



# 中华人民共和国水产行业标准

SC/T 7210—2011

---

## 鱼类简单异尖线虫幼虫检测方法

Method for detection of *Anisakis simplex* larva in fish

2011-09-01 发布

2011-12-01 实施

---

中华人民共和国农业部 发布

## 前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

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部渔业局提出。

本标准由全国水产标准化技术委员会(SAC/TC 156)归口。

本标准主要起草单位:中国科学院水生生物研究所、全国水产技术推广总站。

本标准主要起草人:吴山功、王桂堂、孙喜模、陈爱平、姚卫建、朱泽闻。

## 鱼类简单异尖线虫幼虫检测方法

### 1 范围

本标准规定了简单异尖线虫(*Anisakis simplex*)幼虫形态学鉴定和聚合酶链式反应(PCR)检测方法。

本标准适用于鱼类简单异尖线虫幼虫的检测。

### 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。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法(eqv ISO 3696:1987)

GB/T 18088 出入境动物检疫采样

### 3 试剂和溶液

除另有说明外,所有试剂均为分析纯,试验用水符合 GB/T 6682 中一级水的指标。

- 3.1 生理盐水:0.85 g 氯化钠溶于 100 mL 蒸馏水中,室温保存。
- 3.2 巴氏液:0.85 g 氯化钠和 3 mL 甲醛溶液溶于 97 mL 蒸馏水中,室温保存。
- 3.3 10%的甘油酒精:10 mL 甘油溶于 90 mL 70%的酒精中,室温保存。
- 3.4 乙醇:70%、80%的乙醇以及无水乙醇。
- 3.5 乳酸酚透明液:按甘油:苯酚:乳酸:蒸馏水的体积比 2:1:1:1 的比例配置,室温保存。
- 3.6 TE:10 mmol/L Tris-Cl(pH 8.0)1 mmol/L EDTA(pH 8.0),在 1.05 kg/cm<sup>2</sup> 高压下蒸汽灭菌 20 min,于 4℃贮存。
- 3.7 10% SDS 溶液:10 g SDS 溶于 90 mL 蒸馏水中,68℃助溶,调 pH 至 7.2,最后加水定容至 100 mL,室温保存。
- 3.8 抽提缓冲液 I:400 μL TE、16 μL 蛋白酶 K(5 mg/mL)和 20 μL 10% SDS 的混合溶液。
- 3.9 抽提缓冲液 II:按 Tris 溶液饱和过的重蒸酚:氯仿:异戊醇以 25:24:1 的比例混合,密闭避光 4℃保存。
- 3.10 MgCl<sub>2</sub>:25.0 mmol/L。
- 3.11 TAE 缓冲溶液:按 Tris 碱 4.84 g、冰乙酸 1.142 mL 和 Na<sub>2</sub>EDTA·2H<sub>2</sub>O 0.744 mL 加水定容到 1 000 mL。
- 3.12 1.0%琼脂糖:琼脂糖 1 g 溶于 100 mL TAE 中。
- 3.13 Taq 酶:—20℃保存,避免反复冻融。
- 3.14 蛋白酶 K:—20℃保存,避免反复冻融。
- 3.15 dNTPs:含 dATP、dTTP、dGTP 和 dCTP 各 10 mmol/L。
- 3.16 10×PCR buffer:500.0 mmol/L pH8.8 的 Tris-HCl、500.0 mmol/L 的 KCl 和 1%的 TritonX-100 混合溶液。
- 3.17 矿物油:要求无 DNA 酶和 RNA 酶,用于无热盖的 PCR 扩增仪。
- 3.18 分子量标准:推荐使用 DL 2000 marker,4℃保存;长期贮存应分装置于—20℃,避免反复冻融。