



# 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 3903—2014

---

## 进境牛、羊包虫病检疫技术规范

Quarantine protocol for echinococcosis of entry cattle, sheep and goats

2014-04-09 发布

2014-11-01 实施

---

中 华 人 民 共 和 国  
国家质量监督检验检疫总局 发 布

## 前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准修改采用国际动物卫生组织(OIE)编写的《陆生动物疾病诊断手册》(2010 版)中 2.01.04 Echinococcosis /Hydatidosis 中牛羊包虫病部分的有关内容制定而成。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位:中国检验检疫科学研究院、青海出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:吴绍强、王彩霞、赵青、林祥梅、刘建、邓俊花。

# 进境牛、羊包虫病检疫技术规范

## 1 范围

本标准规定了进境牛、羊包虫病检疫时的形态学鉴定、组织病理学鉴定、ELISA 检测以及 PCR 检测的技术规范。

本标准适用于进境牛、羊等动物及其产品中包虫(即细粒棘球蚴)的检疫。

## 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。

SN/T 1193 基因检验实验室技术要求

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**过碘酸希夫反应** periodic-acid-Schiff reaction; PAS

糖被强氧化剂过碘酸氧化后,形成多醛。多醛再与无色的品红硫酸复合物(即希夫试剂)结合,形成紫红色产物。在结缔组织中出现 PAS 阳性的无细胞堆积层即为棘球蚴。

## 4 临床诊断

牛羊在轻度感染及感染初期通常无明显症状,严重感染时表现被毛逆立,消瘦,发育不良。寄生肺部时有明显咳嗽,寄生在肝脏可引起消化不良等症状。但一般临床症状不明显。

## 5 实验室检测

### 5.1 组织病理学鉴定

#### 5.1.1 剖检

细粒棘球蚴主要寄生于牛或羊的肝、肺等部位,用手触诊或者剖开组织时可发现包囊。如在囊内或育囊中发现原头蚴即可确诊为棘球蚴。如结构不清,可进一步采用过碘酸希夫反应(PAS)进行确诊。

#### 5.1.2 形态学检查

细粒棘球蚴为包囊状构造,直径 5 cm~10 cm,最大可达 30 cm,囊内充满淡黄色液体,可生成内源性子囊以及原头蚴。原头蚴顶突上有两排小钩,钩的大小不同,第一排长 22  $\mu\text{m}$ ~45  $\mu\text{m}$ ,第二排长 18  $\mu\text{m}$ ~38  $\mu\text{m}$ (参见附录 A)。

检获的可疑包囊组织用 4%甲醛固定,并采用过碘酸希夫反应进行确诊。

### 5.1.3 过碘酸希夫反应(PAS)

#### 5.1.3.1 主要试剂与设备

5.1.3.1.1 高碘酸溶液:配制方法见附录 B 中 B.1。

5.1.3.1.2 1%淀粉糖化酶溶液:配制方法见 B.1。

5.1.3.1.3 Schiff 溶液:配制方法见 B.1。

5.1.3.1.4 亚硫酸氢盐溶液:配制方法见 B.1。

5.1.3.1.5 Harris 苏木素染液:配制方法见 B.1。

5.1.3.1.6 切片机。

5.1.3.1.7 光学显微镜。

#### 5.1.3.2 试验步骤

5.1.3.2.1 切取经过 4%甲醛固定的可疑包囊  $1\text{ cm}^3 \sim 3\text{ cm}^3$ ,用水冲洗后,用浓度分别为 35%、50%、70%、85%、95%、100%的梯度乙醇逐步脱水,根据包囊的大小调整每一步所需的时间(1 h~3 h),每一步至少 1 h,100%乙醇需要两次。

5.1.3.2.2 经 50%无水乙醇+50%二甲苯至少 30 min 后,再用二甲苯透明两次,每次至少 30 min。

5.1.3.2.3 经 50%二甲苯+50%石蜡至少 30 min 后,再用石蜡浸泡两次,每次至少 30 min。

5.1.3.2.4 用石蜡包埋,切片,切片厚度约  $4\text{ }\mu\text{m} \sim 6\text{ }\mu\text{m}$ ,用粘片剂固定于洁净的载玻片上烘干。

5.1.3.2.5 用二甲苯脱蜡 10 min,再用 50%无水乙醇+50%二甲苯浸泡 5 min,然后用浓度分别为 100%、95%、85%、70%、50%、35%的梯度乙醇逐步复水。每步约 3 min~5 min,最后置蒸馏水中。

5.1.3.2.6 试验应设立肝、肺等未感染正常组织对照:待检组织切片用高碘酸溶液处理 2 min~5 min,用蒸馏水充分漂洗;正常组织切片则用 1%淀粉糖化酶 37℃消化 1 h,再用蒸馏水漂洗。

5.1.3.2.7 室温, Schiff 试剂作用 15 min。

5.1.3.2.8 用亚硫酸氢盐溶液浸 3 次,每次 2 min。然后流水冲 5 min,再用蒸馏水漂洗 1 min。

5.1.3.2.9 用 Harris 苏木素染液复染 10 min~15 min,然后流水冲 5 min,再用蒸馏水漂洗 1 min。

5.1.3.2.10 用浓度分别为 70%、85%、95%、100%的梯度乙醇逐步脱水,再按 5.1.3.2.2 透明,每步约 5 min~10 min。

5.1.3.2.11 用中性树脂封片。

#### 5.1.3.3 结果判断

用光学显微镜观察,当待检组织的胚芽层膜的非细胞堆积层呈紫红色,即 PAS 阳性反应,经消化的对照组织切片相应部位为 PAS 阴性反应,即可判定为棘球蚴感染。

### 5.2 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测

#### 5.2.1 主要试剂与设备

5.2.1.1 包被液:磷酸盐缓冲液,配制方法见 B.2。

5.2.1.2 洗涤液:0.01 mol/L PBST,配制方法见 B.2。

5.2.1.3 稀释液:含 1%的牛血清白蛋白(BSA),配制方法见 B.2。

5.2.1.4 封闭液:含 1% BSA,配制方法见 B.2。

5.2.1.5 底物溶液:0.05 mol/L pH 5.0 磷酸-柠檬酸,配制方法见 B.2。

5.2.1.6 TMB 使用液:配制方法见 B.2。

5.2.1.7 终止液:配制方法见 B.2。

5.2.1.8 标准抗原和阴阳性血清:牛、羊细粒棘球蚴阳性抗原以及阳性血清、阴性血清,其制备过程见附录 C。

5.2.1.9 抗体:辣根过氧化物酶标兔抗羊抗体和辣根过氧化物酶标兔抗牛抗体,其制备过程见附录 C。

5.2.1.10 酶标仪。

## 5.2.2 试验步骤

5.2.2.1 以包被液稀释包虫标准抗原至  $2.5\ \mu\text{g/mL}$ ,每孔  $100\ \mu\text{L}$  包被 96 孔 ELISA 板,  $4\ ^\circ\text{C}$  过夜。

5.2.2.2 去除包被液,用  $300\ \mu\text{L}$  PBST 洗涤 5 次,每次洗涤 10 min,拍干。每孔加入  $300\ \mu\text{L}$  封闭液,室温孵育 1 h。

5.2.2.3 弃掉封闭液, $300\ \mu\text{L}$  PBST 洗涤 5 次,每次洗涤 10 min,拍干。每孔加入  $100\ \mu\text{L}$  用稀释液  $1:10$  稀释的受检牛(羊)血清(受检血清的制备方法见附录 C),同时设阳性对照和阴性对照以及复孔(即每个样品设置两个孔),室温孵育 1 h。

5.2.2.4 用  $300\ \mu\text{L}$  PBST 洗涤 5 次,每次 10 min,拍干。每孔加入  $100\ \mu\text{L}$  用稀释液以  $1:2\ 000$  稀释过的辣根过氧化物酶标兔抗牛(羊)IgG 多克隆抗体,室温孵育 1 h。

5.2.2.5 用 PBST 洗涤 5 次,每次洗涤 10 min,拍干。每孔加入  $100\ \mu\text{L}$  TMB,室温避光孵育 15 min。

5.2.2.6 每孔加入  $100\ \mu\text{L}$   $1\ \text{mol/L}$  的  $\text{H}_2\text{SO}_4$  终止显色反应,如果是阳性,颜色由蓝色变为黄色,10 min 内在  $490\ \text{nm}$  波长下读取每孔的吸光值。

## 5.2.3 结果判定

### 5.2.3.1 实验成立判定

阴性与阳性的临界阈值为标准阴性孔平均 OD 值  $\pm 3s$  ( $s$  计算方法见附录 D),当标准阳性血清大于标准阴性孔平均 OD 值  $+3s$  时,判定试验成立;否则试验无效,应分析试验失败原因,并重新试验。

### 5.2.3.2 结果判定

样品 OD 值大于标准阴性孔平均 OD 值  $+3s$  时为阳性;小于标准阴性孔平均 OD 值  $-3s$  时为阴性。

当样品 OD 值介于(标准阴性孔平均 OD 值  $-3s$ )和(标准阴性孔平均 OD 值  $+3s$ )为可疑,可疑样品应重检一次,重检后的 OD 值大于标准阴性孔平均 OD 值  $+3s$  判为阳性,小于标准阴性孔平均 OD 值  $-3s$  判为阴性;重检仍为可疑者判为阳性。

对于 ELISA 检测阳性动物,应结合剖检进行形态学鉴定或者 PAS 反应或者采样进行 PCR 才能确诊。

## 5.3 聚合酶链式反应(PCR)检测

### 5.3.1 主要试剂与设备

5.3.1.1 DNA 抽提所需要的相关试剂见附录 E。

5.3.1.2 引物:

a) 针对羊源细粒棘球蚴线粒体基因  $12\ \text{s rRNA}$ :

Eg1f:  $5'-\text{CATTAATGTATTTTGTAAGTTG}-3'$

Eg1r:  $5'-\text{CACATCATCTTACAATAACACC}-3'$

预期片段长度为  $255\ \text{bp}$ (参见附录 F 中 F.1)。

b) 针对细粒棘球蚴基因组重复序列:

Eg1121a:  $5'-\text{GAATGCAAGCAGCAGATG}-3'$

## SN/T 3903—2014

Eg1122a;5'-GAGATGAGTGAGAAGGAGTG-3'

预期片段长度为 133 bp(参见 F.2)。

c) 根据细粒棘球蚴的线粒体 DNA:

EgO/DNA-IM1F;5'-TCATATTTGTTTGAGKATYAGTKC-3'

EgO/DNA-IM1R;5'-GTAAATAAAMACTATAAAAGAAAYMAC-3'

预期扩增片段长度为 285 bp(参见 F.3)。

引物合成后采用灭菌双蒸水均稀释为 10  $\mu\text{mol/L}$ 。

5.3.1.3 电泳缓冲液:配制方法见 B.3.1。

5.3.1.4 PCR 仪。

5.3.1.5 电泳仪。

5.3.1.6 凝胶成像仪。

5.3.1.7 高速冷冻离心机。

5.3.1.8 高压灭菌锅。

5.3.1.9  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱、 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 普通冰箱和  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱。

### 5.3.2 DNA 的提取

按照附录 E,或采用商品化 DNA 提取试剂盒提取待检组织 DNA。实验室具体操作需要符合 SN/T 1193 的相关要求。

### 5.3.3 PCR 反应体系

3 个基因的 PCR 扩增反应同时进行,分别配制各自的反应体系,反应体系中除引物外,其余成分均相同,具体配制如下:

在 PCR 管内,加入  $10\times\text{PCR}$  缓冲液( $\text{Mg}^{+}$ )  $2.5\text{ }\mu\text{L}$ ,  $10\text{ }\mu\text{mol/L}$  上下游引物各  $0.1\text{ }\mu\text{L}$ ,  $10\text{ mmol/L}$  dNTPs  $2\text{ }\mu\text{L}$ ,  $5\text{ U}/\mu\text{L}$  *Taq* DNA 聚合酶  $0.5\text{ }\mu\text{L}$ ,模板 DNA  $2\text{ }\mu\text{L}$ ,补充灭菌双蒸水至  $25\text{ }\mu\text{L}$ 。

### 5.3.4 PCR 扩增

#### 5.3.4.1 针对羊源细粒棘球蚴线粒体基因 12 s rRNA

$94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性  $5\text{ min}$ ;之后  $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性  $30\text{ s}$ ,  $53\text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火  $30\text{ s}$ ,  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸  $45\text{ s}$ ,共 40 个循环;最后  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 补充延伸  $10\text{ min}$ 。

#### 5.3.4.2 针对细粒棘球蚴基因组重复序列

$94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性  $15\text{ min}$ ;之后  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性  $1\text{ min}$ ,  $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火  $1\text{ min}$ ,  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸  $1\text{ min}$ ,共 40 个循环;最后  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸  $10\text{ min}$ 。

#### 5.3.4.3 针对细粒棘球蚴的线粒体 DNA

$95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性  $15\text{ min}$ ;之后  $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性  $1\text{ min}$ ,  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火  $1\text{ min}$ ,  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸  $1\text{ min}$ ,共 40 个循环;最后  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸  $10\text{ min}$ 。

### 5.3.5 琼脂糖电泳

取  $5\text{ }\mu\text{L}$  PCR 扩增产物,进行  $1\%\sim 2\%$ 的琼脂糖凝胶电泳,电泳结束后,用凝胶成像仪或者紫外透射仪观察结果。

### 5.3.6 结果判定

若检测样品有 285 bp 或者 133 bp 的条带,则判定为细粒棘球蚴虫 PCR 检测阳性,若检测样品还有 255 bp 的条带,可进一步判定为羊源细粒棘球蚴虫 PCR 检测阳性,若检测样品无 285 bp 和 133 bp 的条带,则判定样品细粒棘球蚴虫 PCR 检测结果阴性。

## 6 综合判定

6.1 对进境动物应推荐采用 ELISA 方法进行初判,ELISA 阳性动物应结合临床症状进行判定,并利用组织病理学或 PCR 方法进行确诊。

6.2 进行剖检时,在肝、肺等部位发现特定包囊即可确诊。如形态可疑,则可采用 PAS 反应或 PCR 方法复核。

6.3 对于牛羊等的动物产品采用组织病理学方法或 PCR 方法进行确诊。



SN/T 3903—2014

附 录 A  
(资料性附录)  
细粒棘球蚴模式图

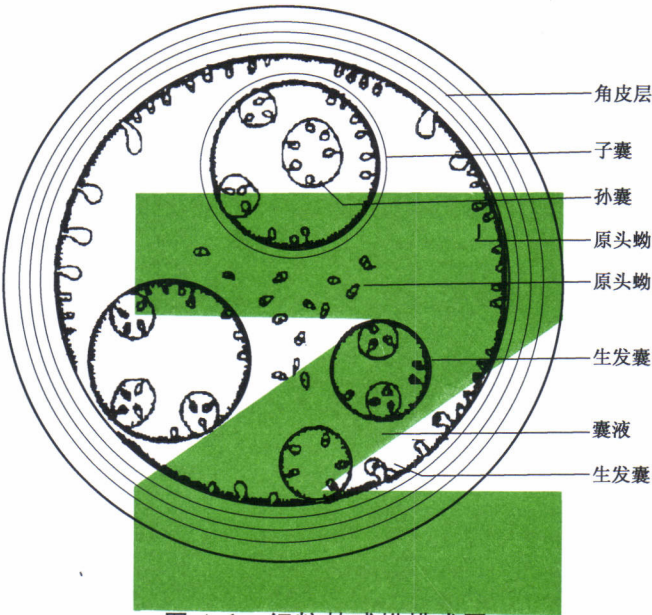


图 A.1 细粒棘球蚴模式图





附 录 B  
(规范性附录)

过碘酸希夫反应、ELISA 及 PCR 相关溶液配制

B.1 过碘酸希夫反应相关试剂

B.1.1 高碘酸溶液

将 2 g 高碘酸溶于 200 mL 蒸馏水中。

B.1.2 1%淀粉糖化酶溶液

将 1 g 淀粉糖化酶溶于 100 mL 蒸馏水中。

B.1.3 Schiff 试剂

碱性品红	1.0 g
NaHSO <sub>3</sub>	2.0 g
活性炭	1.0 g
1 mol/L HCl	20 mL

烧杯内加入 200 mL 蒸馏水,煮沸,将碱性品红慢慢加入沸水中,边加入边搅拌,至完全溶解。待温度降至 60 ℃~70 ℃时过滤至锥形瓶中,加入 HCl 摇匀,再加入 NaHSO<sub>3</sub>,塞紧瓶口,摇荡至完全溶解,用黑纸将瓶包严置于暗处过夜。次日加入活性炭,摇匀后迅速过滤于棕色瓶内,保存于 4 ℃冰箱中。

B.1.4 亚硫酸氢盐溶液

10% 偏重亚硫酸钠(Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	50 mL
1 mol/L HCl	50 mL
在 900 mL 蒸馏水中加入偏重亚硫酸钠溶液,再加入盐酸,混匀。	

B.1.5 Harris 苏木素染液

苏木素	1.0 g
明矾[KAl(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> · 12H <sub>2</sub> O]	20.0 g
氧化汞	0.5 g
冰醋酸	10 mL
无水乙醇	10 mL

B.2 ELISA 相关试剂

B.2.1 磷酸盐缓冲液(PBS,PH 7.4)

NaCl	8.0 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.2 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 12H <sub>2</sub> O	5.37 g
KCl	0.2 g

加蒸馏水至 1 000 mL

#### B.2.2 包被缓冲液(pH 9.6, 0.1 mol/L 碳酸盐缓冲液)

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 3.18 g  
NaHCO<sub>3</sub> 5.86 g  
加蒸馏水至 1 000 mL

#### B.2.3 洗涤缓冲液(pH 7.4, 0.01 mol/L PBST, 含 0.05% Tween-20)

Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · 12H<sub>2</sub>O 2.91 g  
NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O 0.30 g  
NaCl 8.50 g  
吐温-20 0.5 mL  
加蒸馏水至 1 000 mL

#### B.2.4 封闭液

牛血清白蛋白(BSA) 1 g 溶于 100 mL PBS 中。

#### B.2.5 稀释液

牛血清白蛋白(BSA) 1 g  
加洗涤缓冲液至 100 mL

#### B.2.6 底物缓冲液(0.05 mol/L, pH 5.0 磷酸-柠檬酸)

0.2 mol/L Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (28.4 g/L) 25.7 mL  
0.1 mol/L 柠檬酸 (19.2 g/L) 24.3 mL  
加蒸馏水至 100 mL

#### B.2.7 TMB 使用液

TMB(10 mg/mL, 溶解于二甲基甲酰胺 DMF) 150 μL  
底物缓冲液 10 mL  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 6 μL

#### B.2.8 终止液(1 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)

在 578.3 mL 蒸馏水中, 逐滴加入浓硫酸(98%) 217.7 mL。

### B.3 PCR 相关溶液

50 倍 TAE 电泳浓缩缓冲液: 取 Tris 碱 242 g、冰醋酸 57.1 mL、0.5 mol/L EDTA 10 mL、用 5 mol/L 的 HCl 调制 pH 8.0, 定容至 1 000 mL。用前采用蒸馏水稀释 50 倍即可。

## 附 录 C

### (规范性附录)

#### PAS 反应中抗原和抗体的制备

##### C.1 抗原的制备

用灭菌注射器从寄生于羊或牛肝脏和肺脏的棘球蚴包囊抽取新鲜包囊液,离心除去原头蚴和其他棘球砂,取上清液,装入透析袋,用 PEG20000 浓缩 5 倍~10 倍后通过 SephadexG-200 柱,以 0.02 mol/L pH 8 的 PBS(含 1 mol/L NaCl)洗脱,于  $\lambda$  值 210 nm 处检测收集第一峰,即得纯化包虫抗原。

##### C.2 血清的制备

无菌采集患畜(或健康牛/羊)血液盛于离心管或可以离心的器皿中(不加抗凝剂),静置或置 37 °C 环境中促其凝固,待血液凝固后,离心(一般为 3 000 r/min,离心 5 min~10 min),得到的上清液即为血清,可小心将上清液吸出(注意切勿吸出细胞成分),分装备用。

##### C.3 酶标二抗的制备

采集健康羊和牛血液,分离血清,用 QAE-Sephadex A-50 离子交换剂分离 IgG,添加福氏完全佐剂用两个玻璃注射器(中间用胶皮管连接)来回推动乳化后免疫家兔,制备兔抗羊 IgG 和兔抗牛 IgG 的血清,仍以 QAE-Sephadex A-50 分离 IgG,制得第二抗体,即兔抗羊 IgG 的 IgG 和兔抗牛 IgG 的 IgG。

用过碘酸盐法将辣根过氧化物酶与兔抗羊 IgG 或兔抗牛 IgG 联结,制得酶标第二抗体,加甘油至 30%,4 °C 保存。

## 附录 D

(规范性附录)

## ELISA 检测中标准差的计算

假设有一组数值  $x_1, x_2, \dots, x_n$  (皆为实数), 其平均值为:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad \dots\dots\dots (D.1)$$

此组数值的标准差为:

$$s = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad \dots\dots\dots (D.2)$$

一个较快求解的公式为:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n x_i^2}{n} - \left( \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \right)^2} = \sqrt{\frac{n \sum_{i=1}^n x_i^2 - \left( \sum_{i=1}^n x_i \right)^2}{n^2}} \quad \dots\dots\dots (D.3)$$

## 附 录 E

(规范性附录)

## 棘球蚴可疑病料样品 DNA 的提取

E.1 用灭菌注射器从寄生于羊或牛肝脏和肺脏的棘球蚴包裹抽取新鲜包裹液,4℃,5 000 r/min 离心 5 min,取沉淀,置于匀浆研磨器中并加入冷的灭菌 PBS,进行手工匀浆研磨。注意整个过程在冰上完成。

E.2 将匀浆液(E.1)倒入 2 mL 塑料离心管中,加 20 μL 蛋白酶 K,再加 SDS 至终浓度为 1%,上下颠倒混匀。

E.3 混合液置于 55℃水浴,水浴 2.5 h。

E.4 向匀浆液中按 1:1 比例加入酚/三氯甲烷/异戊醇混合液(25:24:1),轻轻振荡混匀 5 min,12 000 r/min 离心 5 min。

E.5 吸上层水相 800 μL 于一灭菌塑料离心管中,加入等体积三氯甲烷/异戊醇混合液(24:1),轻轻振荡混匀 5 min,12 000 r/min 离心 5 min。

E.6 吸上层水相 500 μL 于一塑料离心管中,加入两倍体积的无水乙醇,-20℃放置 2 h 或液氮中放置 5 min。

E.7 12 000 r/min 离心 5 min,沉淀 DNA,倾去上清液。

E.8 于沉淀中加入 75%乙醇溶液 500 μL,轻轻混匀后 12 000 r/min 离心 5 min,倾去上清液,室温晾干。

向 DNA 沉淀中加 TE 缓冲液 100 μL 溶解,-20℃保存备用。

附 录 F  
(资料性附录)  
细粒棘球蚴 PCR 目标扩增序列

F.1 细粒棘球蚴缘虫 Eg1 基因 PCR 扩增序列

**cattaatgtat****tttgtaaagttg**ttctagttttgtaactaaaaatggtttggcagtgagcgattcttattaggggaatatgcatagtgaggatgg  
tccacctattagtttactctttttatgttgggtgatgtctggtttgatattattgttgaataatttaagtttgtagtttttagttaagctaagtcctatgtgctg  
cttattggagttttgtgtgttacattaataagg**gtgtattgtaaagatgatgtg**

F.2 细粒棘球蚴缘虫 Eg1121 PCR 扩增序列

**gaatgcaagcagcagatg**cctacccatccggaagcatttaacttaccagtgggccgtgctgtggaggtagtttcggcatctagtgagg  
aaaaataagacatcggtgcgag**cactccttctcactcatctc**

F.3 细粒棘球蚴缘虫 EgO/DNA-IM1 PCR 扩增序列

**tcattttgtttgaggattagttc**taatttggatgtttttgggttttatgggttgttgtttgctatgttttctatagtggttttaggtagtagtgtt  
ggggacatcatatgtttactgttgggttagatgtgaagactgctgttttttttagttctgttactatgattataggtgttctactgggtataaagggtttta  
cttgggtgtatatgttattgaattetaatgttaattctagtgatectgttttgggtgg **gttatttctttatagttttatttac**

注：黑体、下划线部分为引物序列。

---