



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 35908—2018

---

## 蜜蜂白垩病诊断技术

Diagnostic techniques for chalkbrood of honey bees

2018-02-06 发布

2018-09-01 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

# 目 次

前言 .....	I
1 范围 .....	1
2 规范性引用文件 .....	1
3 缩略语 .....	1
4 试剂和材料 .....	1
4.1 水 .....	1
4.2 固定液、染色液和培养基 .....	1
4.3 PCR 检测方法试剂 .....	1
4.4 引物序列及对照样品 .....	1
5 仪器设备 .....	2
6 临床诊断 .....	2
6.1 流行病学 .....	2
6.2 箱外观察 .....	2
6.3 开箱检查 .....	2
6.4 结果判定 .....	2
7 实验室诊断 .....	2
7.1 采样 .....	2
7.2 镜检法 .....	3
7.3 分离培养 .....	3
7.4 PCR 检测 .....	4
8 综合判定 .....	5
附录 A (规范性附录) 固定液、染色液和培养基配方 .....	6
附录 B (规范性附录) PCR 检测方法试剂的配方 .....	7
附录 C (资料性附录) 蜜蜂白垩病发病蜂群的巢门前死虫和病虫症状 .....	9
附录 D (资料性附录) 蜜蜂白垩病发病蜂群的病脾状态 .....	10
附录 E (资料性附录) 蜂球囊菌的光镜下显微图像 .....	11
附录 F (资料性附录) 蜂球囊菌 PCR 产物电泳图 .....	13
附录 G (资料性附录) 蜂球囊菌 PCR 产物参考序列 .....	14

## 前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国动物卫生标准化技术委员会(SAC/TC 181)归口。

本标准起草单位:中华人民共和国福建出入境检验检疫局、中华人民共和国吉林出入境检验检疫局、福建农林大学、福建赛福食品检测研究所有限公司。

本标准主要起草人:郑腾、张体银、宋战昀、黄少康、李宋钰、张志灯、陈日春、王武军、白泉阳、林素洁。

# 蜜蜂白垩病诊断技术

## 1 范围

本标准规定了蜜蜂白垩病的诊断技术。  
本标准适用于蜜蜂白垩病诊断和病原检测。

## 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

GB 19489 实验室 生物安全通用要求

## 3 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

EB:溴化乙锭(Ethidium bromide)

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

SDS:十二烷基硫酸钠(Sodium dodecyl sulfate)

## 4 试剂和材料

### 4.1 水

本标准所用水应符合 GB/T 6682 中一级水的规格要求。

### 4.2 固定液、染色液和培养基

乳酸苯酚固定液(配方见附录 A 中的 A.1)、乳酸棉蓝染色液(配方见 A.2)、病原菌分离培养基(配方见 A.3)。

### 4.3 PCR 检测方法试剂

亚精胺-SDS 缓冲液(配方见附录 B 中的 B.1)、饱和酚、氯仿、3 mol/L 的醋酸钠(pH 5.5)(配方见 B.2)、TE 缓冲液(配方见 B.3)、0.5×TBE 缓冲液(配方见 B.4)、上样缓冲液(配方见 B.5)、1.5%琼脂糖凝胶(配方见 B.6)、Taq DNA 聚合酶(5 U/ $\mu$ L)、10×PCR 缓冲液、dNTP Mix(10 mmol/L)。

### 4.4 引物序列及对照样品

上游引物(F):5'-TGT CTG TGC GGC TAG GTG-3';

下游引物(R):5'-GAW CAC GAC GCC GTC ACT-3';扩增产物为 442 bp。

蜜蜂蜂球囊菌阳性对照,由指定单位提供或合成含有阳性片段的质粒。

蜜蜂蜂球囊菌阴性对照,可以选用健康且无白垩病临床症状的幼虫作为阴性对照。