溶液(40%)加入 85 mL 蒸馏水中混匀。

**B.4.2 碱性缓冲液**

NaCl 7.01 g, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 3.09 g, NaN<sub>3</sub> 2.0 g, BSA 4.0 g, 用 1 mol/L NaOH, 调节 pH 至 8.95, 蒸馏水定容至 1 000 mL。室温保存。

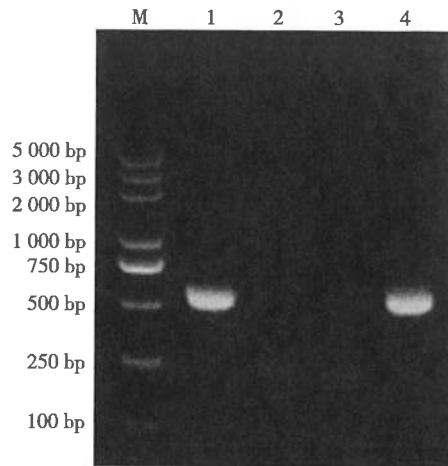
**B.4.3 MAT 抗体稀释液**

碱性缓冲液 8.86 mL, 伊文思蓝(2 mg/mL) 200 μL, 2-巯基乙醇 140 μL, 0.2% NaN<sub>3</sub>, 4 °C 保存。

附录 C  
(规范性)

弓形虫 PCR 检测结果判定图

弓形虫 PCR 检测结果按图 C.1 判定。



标引序号说明：

M——DL5000 Marker；

1 ——弓形虫特异性引物扩增阳性对照的条带；

2 ——弓形虫特异性引物扩增阴性对照的条带；

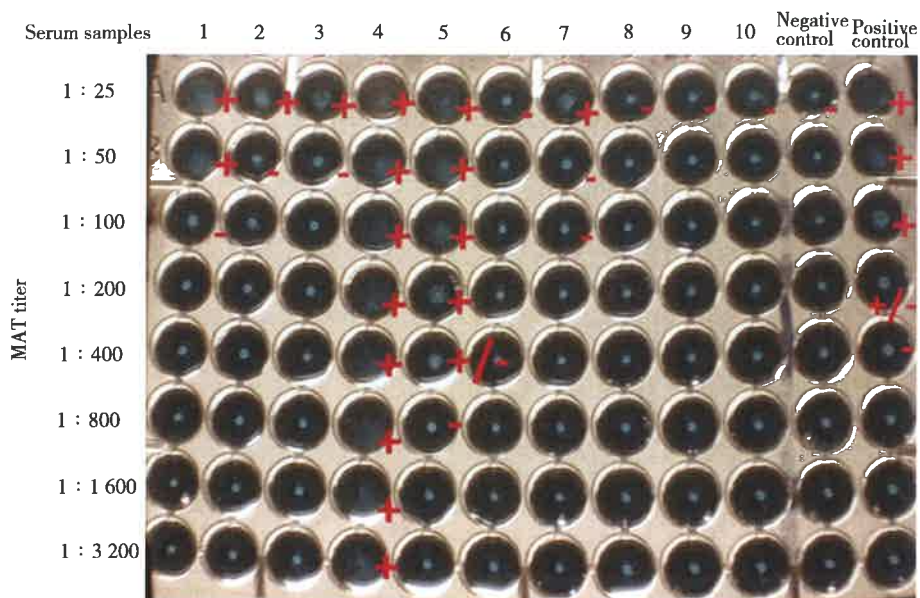
3 ——弓形虫特异性引物扩增的阴性条带；

4 ——弓形虫特异性引物扩增的阳性条带。

图 C.1 弓形虫 PCR 检测结果判定图

附录 D  
(规范性)  
弓形虫 MAT 检测结果判定图

弓形虫 MAT 检测结果按图 D.1 判定。



标引序号说明：

+——弓形虫速殖子在孔壁下部呈膜样凝集，不凝集的虫体在孔底中央集中成圆点；

———所有的虫体孔底沉淀呈圆点状，边缘光滑，轮廓清晰，无分散凝集；

+/-——孔底有少量凝集物，无法清晰看到孔底；

1、2、3、4、5、7——判定为弓形虫血清抗体阳性；

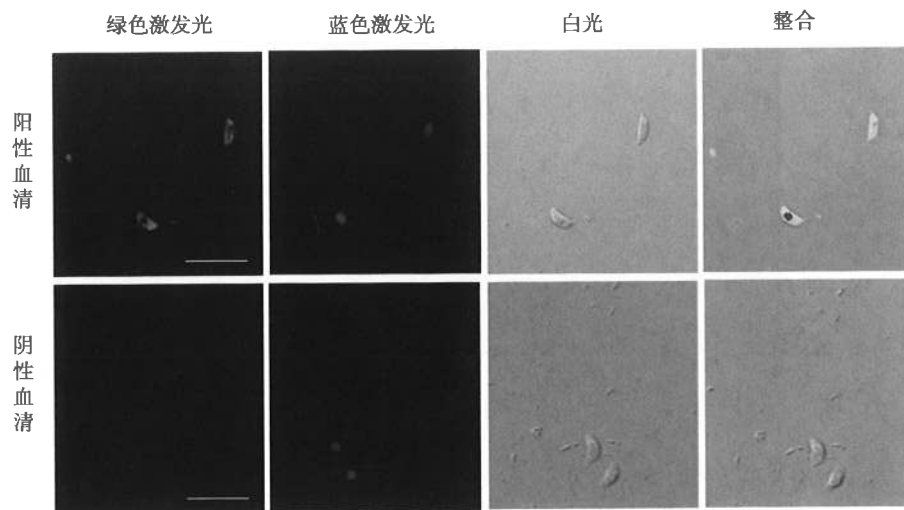
6、8、9、10——判定为弓形虫血清抗体阴性。

图片引自 Su C, Dubey J P. Isolation and genotyping of *Toxoplasma gondii* strains. *Methods Mol Biol.* 2020; 2071:49-80. doi:10.1007/978-1-4939-9857-9\_3.

图 D.1 弓形虫 MAT 检测结果判定图

附录 E  
(规范性)  
弓形虫 IFAT 检测结果判定图

弓形虫 IFAT 检测结果按图 E.1 判定。



注：  
阳性结果：在虫体周围出现明亮的、不间断的外周绿色荧光，  
阴性结果：虫体周围观察不到绿色荧光，但细胞核发蓝色荧光。  
标尺为 10  $\mu\text{m}$ 。

图 E.1 弓形虫 IFAT 检测结果判定图

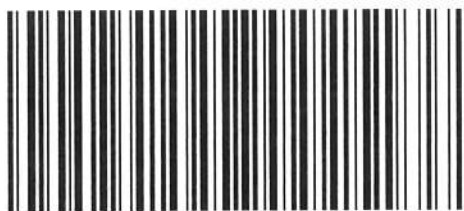
中华人民共和国  
农业行业标准  
动物弓形虫病诊断技术  
NY/T 573—2022

\* \* \*

中国农业出版社出版  
(北京市朝阳区麦子店街18号楼)  
(邮政编码:100125 网址:www.ccap.com.cn)  
北京科印技术咨询有限公司印刷  
新华书店北京发行所发行 各地新华书店经销

\* \* \*

开本 880mm×1230mm 1/16 印张 1.25 字数 25千字  
2022年8月第1版 2022年8月北京第1次印刷  
书号: 16109·9042  
定价: 44.00元



NY/T 573—2022

版权专有 侵权必究  
举报电话: (010) 59194261