



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 18448.2—2008  
代替 GB/T 18448.2—2001

## 实验动物 弓形虫检测方法

Laboratory animal—Method for examination of *Toxoplasma gondii*

2008-12-03 发布

2009-03-01 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 18448《实验动物》由 10 项实验动物寄生虫检测方法组成。

本部分为 GB/T 18448 的第 2 部分《实验动物 弓形虫检测方法》。

本部分自实施之日起代替 GB/T 18448.2—2001。

本部分与 GB/T 18448.2—2001 相比主要技术差异如下：

- a) 增加弓形虫酶联免疫吸附试验(ELISA)和免疫酶染色试验(IEA),将 PCR 检测方法列入附录内容,保留间接血凝试验(IHA)作为推荐方法之一;
- b) 将检测方法所需的“材料与试剂”和“检测步骤”分别叙述。

本部分附录 A 是规范性附录。

本部分由全国实验动物标准化技术委员会提出并归口。

本部分起草单位:全国实验动物标准化技术委员会。

本部分主要起草人:潘振业、屈霞琴、陈俏梅、李冠民、王彦平。

本部分所代替标准的历次版本发布情况为:

——GB/T 14926.34—1994,GB/T 18448.2—2001。

## 实验动物 弓形虫检测方法

### 1 范围

GB/T 18448 的本部分规定了实验动物弓形虫的检测方法和试剂等。

本部分适用于小鼠、大鼠、地鼠、豚鼠、兔、犬及猴等实验动物弓形虫的检测。

### 2 原理

根据免疫学原理,采用弓形虫抗原检测被检动物血清中的弓形虫抗体。

### 3 主要试剂和器材

#### 3.1 试剂

##### 3.1.1 ELISA 抗原

##### 3.1.1.1 特异性抗原

弓形虫(RH 株)速殖子腹腔接种清洁级以上实验小鼠(KM、ICR、BALB/c 等均可),3 d~5 d 后,以无菌生理盐水灌洗被接种小鼠的腹腔,收集含有虫体的小鼠腹腔液,3 000 r/min 离心 10 min,取沉淀,PBS 洗 3 次。沉淀物加适量蒸馏水反复冻融 5 次,或用超声波处理后,10 000 r/min 离心 30 min,取上清液。上清液用葡聚糖凝胶 G200 进行纯化(柱内径×柱高:1.5 cm×60 cm),流速为 0.2 mL/min。每管收集 2 mL 左右。共收集 60 管以上。分别测定每个收集管中蛋白在 280 nm 下的吸光度值。分离纯化后,出现 2 个蛋白峰;将第一峰各管合并,即为弓形虫特异性抗原(也称弓形虫可溶性抗原)。

##### 3.1.1.2 正常抗原

以无菌生理盐水注射清洁级以上实验小鼠(与制备抗原的小鼠同品种或品系)腹腔,3 d~5 d 后,以无菌生理盐水灌洗被注射小鼠腹腔,收集小鼠腹腔液,3 000 r/min 离心 10 min,取沉淀,PBS 洗 3 次。沉淀物加适量蒸馏水反复冻融 5 次,或用超声波处理后,10 000 r/min 离心 30 min,取上清液,即为正常抗原。

##### 3.1.2 抗原片

弓形虫 RH 株速殖子腹腔接种清洁级以上实验小鼠(KM、ICR、BALB/c 等均可),3 d~5 d 后处死,收取虫体,胰酶消化,以一定浓度涂片,充分晾干后冷丙酮固定,-20 ℃ 保存。

##### 3.1.3 弓形虫抗原致敏绵羊红细胞

将绵羊红细胞与一定浓度的鞣酸液反应,制成鞣化红细胞,然后,用弓形虫可溶性抗原在适宜的条件下致敏鞣化红细胞,制成弓形虫抗原致敏绵羊红细胞。

##### 3.1.4 正常对照绵羊红细胞。

##### 3.1.5 阳性对照血清

自然感染弓形虫的相应动物抗体阳性血清,或弓形虫免疫血清。

##### 3.1.6 阴性对照血清

确证无弓形虫感染的动物血清。

##### 3.1.7 酶结合物

辣根过氧化物酶标记的抗小鼠、大鼠、地鼠、豚鼠、兔、犬和猴 IgG 抗体;或辣根过氧化物酶标记葡萄球菌蛋白 A(SPA)。

##### 3.1.8 荧光素结合物

异硫氰酸荧光素标记的抗小鼠、大鼠、地鼠、豚鼠、兔、犬和猴 IgG 抗体。