

T/SCFA

中 国 渔 业 协 会 团 体 标 准

T/SCFA XXXX—XXXX

海水养殖鲑鳟重要疫病监测技术规范

Technical specifications for the monitoring of important diseases in
marine-raised salmonid fish

报批稿

(本报批稿完成时间：2026.5.21)

XXXX – XX – XX 发布

XXXX – XX – XX 实施

中国渔业协会 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。

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。

本文件由中国渔业协会提出并归口。

本文件起草单位：中国水产科学研究院黄海水产研究所、日照市海洋与渔业研究院、北京市水产技术推广站、日照市水产集团、日照天旺水产有限公司、山东万泽丰海洋开发集团有限公司、山东瀚海海洋科技有限公司。

本文件主要起草人：张庆利、李晨、王君霞、徐立蒲、李杰、刘爽、徐婷婷、魏陆海、陈晓玲、王超、韩见军、李红、张伟。

海水养殖鲑鳟重要疫病监测技术规范

1 范围

本文件规定了海水养殖鲑鳟重要疫病监测的种类、监测频率、采样等要求，描述了检测方法和记录等证实方法。

本文件适用于海水养殖环境下的鲑鳟重要疫病监测。

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）适用于本文件。

- GB/T 15805 鱼类疫病系列诊断规程
- GB/T 18088 出入境动物检疫采样
- GB/T 30891 水产品抽样规范
- GB/T 34733 海水鱼类刺激隐核虫病诊断规程
- GB/T 39760 实验动物 安乐死指南
- GB/T 47226 杀鲑气单胞菌病诊断方法
- GB/T 47228 传染性胰脏坏死病诊断方法
- SC/T 7011.1 水生动物疾病术语与命名规则 第1部分：水生动物疾病术语
- SC/T 7011.2 水生动物疾病术语与命名规则 第2部分：水生动物疾病命名规则
- SC/T 7017 水生动物疫病风险评估通则
- SC/T 7018 水生动物疫病流行病学调查规范
- SC/T 7103 水生动物产地检疫采样技术规范
- SC/T 7201.3 鱼类细菌病检疫技术规程 第3部分：嗜水气单胞菌及豚鼠气单胞菌肠炎病诊断方法
- SC/T 7215 流行性造血器官坏死病诊断规程
- SC/T 7219.1 三代虫病诊断规程 第1部分：大西洋鲑三代虫病
- SC/T 7226 鲑甲病毒感染诊断规程
- SC/T 7245 细菌性肾病诊断方法
- SN/T 2734 传染性鲑鱼贫血病检疫技术规范
- SN/T 2976 鲑鱼立克次氏体检疫技术规范 巢式聚合酶链式反应法

3 术语和定义

SC/T 7011.1和SC/T 7011.2界定的术语和定义适用于本文件。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

- A. salmonicida*: 杀鲑气单胞菌 (*Aeromonas salmonicida*)
- BKD: 细菌性肾病 (bacterial kidney disease)
- C. irritans*: 刺激隐核虫 (*Cryptocaryon irritans*)
- Ct值: 阈值循环数，即荧光信号达到设定的阈值时所经历的循环数 (cycle-threshold value)
- EHN: 流行性造血器官坏死病 (epizootic hematopoietic necrosis)
- EHNV: 流行性造血器官坏死病毒 (epizootic hematopoietic necrosis virus)

G. salaris: 大西洋鲑三代虫 (*Gyrodactylus salaris*)

IHN: 传染性造血器官坏死病 (infectious hematopoietic necrosis)

IHNV: 传染性造血器官坏死病毒 (infectious hematopoietic necrosis virus)

IPN: 传染性胰脏坏死病 (infectious pancreatic necrosis)

IPNV: 传染性胰脏坏死病毒 (infectious pancreatic necrosis virus)

ISA: 传染性鲑鱼贫血症 (infectious salmon anaemia)

ISAV: 传染性鲑鱼贫血症病毒 (infectious salmon anaemia virus)

MS-222: 间氨基苯甲酸乙酯甲磺酸盐 (tricaine methanesulfonate)

Nested PCR: 套式聚合酶链式反应 (nested polymerase chain reaction)

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

P. salmonis: 鲑鱼立克次体 (*Piscirickettsia salmonis*)

qPCR: 实时荧光定量聚合酶链式反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction)

RT-PCR: 逆转录聚合酶链式反应 (reverse transcription polymerase chain reaction)

RT-qPCR: 逆转录实时荧光定量聚合酶链式反应 (reverse transcription quantitative polymerase chain reaction)

R. salmoninarum: 鲑肾杆菌 (*Renibacterium salmoninarum*)

SA: 鲑甲病毒病 (infection with salmonid alphavirus)

SAV: 鲑甲病毒 (salmonid alphavirus)

SRS: 鲑立克次体病 (piscirickettsiosis)

VHS: 病毒性出血性败血症 (viral hemorrhagic septicemia)

VHSV: 病毒性出血性败血症病毒 (viral hemorrhagic septicemia virus)

WOAH: 世界动物卫生组织 (World Organisation for Animal Health)

5 监测疫病种类

5.1 疫病种类

整个海水养殖阶段,应监测农业农村部《一、二、三类动物疫病病种名录》中对鲑鳟造成危害的疫病种类,宜增加对WOAH《水生动物卫生法典》“列表疫病名录”中能感染鲑鳟的疫病监测以及危害鲑鳟生产的新发疫病的监测,涵盖病毒病、细菌病及寄生虫病。

5.2 不同养殖阶段监测疫病种类

根据鲑鳟不同海水养殖阶段,结合国家和地方发布的影响到鲑鳟养殖的重要疫病预测预报,开展监测。如幼鱼银化后期及海水养殖阶段,应监测的疫病种类包含传染性造血器官坏死病、传染性胰脏坏死病、细菌性肾病、杀鲑气单胞菌感染、刺激隐核虫病和三代虫病。使用进口苗种或亲鱼,宜增加对鲑甲病毒病、病毒性出血性败血症、传染性鲑鱼贫血症、流行性造血器官坏死病、鲑立克次体病的监测。见附录A~附录K。

5.3 新发疫病种类

宜跟踪WOAH、国家和地方发布的关于海水养殖鲑鳟鱼过程中的重要及新发病害预测预报,按照SC/T 7017规定评估疫病风险,必要时进行监测。

6 监测频率

6.1 入场检疫

鱼苗进入养殖场、网箱或养殖工船前,宜对苗种进行疫病病原的全面检测。

6.2 入海适应期

鲑鳟入海后的 1 个月～ 3 个月，宜每 1 个周～2 个周监测 1 次。

6.3 高水温期

海水温度持续高于 13℃时，利于细菌、寄生虫繁殖，此时宜每周监测 1 次。当水温高于 16℃时，宜每 3 d监测 1 次。

6.4 特殊事件后

当观察到鱼群摄食量突然下降、连续3 d日均死亡率超过0.05%、异常游动行为（如离群独游、摩擦网衣）、黑体或体色发黑或体表损伤时，宜强化监测。

7 采样

7.1 采集数量

按 GB/T 18088 和 SC/T 7103 中规定，宜采集水生动物整体，根据鱼体大小取10尾～20尾。对于特殊样品如较大个体，无法采集水生动物整体时，按照监测疫病的检测依据采集合适的水生动物组织。

7.2 采样前准备

7.2.1 防护装备

进入养殖区域前，应严格遵守生物安全管理流程，穿戴一次性防护服、靴套及手套。若有发病个体，采样动线应严格遵循单向原则，依次为：健康无疫区→低风险区→高风险区。

7.2.2 工具准备

按照GB/T 30891规定，准备多套手术剪、镊子、记录表等。每处理完一尾鱼，工具需浸泡在 70% 乙醇中并灼烧，或浸泡在次氯酸钠、过氧化氢等强氧化剂中至少 10 min，防止样品间的交叉污染。

7.3 鱼体麻醉与动物福利处置

7.3.1 鱼体麻醉

为减少鱼体应激并符合动物福利要求，采样前宜使用 MS-222 对鱼体进行深度麻醉，工作液浓度 100 mg/L～150 mg/L可使鲑科鱼类 3 min内进入适合采样的深度麻醉状态。

7.3.2 动物福利处置

麻醉后的鱼若不再放回养殖区，应按照 GB/T 39760 规定进行安乐死。

7.4 样品采集

不同的病原体在鱼体内的组织嗜性不同，针对海水养殖鲑鳟主要疫病的采样部位应按GB/T 15805、GB/T 34733、GB/T 47226、GB/T 47228、SC/T 7215、SC/T 7219.1、SC/T 7226、SC/T 7245、SN/T 2734 和 SN/T 2976 中规定执行，同时参考WOAH《水生动物疫病诊断手册》及《国家水生动物疫病监测计划技术规范》，优先采集有临床症状的个体。海水养殖鲑鳟主要疫病的标准推荐采样部位见表 1。

表1 主要疫病采集部位指南

疫病类别	目标病原	首选采样部位	备选部位	采样技术要点与备注
病毒性	IHNV	前肾、中肾、脾脏	脑、心脏、鳃丝	稚鱼（<4 cm）可切除尾部后整条采样。

表1 续

疫病类别	目标病原	首选采样部位	备选部位	采样技术要点与备注
病毒性	IPNV	幽门垂、肾脏	直肠内容物、卵液	垂直传播监测采集亲鱼的卵液。
	VHSV	前肾、中肾、脾脏	脑、心脏、鳃丝	稚鱼（<4 cm）可切除尾部后整条采样。
	SAV	心脏（心室/心房）、骨骼肌、胰腺	中肾、鳃	
	ISAV	肾脏	脾脏、心脏、肝脏	
	EHN	肝脏、脾脏、肾脏	去头和尾后的整条	体长≤4 cm的鱼苗去头和尾后的整体；4 cm~6 cm规格鱼苗取内脏及肾脏；体长>6 cm的鱼取肝脏、脾脏、肾脏。
细菌性	<i>P. salmonis</i>	肾脏、肝脏	脑、皮肤溃疡	若有皮肤溃疡，采集溃疡边缘的新鲜组织。
	<i>R. salmoninarum</i>	肾脏（含肉芽肿）	卵液、脾脏	采样时优先选择含有白色结节的肾脏组织。无症状携带者监测推荐无损采集黏液或卵液。
	<i>A.salmonicida</i>	病变组织、肾脏、脾脏	肝脏	采集病灶组织前，需用75%乙醇消毒表面。样品宜活体运输，冰鲜样品应在0℃~4℃保存并于24 h内送达实验室。
寄生虫	<i>C.irritans</i>	体表、鳃	鳍条	从发病群体中采集具有典型症状（体表白点）鱼体。刮取体表部分黏液，并剪取部分鳍和左右鳃的鳃丝。
	<i>G.salaris</i>	鳃、鳍条	体表黏液	刮取体表部分黏液，并剪取部分鳍和左右鳃的鳃丝。

7.5 样品保存与运输

7.5.1 细菌培养样品

按GB/T 30891及SC/T 7201的规定，用70%酒精消毒鱼体表面，在无菌条件下，取新鲜鱼组织于普通琼脂培养基中或平板划线培养。鲜、活体应尽量保持原状态，48 h内低温运输至实验室。

7.5.2 分子生物学检测样品

组织块厚度应小于 0.5 cm，浸泡于核酸保存液或 95% 以上浓度的乙醇中，常温下可保存 1 d，-20℃可长期保存。

7.5.3 镜检样品

宜使用4% 中性福尔马林缓冲液或70%酒精保存，组织块体积与固定液的比例至少为 1:10，固定 24 h~ 48 h。

7.5.4 样品运输

样品应尽快运输至实验室，按 SC/T 7103 中规定执行。

7.5.5 留样

按GB/T 30891的规定，样品处理时应留样，置于 -80 ℃或液氮中保存，保存期不少于 3 个月，以供复核。

8 病原检测方法

宜采用分子生物学检测方法检测鲑科鱼类重要疫病病原，引物序列及核心检测步骤见附录A～附录K。部分寄生虫选用镜检方法。详细的检测方法见表 2。

表2 病原检测方法

病原名称	分子生物检测方法	其他检测方法	方法出处
IHN	RT-PCR、RT-qPCR		GB/T 15805.2、WOAH
IPNV	RT-PCR、RT-qPCR		GB/T 47228
VHSV	RT-qPCR、RT-PCR		GB/T 15805.3
SAV	RT-PCR、RT-qPCR		SC/T 7226、WOAH
ISAV	RT-PCR、RT-qPCR		SN/T 2734
EHNV	PCR		SC/T 7215
<i>P. salmonis</i>	Nested PCR、qPCR		SN/T 2976
<i>R. salmoninarum</i>	Nested PCR		SC/T 7245、WOAH
<i>A. salmonicida</i>	PCR、qPCR		GB/T 47226
<i>G. salaris</i>		镜检	GB/T 34733
<i>P. salmonis</i>	PCR		SC/T 7219.1

9 监测记录与报告

9.1 监测记录

- 所有监测记录内容应至少包括：
- a) 采样记录：日期、地点、水温、样品编号、采样人；
 - b) 检测报告：检测方法、试剂批号、原始数据、结果判定；
 - c) 处置记录：病死鱼处理量、治疗及处置记录；
 - d) 记录保存期限应不少于 3 年，或根据用途的要求延长保存期限。

9.2 阳性结果报告

若检测结果显示有疫病名录中的病原阳性，按照《中华人民共和国动物防疫法》及国家和地方水生动物疫病监测计划的要求报告，按SC/T 7018的规定展开调查。

附 录 A
(资料性)
传染性造血器官坏死病 (IHN)

A.1 临床症状

传染性造血器官坏死病是由传染性造血器官坏死病毒引起的,以侵害鲑科鱼类为主的高度接触性、急性传染病,已被作为“二类水生动物疫病”列入农业农村部《一、二、三类动物疫病病种名录》。主要临床症状包括:病鱼表现为游动迟缓、不规则旋转或狂游;体色发暗,眼球突出,鳃丝苍白;腹部膨大且充满腹水;体表及鳍基部常见瘀点或瘀斑;部分品种可见肛门拖带假粪。其典型剖检特征为:肝、脾、肾等造血器官苍白,呈贫血状;体腔内蓄积腹水,内脏器官表面可见出血点;胃肠道空虚,胃后部及前肠充满特征性的淡黄色胶冻状黏液。耐过鱼只常伴有脊柱畸形等后遗症。

A.2 流行情况

该病主要在 8℃~12℃水温区间内流行。当水温升至 5℃以上时,鱼开始出现临床症状,但死亡率较低;10℃左右为发病高峰,鱼苗和稚鱼发病率极高,潜伏期通常为 1 周~2 周,死亡率可达 100%。尽管水温升至 18℃以上时,因鱼体产生干扰素及特异性抗体,发病会迅速停止,但病毒仍可在鱼体内长期存活(带毒状态可达数月)。

A.3 病原

传染性造血器官坏死病毒(IHNV)属于弹状病毒科(Rhabdoviridae)、新弹状病毒属(Novirhabdovirus)。病毒颗粒呈典型子弹状,大小约为(150~190)nm×(65~75)nm。病毒具囊膜,由宿主脂质和病毒糖蛋白突起组成,内含一条长度约11,000 nt的非节段单股负链RNA,依次编码核蛋白(N)、磷蛋白(P)、基质蛋白(M)、糖蛋白(G)、非病毒粒子蛋白(NV)及RNA聚合酶(L)共 6 种蛋白质。

IHNV对热、酸及有机溶剂敏感。在淡水中可存活 1 个月以上,有机物存在时其存活期显著延长。病毒主要侵染鱼类肾脏、脾脏、脑及消化道,并在毛细血管内皮细胞、造血组织及肾细胞内复制增殖。

该病毒具有高度传染性,既可通过粪便、尿液、精(卵)液及体表黏液进行水平传播,亦可随受精卵进行垂直传播。

A.4 病原检测方法

A.4.1 RT-PCR检测

选择G蛋白为靶基因。上游引物F: 5'-AGA-GAT-CCC-TAC-ACC-AGA-GAC-3',下游引物R: 5'-GGT-GGT-GTT-GTT-TCC-GTG-CAA-3',扩增产物约693 bp。其中RNA抽提、cDNA合成、PCR反应体系组成及程序、琼脂糖电泳按 GB/T 15805.2 规定执行。

RT-PCR中,琼脂糖电泳显示在 693 bp处,阴性对照和空白对照均无条带,阳性对照有条带,待测样品如有条带,对PCR产物进行测序验证后,结果判定为阳性。样品无扩增或条带大小不在693 bp附近的均判为阴性。

A.4.2 RT-qPCR检测

选择N蛋白为靶基因,上游引物(IHNV N 796F): 5'-AGA-GCC-AAG-GCA-CTG-TGC-G-3',下游引物为(IHNV N 875R): 5'-TTC-TTT-GCG-GCT-TG-GTT-GA-3',探针为(IHNV N 818T): 5'-6FAM-TGA-GAC-TGA-GCG-GGA-CA-MGBNFQ-3'。反应体系组成及程序参照WOAH《水生动物疾病诊断手册》或一步法实时荧光定量PCR商品化试剂盒的说明书。

当样品扩增结果Ct值<35判为阳性;35≤Ct值<40判为可疑,需重测;重测后,若Ct值≥40判为阴性。

A.4.3 确诊判定

RT-PCR或RT-qPCR检测,结果阳性,判定为IHNV阳性。

附录 B (资料性) 传染性胰脏坏死病 (IPN)

B.1 临床症状

传染性胰脏坏死病是由传染性胰脏坏死病毒感染引起的一种具有高度传染性的鲑科鱼类疾病，已被作为“三类水生动物疫病”列入农业农村部《一、二、三类动物疫病病种名录》。鱼苗发病初期表现为日死亡率突然升高且呈逐日递增趋势。病鱼游动异常（呈螺旋状旋转），体色发黑，眼球突出，腹部膨大，体表及鳍基部出血。剖检可见胃幽门盲囊处点状出血，肠道内无食，充满淡黄色黏液（假粪）。

B.2 流行情况

该病宿主范围极广，死亡率受病毒毒力、水温及鱼龄等因素影响。在我国，该病主要危害5月龄以内的鲑科鱼类幼鱼，5月龄以上鱼类发病率显著降低；其他易感品种感染后多呈隐性感染，即为带毒状态的携带者与传播者。发病高峰水温为10℃~14℃，水温低于8℃或高于16℃时发病较少，环境恶劣时致死率可达100%。感染后未死亡的鱼可产生特异性抗体，并形成持续多年的带毒状态。

B.3 病原

IPNV属于双股RNA病毒科 (Birnaviridae)、水生双股RNA病毒属 (*Aquabirnavirus*)。病毒粒子为无囊膜的正二十面体，直径60 nm~65 nm，基因组由2个双链RNA片段组成。不同IPN病毒株对鲑科鱼的毒力相差很大，国际公认的强毒株主要为Sp株 (A2血清型/基因5型) 和VR-299株 (A9血清型/基因1型)。

IPNV对环境抵抗力极强，是目前已知最稳定的鱼类病毒之一。其在水中可存活230 d以上，泥浆中可达210 d，干燥环境下可存活约4周。如清除环境有机物后，使用1%~2%活性有效氯（次氯酸钠）作用15 min以上，或1:200浓度的过硫酸氢钾复合盐作用20 min以上，或2%氢氧化钠溶液作用30 min以上（作用后需冲洗中和），或紫外线（254 nm）照射剂量不低于120 mJ/cm²，可对该病毒进行有效消杀。

B.4 病原检测技术

B.4.1 RT-PCR检测

上游引物为F: 5'-CAA-GGC-AAC-CGC-AAC-YTA-CT-3'，下游引物为R: 5'-ATK-GCA-GCT-GTG-CAC-CTC-AT-3'。其中RNA提取、cDNA合成、PCR反应体系组成及扩增程序、琼脂糖电泳等按GB/T 47228执行。

若样品在585 bp处有条带，且PCR扩增产物测序结果经BLAST比对后，一致性最高的为IPNV的则判为RT-PCR阳性。若待测样品在585 bp处无条带，则判为RT-PCR阴性。

B.4.2 RT-qPCR检测

上游引物为qF: 5'-ATA-CGT-CCG-CCT-DGA-GGA-3'，下游引物为qR: 5'-GGA-TGG-GAG-GTC-GAT-YTC-3'，探针为: 5'-FAM-GAT-GAG-GTG-CAC-AGC-TGC-BHQ1-3'。其中RT-qPCR反应体系组成及扩增程序按GB/T 47228执行。

若样品Ct值≤35，且出现典型的S形扩增曲线，则判为RT-qPCR检测阳性。若样品35<Ct值≤40，对样品再次进行检测。再次检测后Ct值仍处于35~40范围内，且出现典型的S形扩增曲线，则判为RT-qPCR检测阳性，否则为阴性。若样品无Ct值或无典型的S形扩增曲线，则判为RT-qPCR检测阴性。

B.4.3 确诊判定

RT-PCR或RT-qPCR检测，结果阳性，判定为IPNV阳性。

附 录 C
(资料性)
病毒性出血性败血症 (VHS)

C.1 临床症状

病毒性出血性败血症是由病毒性出血性败血症病毒 (VHSV) 引起的一种高致死性传染病。该病被世界动物卫生组织 (WOAH) 收录为需通报的疫病;《中华人民共和国进境动物一、二类传染病、寄生虫病名录》将其列为二类动物疫病。

急性感染期发病急骤,死亡率极高(幼鱼可达100%)。典型临床表现为:病鱼体色发黑、眼球突出、严重贫血(鳃丝苍白);鳍条基部、眼球及皮肤可见明显出血点;表现出阵发性狂游、螺旋状旋转等游泳异常;腹腔积液导致腹部膨胀。剖检可见:肾脏呈暗红色肿胀,肝脏褪色呈苍白色并伴有点状出血,肌肉及内脏器官广泛出血,消化道内无食物。慢性感染期症状不明显(亚临床状态),通常无显著外部体征,但在病毒侵入脑部后,仍可能出现剧烈的神经性症状(如狂游、打转等)。

C.2 流行情况

本病通常在水温4℃~14℃时发生,4℃~10℃为暴发高峰期。当水温超过15℃时,病毒复制受到显著抑制。低温环境易诱发疫情大规模暴发。VHSV在4℃淡水中可存活28d~35d,但在过滤后的无菌淡水中,其感染性可维持一年以上;若水中存在卵巢液、牛血清等有机物质,病毒存活时间将显著延长。在15℃天然淡水中,99.9%的病毒可在13d内失活,但在海水中灭活速度更快(约4d)。另有研究表明,在15℃海水中,病毒滴度在10h内下降50%,但40h后仍具感染力。常规商业冷冻处理无法完全灭活受损组织中的病毒,但可使其感染性或效价降低90%以上。

C.3 病原

该病毒归属于弹状病毒科(Rhabdoviridae)、诺维弹状病毒属(Novirhabdovirus)。病毒粒子呈典型的弹状,具包膜,尺寸约为70nm×180nm。基因组为单链负股RNA,全长约11000nt,共编码6个结构与非结构蛋白:核蛋白(N)、磷蛋白(P)、基质蛋白(M)、糖蛋白(G)、非病毒粒子蛋白(NV)及RNA聚合酶(L)。

C.4 病原检测技术

C.4.1 RT-PCR检测

选择N蛋白基因,上游引物为F:5'-ATG-GAA-GGA-GGA-ATT-CGT-GAA-GCG-3',下游引物为R:5'-GCG-GTG-AAG-TGC-TGC-AGT-TCC-C-3',扩增产物约505bp。其中RNA抽提、cDNA合成、PCR反应体系组成及程序、琼脂糖电泳按GB/T 15805.3规定执行。

RT-PCR中,琼脂糖电泳显示在505bp处,阴性对照和空白对照均无条带,阳性对照有条带,待测样品如有条带,对PCR产物进行测序验证,结果判定为阳性。样品无扩增或条带大小不在505bp范围的均判为PCR阴性。

C.4.2 RT-qPCR检测

选择N蛋白基因,上游引物为F:5'-AAA-CTC-GCA-GGA-TGT-GTG-CGT-CC-3',下游引物为R:5'-TCT-GCG-ATC-TCA-GTC-AGG-ATG-AA-3',探针为:5'-FAM-TAG-AGG-GCC-TTG-GTG-ATC-TTC-TG-BHQ1-3'。反应体系组成及程序按GB/T 15805.3规定执行,亦可参照一步法实时荧光定量PCR商品化试剂盒的说明书。

当样品扩增结果Ct值≤35判为阳性;样品无扩增曲线,或Ct值>35判为阴性。

C.4.3 确诊判定

RT-PCR或RT-qPCR检测,结果阳性,判定为VHSV阳性。

附录 D

(资料性)

鲑甲病毒病 (SA)

D.1 临床症状

鲑甲病毒病也称“鲑甲病毒感染”，是由鲑甲病毒引起、伴随早期病毒血症的严重全身性疾病。病鱼主要表现为游动迟钝、侧卧池底呈典型“睡眠”状，食欲废绝，部分存活鱼演变为严重消瘦的“僵鱼”。体表可见鳞囊水肿与眼球突出，剖检显示肠道充满黄色黏液，幽门盲囊脂肪瘀点出血，心包腔积血。其核心组织病理学特征为外分泌腺组织的广泛坏死及缺失，伴随严重的心肌与骨骼红肌纤维坏死病变。

D.2 流行情况

该病在欧洲海水与淡水养殖水域广泛流行，尤其是挪威、英国等地，网箱感染率常高达 70%~100%。SAV 分为 6 个基因型，其中 SAV1 与 SAV2 主要感染淡水和海水中的虹鳟及鲑鱼，而 SAV3 至 SAV6 多局限于海水环境。病毒无需任何节肢动物充当媒介，主要通过受污染的水体、鱼类排泄物及体表黏液进行水平传播，极易引发大规模交叉感染。

D.3 病原

鲑甲病毒 (SAV) 隶属于披膜病毒科 (Togaviridae)、甲病毒属 (*Alphavirus*)。病毒颗粒呈球形，直径约 60 nm~70 nm，具有脂质囊膜结构。其基因组为单股正链 RNA，长度约 12 kb，包含两个独立的开放阅读框，分别编码 nsP1~nsP4 四个非结构蛋白，以及由衣壳蛋白、E3、E2、6K 和 E1 构成的囊膜糖蛋白。E2 糖蛋白是病毒受体结合与介导细胞内化的核心抗原决定簇，包含主要中和表位；6K 蛋白则作为一种关键的病毒孔蛋白，直接参与细胞膜透化及病毒出芽释放。目前发现的六个基因型虽在毒力与环境分布上存在差异，但整体抗原性高度保守，极易产生交叉中和反应。病毒在自然水体中具备一定抵抗力，且冷冻血浆样本中可长期存活。

D.4 病原检测技术

D.4.1 RT-PCR 检测

选择 E2 蛋白基因，上游引物为 F: 5'-CCG-TTG-CGG-CCA-CAC-TGG-ATG-3'，下游引物为 R: 5'-CCT-CAT-AGG-TGA-TCG-ACG-GCA-G-3'，扩增产物约 516 bp。其中 RNA 抽提、cDNA 合成、PCR 反应体系组成及程序、琼脂糖电泳按 SC/T 7226 规定执行。

RT-PCR 中，琼脂糖电泳显示在 516 bp 处，阴性对照和空白对照均无条带，阳性对照有条带，待测样品如有条带，对 PCR 产物进行测序验证后，结果判定为 SAV 阳性。样品无扩增或条带大小不在 516 bp 的均判为阴性。

D.4.2 RT-qPCR 检测

针对进口苗种筛查及隐性带毒监测，可进行定量检测。上游引物 QnsP1F: 5'-CCG-GCC-CTG-AAC-CAG-TT-3'，下游引物 QnsP1R: 5'-GTA-GCC-AAG-TGG-GAG-AAA-GCT-3'，特异性探针 QnsP1probe: 5'-FAM-CTG-GCC-ACC-ACT-TCG-A-MGB-3'，反应体系组成及程序参照 WOA 的《水生动物疾病诊断手册》或一步法实时荧光定量 PCR 商品化试剂盒的说明书。

若样品 Ct 值 ≤ 35，且出现典型的 S 形扩增曲线，则判为 RT-qPCR 检测阳性。若样品 35 < Ct 值 ≤ 40，对样品再次进行检测。再次检测后 Ct 值仍处于 35~40 范围内，且出现典型的 S 形扩增曲线，则判为 RT-qPCR 检测阳性，否则为阴性。若样品无 Ct 值或无典型的 S 形扩增曲线，则判为 RT-qPCR 检测阴性。

D.4.3 确诊判定

符合以下情况之一者，即可确诊为 SAV 阳性感染：

——具备明显的胰脏坏死、心肌坏死等特征性病理变化，且常规 RT-PCR 或 RT-qPCR 任意一项检测结果为阳性者；

——在无症状带毒监测中，RT-PCR 与 RT-qPCR 两种独立方法检测结果均为阳性者。

附录 E (资料性) 鲑传染性贫血症 (ISA)

E.1 临床症状

鲑传染性贫血症 (ISAV感染) 是以侵害大西洋鲑为主的高度致死性、系统性病毒感染。病鱼行为异常嗜睡, 常滞留于网箱边缘; 体表与腹部多见斑点状出血, 眼球严重突出伴前眼房积血, 鳃丝因极度贫血呈典型苍白状。剖检可见腹腔和心包腔内蓄积淡黄色或血性腹水; 肝脏弥漫性暗红肿大, 脾脏肿胀变圆, 肾脏肿大且切面渗液, 肠道空虚且黏膜充血暗红。组织病理学显著表现为鳃毛细血管微血栓、多灶性肝坏死、肾间质出血及脾脏强烈的红细胞吞噬现象。

E.2 流行情况

该病重点威胁全球海水网箱中的大西洋鲑, 初期日死亡率虽极低 (0.05%~0.1%), 但病程绵长, 累积死亡率可超 75%。病毒主要通过水体、共享养殖设备进行水平传播, 鲑疮痂鱼虱亦可充当机械传播载体, 活鱼运输常引发跨区域远距离扩散。

E.3 病原

鲑传染性贫血症病毒 (ISAV) 属于正粘病毒科 (Orthomyxoviridae)、鲑传贫病毒属 (*Isavirus*)。病毒颗粒呈多形性及二十面体结构, 直径 100 nm~130 nm, 表面密布典型的 10 nm 蘑菇状糖蛋白突起。基因组包含 8 个单股负链 RNA 片段, 至少编码 10 种蛋白质。其中, 片段 5 编码具膜融合活性的表面糖蛋白 (F); 片段 6 编码核心毒力因子血凝素-酯酶, 负责与宿主细胞表面的 4-O-乙酰化唾液酸受体特异性结合并裂解细胞。高变区序列的缺失是导致非致病株向高致病性表型转化的分子学基础。ISAV 具有受体破坏活性, 对环境理化因子极为敏感, 加热至 55 °C 持续 5 min、极端酸碱度 (pH 4 或 pH 12)、高浓度臭氧或常规紫外线照射均能将其彻底灭活。

E.4 病原检测技术

E.4.1 RT-PCR检测

选择 ISAV 基因第 8 片段。上游引物 F: 5'-GGC-TAT-CTA-CCA-TGA-ACG-AAT-C-3', 下游引物 R: 5'-GCC-AAG-TGT-AAG-TAG-CAC-TCC-3', 扩增片段大小约 155 bp。其中 RNA 抽提、cDNA 合成、PCR 反应体系组成及程序、琼脂糖电泳按 SN/T 2734 规定执行。

在对照成立的前提下, 若待测样品在 155 bp 位置出现特异性条带, 则判为 ISAV 核酸阳性。若待测样品无条带, 或条带大小不是 155 bp, 则判为 ISAV 阴性。

E.4.2 RT-qPCR检测

选择 ISAV 基因第 8 片段。上游引物 F: 5'-CTA-CAC-AGC-AGG-ATG-CAG-ATG-T-3', 下游引物 4: 5'-CAG-GAT-GCC-GGA-AGT-CGA-T-3', 探针 P: 5'-FAM-CAT-CGT-CGC-TGC-AGT-TC-TAMRA-3'。按 SN/T 2734 规定执行。

检测结果呈现 Ct 值 ≤ 35 , 且扩增曲线有明显的对数增长期, 判为 ISAV 阳性。对于 $35 < \text{Ct 值} < 40$ 的样品, 需重新取样进行重复检测。如果重复检测的 Ct 值仍 < 40 , 且曲线有明显的对数增长期, 判为阳性; 否则判为阴性。必要时, 可对初次检测呈阳性的样品进行重复检测。

E.4.3 确诊判定

鉴于无致病性 HPR0 型与高致病性 HPR 缺失型 ISAV 在临床根除政策上的巨大差异, 确诊应遵循以下条件: 样品的 RT-PCR 或 RT-qPCR 结果为阳性, 证实感染或携带 ISAV。

高致病性 (分型) 确诊: 对第 8 片段阳性的样品, 必须进一步使用针对第 6 片段的 HE 基因进行常规 RT-PCR 扩增并进行核酸测序。若测序结果显示其 HPR 高变区存在特征性基团缺失, 且序列符合高毒力

株特征，可确诊为高致病性鲑传染性贫血症。若测序结果显示其HPR区域序列完整、无任何缺失，则判定为低风险的HPR0型病毒携带，依照WOAH规范不属于烈性根除范围，但需保持流行病学隔离监视。

附 录 F
(资料性)
流行性造血器官坏死 (EHN)

F.1 临床症状

流行性造血器官坏死可导致虹鳟与赤鲈发生系统性致死感染。发病虹鳟（多为125 mm以下幼鱼）常表现为体色异常发暗、游动失衡、鳃盖不规则张开及严重迟缓。大体剖检可见腹部因蓄积大量血性腹水而显著膨大；肾脏、脾脏与肝脏异常肿大，肝脏表面偶见多发性黄白色坏死灶，内脏器官外围散布针尖样瘀点。组织病理检查证实，肝、肾、脾等造血及实质性器官发生广泛的液化或凝固性坏死，毛细血管内皮受损，且受感染细胞质内常见典型的嗜碱性病毒包涵体。

F.2 流行情况

该病为WOAH列报的重大疫病，主要在澳大利亚东南部淡水流域呈地方性流行。虹鳟养殖场中常表现为慢性感染，日死亡率低于0.2%，发病水温多在11℃~20℃之间，水质恶化及高密度应激易诱发暴发。病毒主要通过被污染的水体、带毒幼鱼进行网箱间的水平传播；而在野生环境中，食鱼鸟类消化道、渔具及船只可作为重要机械传播媒介，造成跨水系的跳跃式扩散。

F.3 病原

流行性造血器官坏死病毒 (EHNV) 隶属于虹彩病毒科 (Iridoviridae)、蛙病毒属 (*Ranavirus*)。该病毒颗粒体型庞大，直径介于150 nm~180 nm 之间，呈无囊膜的正二十面体对称几何结构。其核心为庞大的双链DNA (dsDNA)，基因组全长约 125 Kb~127 kb，严密包含 106 个~109 个保守基因序列，其中 24 个核心基因主导病毒的复制和转录机制。EHNV细胞侵染谱极广，病毒组装过程不仅涉及细胞核，最终在细胞质的微管网络内完成高密度衣壳聚合。EHNV对自然极端物理环境表现出罕见的超强抵抗力，不仅耐受长期干燥，在冻鱼组织内可潜伏存活长达两年以上。由于其为无囊膜病毒，70%乙醇对其灭活效果不彻底，临床消杀严禁将其作为唯一核心药剂；其消杀高度依赖高浓度有效氯（次氯酸钠）、过硫酸氢钾复合盐（1:200）或将其置于60℃高温环境中持续加热至少30 min。

F.4 病原检测技术

F.4.1 PCR检测

选择衣壳蛋白 (MCP) 编码基因，上游引物F: 5'-CGC-AGT-CAA-GGC-CTT-GAT-GT-3'，下游引物R: 5'-AAA-GAC-CCG-TTT-TGC-AGC-AAA-C-3'，扩增片段长度约 585 bp。其中DNA提取、PCR扩增、琼脂糖凝胶电泳按 SC/T 7215 规定执行。

阳性对照出现 585 bp条带，阴性对照和空白对照无此条带。若待测样品在 585 bp处有扩增条带，且经测序验证为EHNV MCP片段序列，可判定为EHNV阳性。若无条带、条带位置不符或测序非EHNV序列，则判为阴性。

附录 G

（资料性）

鲑立克次体病（SRS）

G.1 临床症状

鲑鱼立克次体病又称鲑鱼立克次体败血症，是由鲑鱼立克次体（*P. salmonis*）引起的一种全身性致死性疾病。该病对鲑科鱼类等冷水性鱼类养殖业构成严重威胁，是全球鲑科鱼类产业高度关注的流行性疫病。典型临床表现为：病鱼体表出现溃疡；剖检可见肾脏显著肿大，肝脏出现多发性灰白色坏死结节（常呈特征性的“火山口”状）；病理后期常伴有脾脏肿大及心包积液。

G.2 流行情况

鲑鱼立克次体主要通过水平途径传播，病原可通过水体、受污染的饲料或养殖工具在鱼群间扩散。尽管有研究表明该病原可能存在垂直传播（即经亲鱼传给子代）的风险，但在实际生产中相对少见。该病在海水和淡水环境中均可流行，高密度养殖引发的应激反应常会导致疫情快速蔓延。

G.3 病原

鲑立克次体（*P. salmonis*），分类学上隶属于变形菌门（Pseudomonadota）、伽马变形菌纲（Gammaproteobacteria）、硫发菌目（Thiotrichales）、鱼立克次体科（Piscirickettsiaceae）、鱼立克次体属（*Piscirickettsia*）。该病原为革兰氏阴性菌，具有严格的细胞内寄生性，主要寄生于宿主的巨噬细胞和单核细胞等白细胞中。通过在免疫细胞内大量增殖并使其裂解，病原能迅速瓦解宿主的免疫防御系统，进而诱发全身性系统感染及器官衰竭。

G.4 病原检测技术

G.4.1 Nested-PCR检测

第一轮使用通用细菌16S rDNA引物扩增，上游引物为27F：5'-AGA-GTT-TGA-TCM-TGG-CTC-AG-3'，下游引物1518R：5'-AAG-GAG-GTG-ATC-CAN-CCR-CA-3'，扩增长度约1500 bp。第二轮使用特异性引物对（RTS1/RTS4）以第一轮产物为模板进行扩增。上游引物为PS2S（223F）：5'-CTA-GGA-GAT-GAG-CCC-GCC-GCG-TTG-3'，下游引物为PS2AS（690R）：5'-GCT-ACA-CCT-GAA-ATT-CCA-CTT-3'，扩增长度约468 bp。DNA反应体系组成及程序、琼脂糖电泳按 SN/T 2976 规定执行。

Nested-PCR中，琼脂糖电泳显示阴性对照和空白对照均无条带，阳性对照有条带，待测样品如有条带，对PCR产物进行测序验证后，结果判定为阳性。样品无扩增或第二轮扩增后条带大小不在468 bp附近的均判为PCR阴性。

G.4.2 qPCR检测

WOAH《水生动物疾病诊断手册》选择16S rRNA基因或ITS区域，上游引物为Psal-F：5'-TCTGGGAAGTGGGATAGA-3'，下游引物为Psal-R：5'-TCCCGACCTACTTGTTTCATC-3'，探针为：5'-6FAM-TGATAGCCCCGTACACGAAACGCATA-MGB NFQ-3'。反应体系组成及程序参照WOAH《水生动物疾病诊断手册》或实时荧光定量PCR商品化试剂盒的说明书。

当样品扩增结果Ct值<35判为阳性；35≤Ct值<40判为可疑，需重测；重测后，若Ct值≥40判为阴性。

G.4.3 确诊判定

Nested-PCR或qPCR检测，结果为阳性，判定为*P. salmonis*阳性。

附录 H

（资料性）

细菌性肾病（BKD）

H.1 临床症状

细菌性肾病是由鲑肾杆菌（*R. salmoninarum*）引起的一种广泛发生于鲑科鱼类的慢性、系统性传染病。因其病程长、隐蔽性强且危害严重，曾被世界动物卫生组织（WOAH）列为需通报的疫病；我国农业农村部公布的“一、二、三类动物疫病病种名录”将其列为三类动物疫病。患病鱼肾脏显著肿大（甚至可达正常体积的数倍），表面分布有大量突起的、直径 2 mm~4 mm 的灰白色肉芽肿结节；病情严重时，病灶可蔓延至肝脏、脾脏及心脏，表现为全身性多器官肉芽肿。

H.2 流行情况

该病具有显著的慢性感染特征，潜伏期长，病鱼从感染到死亡的过程较为缓慢。温度敏感性：本病在 4℃~20℃ 水温范围内均可发病，10℃~15℃ 为发病与持续死亡的高峰水温；7℃ 以下发病相对较少，当水温超过 18℃ 时死亡率明显下降。传播途径：该病不仅可通过水体进行水平传播，还具有极高的经卵垂直传播风险（病原菌可通过卵黄、精卵液或配子直接进入卵内内部），这使得该病在鲑科鱼类引种过程中极难根除。

H.3 病原

病原为鲑肾杆菌（*R. salmoninarum*），属于肾杆菌属（*Renibacterium*），目前该属仅此一种。该菌为革兰氏阳性、无荚膜、不产芽孢的短杆菌，菌体大小约（0.3~1.0）μm ×（1.0~1.5）μm，常成对排列或呈短链状。其生物学特性表现为严格的专性细胞内寄生菌，是鲑科鱼类的专性病原菌。该菌体外独立生长极度缓慢，对原代分离培养基要求苛刻，需使用富含半胱氨酸、血清及组织浸出液的特殊固体培养基，人工孵育通常需要 2 周~6 周方能肉眼可见微小菌落。

H.4 病原检测技术

H.4.1 Nested PCR 检测

选择编码 p57 主要表面抗原蛋白的基因为靶基因。第一轮上游引物为 F1：5'-AGC-TTC-GCA-AGG-TGA-AGG-G-3'，下游引物为 R1：5'-GCA-ACA-GCT-TTA-TTT-GCC-GGG-3'，扩增产物长度约 383 bp。第二轮上游引物为 F2：5'-ATT-CTT-CCA-CTT-CAA-CAG-TAC-AAG-G-3'，下游引物为 R2：5'-CAT-TAT-CGT-TAC-ACC-CGA-AAC-C-3'，扩增产物长度为 323 bp。其中，DNA 提取、PCR 反应体系组成及扩增程序、琼脂糖电泳按 SC/T 7245 的规定执行。

若样品第一轮 PCR 后在 383 bp 处有条带；或第一轮 PCR 后在 383 bp 处无条带，但第二轮 PCR 后在 323 bp 处有条带，则判定为 nested PCR 检测核酸阳性。若样品第一轮 PCR 后在 383 bp 处无条带，且第二轮 PCR 后在 323 bp 处无扩增条带，则判定为 Nested PCR 检测核酸阴性。其中，对核酸阳性样品的 PCR 产物进行测序，测序结果与 SC/T 7245 参考序列一致性 > 98%，则判断 Nested PCR 检测结果为 *R. salmoninarum* 核酸阳性。

附录 I (资料性) 杀鲑气单胞菌感染

I.1 临床症状

由杀鲑气单胞菌 (*A. salmonicida*) 引起的疔疮病是导致鲑科鱼类发生极度败血症的严重感染。病鱼游动迟缓、食欲废绝, 体色呈深度黑化沉着并伴发双眼外突。特征性病变为皮肤与肌肉深部形成剧烈肿胀、隆起的疔疮, 疔疮后期发生软化、破溃, 向外喷吐脓血和组织液, 并在体表遗留特征性的、边缘隆起的“火山口”状深度溃疡。鳃盖、口腔及偶鳍基部见广泛充血, 肛门常溢出血性黏液。内部剖检可见脾脏病理性肿大、肝脏局灶性坏死、后肠充血, 胃腔内充斥大量血液及脱落组织。显微组织病理学特征为鳃小片大面积融合与增生变性、肾小管及肠上皮坏死脱落, 在心脏、脾脏和肌肉等深部病灶组织内散布密集的细菌微集落。

I.2 流行情况

该病原呈全球性广泛分布, 不仅大西洋鲑、银鲑等溯河性鲑科鱼类极度敏感, 集约化淡水养殖的虹鳟在夏季高温或极度应激下同样具有高度易感性。疫病暴发常在水温跃升至 10℃ 以上时迅速恶化, 养殖密度过大、频繁网笼操作或水质骤变等外源性应激是发病的主要推手。致病菌可借助受污染水柱、直接接触进行剧烈水平传播, 且鲑疮痂鱼虱、水鸟等也能作为机械传播媒介。大量康复鱼会转化为终身隐性带菌者, 持续向环境排菌。

I.3 病原

杀鲑气单胞菌杀鲑亚种 (*Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*) 属于气单胞菌科 (*Aeromonadaceae*)、气单胞菌属 (*Aeromonas*), 形态上为无鞭毛的革兰氏阴性短杆菌。作为典型的兼性胞内寄生菌, 其具有高度复杂的毒力因子表达网络。其表面由一层分子量约 50 kDa 的 A 层蛋白 (*VapA*) 紧密包裹, 这种副结晶网状结构能强效抵抗宿主巨噬细胞的吞噬降解并介导组织粘附。病原体的核心致病武器是第三型分泌系统, 能像微观注射器般将毒性效应蛋白直接注入宿主细胞。同时, 该菌能大量分泌气溶素、与脂多糖结合呈剧毒的甘油磷脂-胆固醇酰基转移酶及丝氨酸蛋白酶, 引发严重的细胞液化、红细胞溶解和致命败血症休克。

I.4 病原检测技术

I.4.1 PCR检测

选择 *VapA* 基因, 上游引物 F: 5'-CAT-GCT-GCC-AAT-GGT-CGT-GG-3', 下游引物 R: 5'-AGT-GAA-ATC-TAC-CAG-CGG-TGC-T-3', 扩增片段 264 bp。其中 DNA 提取、PCR 扩增及琼脂糖凝胶电泳等按 GB/T 47226 规定执行。

电泳结果在 264 bp 处出现特异性条带, 且测序结果与参考序列一致性 ≥99%, 为杀鲑气单胞菌阳性。

I.4.2 qPCR检测

选择 *VapA* 基因, 上游引物 F: 5'-TAA-AGC-ACT-GTC-TGT-TAC-C-3', 下游引物 R: 5'-GCT-ACT-TCA-CCC-TGA-TTG-G-3', 探针序列 P: 5'-FAM-ACA-TCA-GCA-GGC-TTC-AGA-GTC-ACT-G-BHQ1-3'。反应体系组成及程序按 GB/T 47226 规定执行。

检测结果中, Ct 值 ≤35 且有典型扩增曲线判定为阳性。35 ≤ Ct 值 <40 需重测; 重测后, 若 Ct 值 ≥40 判为阴性。

I.4.3 确诊判定

PCR 或 qPCR, 结果为阳性, 判定为杀鲑气单胞菌感染。

附录 J

（资料性）

刺激隐核虫病

J.1 临床症状

刺激隐核虫（*C. irritans*）常被称为“海水小瓜虫”，是海水养殖鲑科鱼类白点病的主要病原。染病鱼最显著的特征是体表、鳍条或鳃部出现肉眼可见的细小白色点状物（即寄生在鱼体表皮及鳃部上皮组织下的滋养体）。随着病情的演变，病鱼黏液分泌量会急剧增加，皮肤可能表现出充血、剥落甚至继发细菌性溃烂。由于鳃丝被该寄生虫破坏，病鱼常表现出呼吸频率加快、游动迟缓并聚集在进水口或水面附近的症状。此外，因虫体刺激，病鱼常有在池壁或网箱边缘摩擦身体的行为，随后转入食欲减退、反应迟钝的濒死状态。

J.2 流行情况

该虫在水温 22℃至 28℃时发育最为活跃，是疫情急性暴发的高峰期；水温 15℃至 20℃时，其繁殖速度有所减缓。该寄生虫对盐度波动敏感，通常在盐度为 30 至 35 的环境下暴发风险最高，当盐度降至 15 以下时，其生活会受到严重抑制。养殖密度过高、水体交换不畅及底质有机物堆积是导致疫情持续蔓延的核心因素。养殖区周围的野生鱼类常作为天然宿主而成为长期的传染源，使得该病极难彻底根除。

J.3 病原

刺激隐核虫（*C. irritans*）隶属于原生动物门（Protozoa）、纤毛亚门（Ciliophora）、前口纲（Prostomatea）、膜口目（Hymenostomatida）、隐核虫科（Cryptocaryonidae）。该虫的生活史由四个截然不同的阶段组成：寄生在鱼体组织内的滋养体（Trophont）、离开鱼体并在水中游动的包裹前体（Protomont）、附着于环境中并分泌厚壁的包裹体（Tomont），以及从包裹中释放出来寻找宿主的感染性幼体。滋养体呈梨形或近圆形，周身被覆纤毛，胞质内含有一个特征性的四叶状或念珠状大核。在寄生阶段，它利用其独特的细胞口摄取宿主的上皮细胞与组织液。其包裹阶段具有极强的抗逆性，能够在底质沉积物中潜伏数周。

J.4 病原检测技术

J.4.1 镜检技术

按 GB/T 34733 规定执行，刮取病鱼体表黏液并剪取部分鳍条和鳃丝，用生理盐水制成水封片，在光学显微镜（10 倍×10 倍）下检查。随后进行病原体形态学确认，将上述组织用 4% 甲醛或 70% 乙醇固定，经吉姆萨（Giemsa）染色后，依据虫体形态确认。

J.4.2 结果判定

在低倍显微镜下进行全片扫描，重点观察视野中是否有呈梨形或圆形、具有明显旋转运动特征的纤毛虫体。刺激隐核虫滋养体在显微镜下表现为浑浊的灰褐色，体表纤毛剧烈颤动，内部可见标志性的四叶状大核，即可判定为患刺激隐核虫病。应根据观察到的虫体密度进行严重程度分级：平均每个视野或每片鳃丝下虫体数量少于 5 个定为轻度感染，5 个至 20 个定为中度感染，超过 20 个则定为重度感染。

J.4.3 预警与干预

在海水养殖环境下，一旦在镜检中发现刺激隐核虫滋养体，无论密度高低均视为疫情爆发的前兆。考虑到其生活史的爆发性，当检测结果呈阳性时，养殖场应立即采取降低养殖密度、增加水体交换量或进行淡水浴、药浴等防控措施，切断生活史中包裹向掠食体转化的环节，防止损失进一步扩大。

附录 K

（资料性）

三代虫病

K.1 临床症状

感染致病性大西洋鲑三代虫（*G. salaris*）的虹鳟早期可呈无症状隐性带虫状态，但随着虫口密度严重超标，病鱼行为变得极度呆滞，常停滞于低流速区，阵发性剧烈闪游与摩擦池壁。大体剖检可见体表受刺激分泌过量黏液，呈现大面积灰白浑浊外观，鳞片脱落。背鳍与胸鳍区域因表皮长期遭受物理刺穿发生严重炎症增生，边缘破碎呈撕裂絮状，躯干易生成开放性浅表溃疡，极易继发水霉菌感染。显微镜观察可见边缘小钩引发的纯机械性组织上皮切割损伤，确诊需依赖高倍镜虫体形态学鉴定。

K.2 流行情况

该虫是专性淡水体外寄生物（最高盐度耐受约20 ppt），主要在波罗的海沿岸及挪威水域失控性蔓延。大西洋鲑幼鱼对其表现出零免疫抗性，极易诱发近乎 100% 的种群灭绝；而虹鳟等近缘种通常作为隐性活体水库常年散播病原。虫体无需中间宿主，仅凭鱼群物理摩擦或环境底质爬行即可迅速转移寄生，剥离宿主后在冰冷底层水流中依然能存活近 6 d。

K.3 病原

大西洋鲑三代虫（*G. salaris*）归属于扁形动物门（Platyhelminthes）、单殖吸虫纲（Monogenea）的三代虫科，体长仅 0.5 mm~1 mm，微小透明。虫体前端拥有发达的头腺感觉器官用于分泌黏液，能灵活蠕动躲避水流；致病核心尾部进化出强韧的几丁质固着盘（Opisthaptor），内置 16 个锐利边缘小钩与 2 个由联结片固定的中央巨大锚钩，犹如鱼叉般深深刺入宿主表皮造成持续切割性物理创伤。该虫为胎生机制，无需交配，单一雌雄同体成虫内可独立孕育第一代胚胎，且该胚胎内已嵌合发育成型的第二代幼体。这种极致的早熟繁育使得新生虫立刻具备吸血与生育力，能以几何级数引发种群暴发。

K.4 病原检测技术

K.4.1 PCR检测

选择核糖体DNA内转录间隔区（ITS）基因，上游引物序为F：5'-TTT-CCG-TAG-GTG-AAC-CT-3'，下游引物为R：5'-TCC-TCC-GCT-TAG-TGA-TA-3'，扩增产物约 1 300 bp。其中DNA抽提、PCR反应体系组成及程序、琼脂糖电泳及测序按 SC/T 7219.1 规定执行。

若电泳结果出现约 1 300 bp的目的条带，则需对该PCR扩增产物进行DNA测序。当序列相似性达到 99%以上时，即可判定该虫体为大西洋鲑三代虫。

参 考 文 献

- [1] WOAHP, 2026. Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals. World Organization for Animal Health, Paris. <https://www.woah.org/en/>
 - [2] 全国人民代表大会. 中华人民共和国动物防疫法 [A]. 2021.
 - [3] 全国水产技术推广总站. 《国家水生动物疫病监测计划》技术规范(2024年版)(鱼类/虾类) [R]. 北京: 全国水产技术推广总站, 2024.
 - [4] 中华人民共和国农业农村部. 一、二、三类动物疫病病种名录: 农业农村部公告第573号 [S/OL]. 2022-06-23.
-