

《国家水生动物疫病监测计划》
技术规范(第二版)
(虾类)

全国水产技术推广总站

二〇二一年四月

目 录

1. 白斑综合征监测技术规范	1
2. 传染性皮下和造血组织坏死病监测技术规范	6
3. 虾虹彩病毒病监测技术规范	11
4. 急性肝胰腺坏死病监测技术规范	16
5. 虾肝肠胞虫病监测技术规范	21

白斑综合征监测技术规范

第一部分 采样和阳性场处置

1. 监测点的设置

监测点(养殖场)应包括辖区内所有虾类引育种中心、国家级原良种场、省级原良种场、县级以上虾类重点苗种场、近两年内白斑综合征病毒(WSSV)监测结果为阳性的养殖场。

纳入监测的监测点信息应填写到《监测点备案表》(附件1)中。

本规范中的监测点指需要监测的独立的流行病学单元。

2. 采样

2.1 准备 采样单位提前2周与监测点以及检测单位取得联系并确定采样和送样的时间;确定采样人员和车辆;准备《现场采样记录表》(附件2)、苗种专用袋或聚氯乙烯贴布革水产袋、扎口用尼龙绳或橡皮筋、小型氧气罐、塑料袋、工作服、95%酒精、解剖刀片、牙签、平皿、直尺、电子称、一次性手套、鞋套、温度计、消毒液、标签纸、记号笔、相机等。空运样品(苗种)应准备检疫证明。

2.2 人员 采样人员须通过省级及以上水生动物疫病研究机构、预防控制机构或水产技术推广机构组织的采样技术培训,或具备采样必须的技术能力,掌握疫病相关专业知

2.3 采样对象 养殖虾类。若一个监测点养殖多种虾类,则每个种类作为不同样品进行分别采样,所有种类均需采样。

2.4 采样水温 不限,但需准确测量并记录采样时池塘的水温,精确到0.5℃。

2.5 采样规格 以实际采样时的样品规格为准,应准确记录样品的生物学体长(眼柄基部至尾节末端)和日龄(变态为仔虾后的天数,如所

放苗为Pn苗,放苗m天,则日龄为n+m)。采集样品分虾苗、养成期虾和亲虾。其中,虾苗只采集仔虾期样品;亲虾采集发病虾、濒死虾或附肢、鳃丝。

2.6 采样数量 每个监测点优先采集具有临床症状的个体,如:在水面独游、静卧、趴边、反应迟钝、眼球不反光、体色发红、出现白斑、濒死或出现大规模死亡等,数量不少于30尾;无临床症状时,随机采150尾。

2.7 采样 1)育苗车间随机采集的孵化池(缸)数量不少于10个,共采集150尾作为一个样。如果孵化池(缸、环道)数量小于或等于10个,则每个孵化池(缸、环道)都要采集。2)若监测点设立的池塘、水泥池或露天养殖池等养殖单元数量多于10个,随机选择其中10个养殖单元,共采集150尾作为一个样;如果养殖单元的数量小于或等于10个,则每个养殖单元都要采集。

2.8 采样形式 1)活体样品:直接将活虾以合适的密度置于充氧的苗种袋中,12 h内运达检测单位;2)非活体样品:a)24 h内可运达检测单位时,完整个体可直接置于干冰或-20℃以下保存;24 h内无法运达检测单位时,完整个体直接置于-20℃以下,冰冻24 h;或先浸泡于3倍样品体积的95%~100%乙醇后再置于-20℃以下保存。5个工作日内,低温运达检测单位。

2.9 采样记录 采样时,需保留影像资料,填写《现场采样记录表》(附件2),相关人员签字确认采集样品的真实性和有效性。《现场采样记录表》一式三份,一份留被抽样单位,一份由采样单位留存,一份随同样品转运至承检单位。采样后,应立即在盛装样品的容器或样品袋上贴标签,标签应符合“采样标签”要求,防止笔迹脱落或晕染。每件样品必须标记清楚,应注明被采样单位、样品编号、监测点编号、采样人和采样日期,确保样品编号的唯一性。

采样单位应将采样信息录入“国家水生动物疫病监测信息管理系统”。

采样标签

被采样单位: _____

样品编号: _____

监测点编号: _____

采样人: _____

采样时间: _____ 年 月 日

2.10 采样频次 对国家级原良种场、省级原良种场、引育种中心和近两年 WSSV 监测结果为阳性的养殖场,每年采样 2 次,且 2 次采样间隔 1 个月以上;对其他类型养殖场,每年采样 1 次~2 次,若 2 次采样,应间隔 1 个月以上。

3. 样品包装、运输和接收确认

3.1 包装 样品的包装以保证样品中核酸不发生降解,不交叉污染,不泄漏为基本原则。《现场采样记录表》用封口塑料袋封好后放置包装箱内。

3.2 运输 空运包装应符合《水产品航空运输包装通用要求》(GB/T 26544-2011)要求。运输活体样品,应用聚氯乙烯贴布革水产袋,充氧、降温运输。运输冰冻样品,应先将各样品独立装袋,连同标签密封,再集中套袋,在泡沫箱中用足量的冰、冰袋或干冰将样品塑料袋埋入,再进行合适的包装后运输。运输乙醇保存的样品,当不能带液体运输时,可用浸润 50%乙醇的吸水纸多层包裹样品,连同铅笔写的标签纸一起独立密封到小塑料袋或密封的塑料瓶或离心管中,做好外标签,多个塑料袋外裹多层吸水纸,再套入更大的塑料袋密封,尽量用低温条件装箱运输。

3.3 样品接洽 采样单位进行样品运输前与检测单位联系,确保样品的顺利接洽。空运时,提前联系航空公司,确定舱位,准备水产苗种产

地检疫证明。检测单位接到样品后,如发现样品不满足采样规范或检测方法的要求,可不予接收,并知会上级主管部门。

第二部分 实验室检测及结果报告

1. 检测

1.1 资质要求 检测单位应通过上一年度农业农村部开展的水生动物防疫系统实验室检测能力验证,或国际能力验证,或取得中国合格评定国家认可委员会认可等相应等效资质,具备 WSSV 检测资格。

1.2 样品处理 活体或冰冻幼体、仔虾,可取完整个体(去掉幼虾眼),活体或冰冻的幼虾、成虾取鳃、胃、游泳足或步足。遵循“先无临床症状样品,后有临床症状样品”的原则,剖解组织。严格杜绝处理时可能引入的潜在的交叉污染风险。检测单位需自行保存规范的检测原始记录。收到样品后,分成 N 个小样,每个小样取 30 尾虾组织等量混合,各小样均需检测。

1.3 检测方法 按照《GB/T 28630.2-2012 白斑综合征(WSD)诊断规程 第2部分:套式 PCR 检测法》进行检测和结果判定。阳性样品需逐一测序确认。

2. 检测结果报告

检测单位在接到样品后 3 周内完成检测,向委托检测单位(各省级水生动物疫控机构)提供《检测报告》,并将检测结果、阳性样品核酸序列以及其它相关信息上传至“国家水生动物疫病监测信息管理系统”。按照附件 3 的要求,编制检测报告。阳性样品处置按照《病原微生物实验室生物安全管理条例》(2018-03-19)进行。

省级水生动物疫控机构应将检测结果通知相关养殖场和县级水生动物疫控机构。检测结果为阳性时,应按照附件 4 的要求,填写《阳性检测结果报告》上报同级渔业主管部门,同时将检测结果通知相关养殖场和县级水生动物疫控机构。

3. 阳性场处置

由县级及以上渔业行政主管部门负责组织阳性场处置工作。

对检出阳性的养殖场,停止该阳性品种的水产苗种流通,发病池的养殖虾无市场价值的,捞取所有虾个体,按《SC/T 7015-2011 染疫水生动物无害化处理规程》进行无害化处理和净化,并立即对该监测点开展病原溯源工作;及时将发病情况、后续处置情况、检测报告、《染疫水生动物无害化处理记录表》(附件5)、处理现场照片或视频、处理情况概述、相关文件等上报给该辖区渔业主管部门。及时将上述信息上传至国家水生动物疫病监测信息管理系统。发病池的养殖虾有市场价值的,收捕后虾须经70℃以上加热10分钟以上才能销售;应对收捕后的水体和池塘进行消毒,同时还应对捞虾工具、操作器材和场地进行消毒。

传染性皮下和造血组织坏死病监测技术规范

第一部分 采样和阳性场处置

1. 监测点的设置

监测点(养殖场)应包括辖区内所有虾类引育种中心、国家级原良种场、省级原良种场、县级以上虾类重点苗种场、近两年内传染性皮下及造血组织坏死病毒(IHHNV)监测结果为阳性的养殖场。

纳入监测的监测点信息应填写到《监测点备案表》中(附件1)。

本规范中的监测点指需要监测的独立的流行病学单元。

2. 采样

2.1 准备 采样单位提前2周与监测点以及检测单位取得联系并确定采样和送样的时间;确定采样人员和车辆;准备《现场采样记录表》(附件2)、苗种专用袋或聚氯乙烯贴布革水产袋、扎口用尼龙绳或橡皮筋、小型氧气罐、塑料袋、工作服、95%酒精、解剖刀片、牙签、平皿、直尺、电子称、一次性手套、鞋套、温度计、消毒液、标签纸、记号笔、相机等。空运样品(苗种)应准备检疫证明。

2.2 人员 采样人员须通过省级及以上水生动物疫病研究机构、预防控制机构或水产技术推广机构组织的采样技术培训,或具备采样必须的技术能力,掌握疫病相关专业知识。

2.3 采样对象 养殖虾类。若一个监测点养殖多种虾类,则每个种类作为不同样品进行分别采样,所有种类均需采样。

2.4 采样水温 不限,但需准确测量并记录采样时池塘的水温,精确到0.5℃。

2.5 采样规格 以实际采样时的样品规格为准,应准确记录样品的生物学体长(眼柄基部至尾节末端)和日龄(变态为仔虾后的天数,如所

放苗为P_n苗,放苗m天,则日龄为n+m)。采集样品分虾苗、养成期虾和亲虾。虾苗只采集仔虾期样品;亲虾采集发病虾、濒死虾或附肢。

2.6 采样数量 每个监测点优先采集具有临床症状的个体,如:生长缓慢、体型畸形,稚虾群体体长普遍偏小,且个体之间体长差异大,额角弯曲,变形,触角鞭毛皱起,表皮粗糙或残缺等,数量30尾以内;无临床症状时,随机采150尾。

2.7 采样 1)育苗车间随机采集的孵化池(缸)数量不少于10个,共采集150尾作为一个样。如果孵化池(缸、环道)数量小于或等于10个,则每个孵化池(缸、环道)都要采集。2)若监测点设立的池塘、水泥池或露天养殖池等养殖单元数量多于10个,随机选择其中10个养殖单元,共采集150尾作为一个样;如果养殖单元的数量小于或等于10个,则每个养殖单元都要采集。

2.8 采样形式 1)活体样品:直接将活虾以合适的密度置于充氧的苗种袋中,12 h内运达检测单位;2)非活体样品:a)24 h内可运达检测单位时,完整个体可直接置于干冰或-20℃以下保存;24 h内无法运达检测单位时,完整个体直接置于-20℃以下,冰冻24 h;或先浸泡于3倍样品体积的95%~100%乙醇后再置于-20℃以下保存。5个工作日内,低温运达检测单位。

2.9 采样记录 采样时,需保留影像资料,填写《现场采样记录表》(附件2),相关人员签字确认采集样品的真实性和有效性。《现场采样记录表》一式三份,一份留被抽样单位,一份由采样单位留存,一份随同样品转运至承检单位。采样后,应立即在盛装样品的容器或样品袋上贴标签,标签应符合“采样标签”要求,防止笔迹脱落或晕染。每件样品必须标记清楚,应注明被采样单位、样品编号、监测点编号、采样人和采样日期,确保样品编号的唯一性。

采样单位应将采样信息录入“国家水生动物疫病监测信息管理系统”。

采样标签

被采样单位: _____

样品编号: _____

监测点编号: _____

采样人: _____

采样时间: _____ 年 月 日

2.10 采样频次 对国家级原良种场、省级原良种场、引育种中心和近两年 IHNV 监测结果为阳性的养殖场,每年采样2次,且2次采样间隔1个月以上;对其他类型养殖场,每年采样1次~2次,若2次采样,应间隔1个月以上。

3. 样品包装、运输和接收确认

3.1 包装 样品的包装以保证样品中核酸不发生降解,不交叉污染,不泄漏为基本原则。《现场采样记录表》用封口塑料袋封好后放置包装箱内。

3.2 运输 空运包装应符合《水产品航空运输包装通用要求》(GB/T 26544-2011)要求。运输活体样品,应用聚氯乙烯贴布革水产袋,充氧、降温运输。运输冰冻样品,应先将各样品独立装袋,连同标签密封,再集中套袋,在泡沫箱中用足量的冰、冰袋或干冰将样品塑料袋埋入,再进行合适的包装后运输。运输乙醇保存的样品,当不能带液体运输时,可用浸润50%乙醇的吸水纸多层包裹样品,连同铅笔写的标签纸一起独立密封到小塑料袋或密封的塑料瓶或离心管中,做好外标签,多个塑料袋外裹多层吸水纸,再套入更大的塑料袋密封,尽量用低温条件装箱运输。

3.3 样品接洽 采样单位进行样品运输前与检测单位联系,确保样品的顺利接洽。空运时,提前联系航空公司,确定舱位,准备水产苗种产地检疫证明。检测单位接到样品后,如发现样品不满足采样规范或检测方法的要求,可不予接收,并知会上级主管部门。

第二部分 实验室检测及结果报告

1. 检测

1.1 资质要求 检测单位应通过上一年度农业农村部开展的水生动物防疫系统实验室检测能力验证,或国际能力验证,或取得中国合格评定国家认可委员会认可等相应等效资质,具备 **IHHNV** 检测资格。

1.2 样品处理 活体或冰冻幼体、仔虾,可取完整个体(去掉幼虾眼),活体或冰冻的幼虾、成虾取鳃、胃、游泳足、步足、上皮、造血组织、淋巴器官、触角腺等。遵循“先无临床症状样品,后有临床症状样品”的原则,剖解组织。严格杜绝处理时可能引入的潜在的交叉污染风险。检测单位需自行保存规范的检测原始记录。收到样品后,分成 **N** 个小样,每个小样取 **30** 尾虾组织等量混合,各小样均需检测。

1.3 检测方法 按照《**GB/T 25878-2010** 对虾传染性皮下及造血组织坏死病毒(**IHHNV**)检测 **PCR** 法》和《**OIE** 水生动物疾病诊断实验手册》(2019)第 2.2.4 章 4.3.1.2.3.4. 条中引物 **389F/R**、**309F/R** 同时检测,复核判断。应注意:根据《**OIE** 水生动物疾病诊断实验手册》(2019)修订,引物 **389F/R** 进行 **PCR** 的退火温度从 **55℃** 提高到了 **60℃**,以降低非特异性扩增。阳性样品需逐一测序确认。

2. 检测结果报告

检测单位在接到样品后 **3** 周内完成检测,向委托检测单位(各省级水生动物疫控机构)提供《检测报告》,并将检测结果、阳性样品核酸序列以及其它相关信息上传至“国家水生动物疫病监测信息管理系统”。按照附件 3 的要求,编制检测报告。阳性样品处置按照《病原微生物实验室生物安全管理条例》(2018-03-19)进行。

省级水生动物疫控机构应将检测结果通知相关养殖场和县级水生动物疫控机构。检测结果为阳性时,应按照附件 4 的要求,填写《阳性检测结果报告》上报同级渔业主管部门,同时将检测结果通知相关养殖场

和县级水生动物疫控机构。

3. 阳性场处置

由县级及以上渔业行政主管部门负责组织阳性场处置工作。

对检出阳性的养殖场,停止该阳性品种的水产苗种流通,发病池的养殖虾无市场价值的,捞取所有虾个体,按《SC/T 7015-2011 染疫水生动物无害化处理规程》进行无害化处理和净化,并立即对该监测点开展病原溯源工作;及时将发病情况、后续处置情况、检测报告、《染疫水生动物无害化处理记录表》(附件5)、处理现场照片或视频、处理情况概述、相关文件等上报给该辖区渔业主管部门。及时将上述信息上传至国家水生动物疫病监测信息管理系统。发病池的养殖虾有市场价值的,收捕后虾须经70℃以上加热10分钟以上才能销售;应对收捕后的水体和池塘进行消毒,同时还应对捞虾工具、操作器材和场地进行消毒。

虾虹彩病毒病监测技术规范

第一部分 采样和阳性场处置

1. 监测点的设置

监测点(养殖场)应包括辖区内所有虾类引育种中心、国家级原良种场、省级原良种场、县级以上虾类重点苗种场,存在突发疫情及近两年内十足目虹彩病毒 1(DIV1)监测结果为阳性的养殖场。

纳入监测的监测点信息应填写到《监测点备案表》中(附件1)。

本规范中的监测点指需要监测的独立的流行病学单元。

2. 采样

2.1 准备 采样单位提前2周与监测点以及检测单位取得联系并确定采样和送样的时间;确定采样人员和车辆;准备《现场采样记录表》(附件2)、苗种专用袋或聚氯乙烯贴布革水产袋、扎口用尼龙绳或橡皮筋、小型氧气罐、塑料袋、工作服、95%酒精、解剖刀片、牙签、平皿、直尺、电子称、一次性手套、鞋套、温度计、消毒液、标签纸、记号笔、相机等。空运样品(苗种)应准备检疫证明。

2.2 人员 采样人员须通过省级及以上水生动物疫病研究机构、预防控制机构或水产技术推广机构组织的采样技术培训,或具备采样必须的技术能力,掌握疫病相关专业知

2.3 采样对象 养殖虾类。一个监测点若养殖多种虾类,则每个种类作为不同样品进行分别采样,所有种类均需采样。

2.4 采样水温 不限,但需准确测量并记录采样时池塘的水温,精确到0.5℃。

2.5 采样规格 以实际采样时的样品规格为准,应准确记录样品的生物学体长(眼柄基部至尾节末端)和日龄(变态为仔虾后的天数,如所

放苗为Pn苗,放苗m天,则日龄为n+m)。采集样品分虾苗、养成期虾和亲虾。其中,虾苗只采集仔虾期样品;亲虾采集发病虾、濒死虾或血淋巴、附肢、鳃丝。

2.6 采样数量 每个监测点优先采集具有临床症状的个体,如:肝胰腺色浅、空肠空胃、部分体色发红、壳软、停止摄食、活力下降等症状,濒死个体失去游动能力,沉入池底等,数量不少于30尾;无临床症状时,随机采150尾。

2.7 采样 1)育苗车间随机采集的孵化池(缸)数量不少于10个,共采集150尾作为一个样。如果孵化池(缸、环道)数量小于或等于10个,则每个孵化池(缸、环道)都要采集。2)若监测点设立的池塘、水泥池或露天养殖池等养殖单元数量多于10个,随机选择其中10个养殖单元,共采集150尾作为一个样;如果养殖单元的数量小于或等于10个,则每个养殖单元都要采集。

2.8 采样形式 1)活体样品:直接将活虾以合适的密度置于充氧的苗种袋中,12 h内运达检测单位;2)非活体样品:a)24 h内可运达检测单位时,完整个体可直接置于干冰或-20℃以下保存;24 h内无法运达检测单位时,完整个体直接置于-20℃以下,冰冻24 h;或先浸泡于3倍样品体积的95%~100%乙醇后再置于-20℃以下保存。5个工作日内,低温运达检测单位。

2.9 采样记录 采样时,需保留影像资料,填写《现场采样记录表》(附件2),相关人员签字确认采集样品的真实性和有效性。《现场采样记录表》一式三份,一份留被抽样单位,一份由采样单位留存,一份随同样品转运至承检单位。采样后,应立即在盛装样品的容器或样品袋上贴标签,标签应符合“采样标签”要求,防止笔迹脱落或晕染。每件样品必须标记清楚,应注明被采样单位、样品编号、监测点编号、采样人和采样日期,确保样品编号的唯一性。

采样单位应将采样信息录入“国家水生动物疫病监测信息管理系统”。

采样标签

被采样单位: _____

样品编号: _____

监测点编号: _____

采样人: _____

采样时间: _____ 年 月 日

2.10 采样频次 对国家级原良种场、省级原良种场、引育种中心和近两年DIV1监测结果为阳性的养殖场,每年采样2次,且2次采样间隔1个月以上;对其他类型养殖场,每年采样1次~2次,若2次采样,应间隔1个月以上。

3. 样品包装、运输和接收确认

3.1 包装 样品的包装以保证样品中核酸不发生降解,不交叉污染,不泄漏为基本原则。《现场采样记录表》采用封口塑料袋封好后放置包装箱内。

3.2 运输 空运包装应符合《水产品航空运输包装通用要求》(GB/T 26544-2011)要求。运输活体样品,应用聚氯乙烯贴布革水产袋,充氧、降温运输。运输冰冻样品,应先将各样品独立装袋,连同标签密封,再集中套袋,在泡沫箱中用足量的冰、冰袋或干冰将样品塑料袋埋入,再进行合适的包装后运输。运输乙醇保存的样品,当不能带液体运输时,可用浸润50%乙醇的吸水纸多层包裹样品,连同铅笔写的标签纸一起独立密封到小塑料袋或密封的塑料瓶或离心管中,做好外标签,多个塑料袋外裹多层吸水纸,再套入更大的塑料袋密封,尽量用低温条件装箱运输。

3.3 样品接洽 采样单位进行样品运输前与检测单位联系,确保样品的顺利接洽。空运时,提前联系航空公司,确定舱位,准备水产苗种产地检疫证明。检测单位接到样品后,如发现样品不满足采样规范或检测

方法的要求,可不予接收,并知会上级主管部门。

第二部分 实验室检测及结果报告

1. 检测

1.1 资质要求 检测单位应通过上一年度农业农村部开展的水生动物防疫系统实验室检测能力验证,或国际能力验证,或取得中国合格评定国家认可委员会认可等相应等效资质,具备DIV1检测资格。

1.2 样品处理 活体或冰冻幼体、仔虾,可取完整个体(去掉幼虾眼),活体或冰冻的幼虾、成虾取肝胰腺、附肢、血淋巴等。遵循“先无临床症状样品,后有临床症状样品”的原则,剖解组织。严格杜绝处理时可能引入的潜在的交叉污染风险。检测单位需自行保存规范的检测原始记录。收到样品后,分成N个小样,每个小样取30尾虾组织等量混合,各小样均需检测。

1.3 检测方法 按照《SC/T 7237-2020 虾虹彩病毒病诊断规程》进行检测和结果判定。阳性样品需逐一测序确认。

2. 检测结果报告

检测单位在接到样品后3周内完成检测,向委托检测单位(各省级水生动物疫控机构)提供《检测报告》,并将检测结果、阳性样品核酸序列以及其它相关信息上传至“国家水生动物疫病监测信息管理系统”。按照附件3的要求,编制检测报告。阳性样品处置按照《病原微生物实验室生物安全管理条例》(2018-03-19)进行。

省级水生动物疫控机构应将检测结果通知相关养殖场和县级水生动物疫控机构。检测结果为阳性时,应按照附件4的要求,填写《阳性检测结果报告》上报同级渔业主管部门,同时将检测结果通知相关养殖场和县级水生动物疫控机构。

3. 阳性场处置

由县级及以上渔业行政主管部门负责组织阳性场处置工作。

对检出阳性的养殖场,停止该阳性品种的水产苗种流通,发病池的养殖虾无市场价值的,捞取所有虾个体,按《SC/T 7015-2011 染疫水生动物无害化处理规程》进行无害化处理和净化,并立即对该监测点开展病原溯源工作;及时将发病情况、后续处置情况、检测报告、《染疫水生动物无害化处理记录表》(附件5)、处理现场照片或视频、处理情况概述、相关文件等上报给该辖区渔业主管部门。及时将上述信息上传至国家水生动物疫病监测信息管理系统。发病池的养殖虾有市场价值的,收捕后虾须经70℃以上加热10分钟以上才能销售;应对收捕后的水体和池塘进行消毒,同时还应对捞虾工具、操作器材和场地进行消毒。

急性肝胰腺坏死病监测技术规范

第一部分 采样和阳性场处置

1. 监测点的设置

监测点(养殖场)应包括辖区内所有虾类引育种中心、国家级原良种场、省级原良种场、县级以上虾类重点苗种场、近两年内急性肝胰腺坏死病(AHPND)致病病原监测结果为阳性的养殖场。

纳入监测的监测点信息应填写到《监测点备案表》中(附件1)。

本规范中的监测点指需要监测的独立的流行病学单元。

2. 采样

2.1 准备 采样单位提前2周与监测点以及检测单位取得联系并确定采样和送样的时间;确定采样人员和车辆;准备《现场采样记录表》(附件2)、苗种专用袋或聚氯乙烯贴布革水产袋、扎口用尼龙绳或橡皮筋、小型氧气罐、塑料袋、工作服、95%酒精、解剖刀片、牙签、平皿、直尺、电子称、一次性手套、鞋套、温度计、消毒液、标签纸、记号笔、相机等。空运样品(苗种)应准备有相关检疫证明。

2.2 人员 采样人员须通过过省级及以上水生动物疫病研究机构、预防控制机构或水产技术推广机构组织的采样技术培训,或具备采样必须的技术能力,掌握疫病相关专业知

2.3 采样对象 养殖虾类,优先采集凡纳滨对虾和斑节对虾。一个监测点若养殖多种虾类,则每个种类作为不同样品进行分别采样,所有种类均需采样。

2.4 采样水温 20℃~32℃。应准确测量并记录采样时池塘的水温,精确到0.5℃。

2.5 采样规格 优先采集体长在3cm以下对虾。采样时,准确记录

实际样品的生物学体长(眼柄基部至尾节末端)和日龄(变态为仔虾后的天数,如所放苗为P_n苗,放苗m天,则日龄为n+m)。样品规格可分为苗种、养成期虾和亲虾。其中,虾苗只采集仔虾期样品;亲虾采集发病虾、濒死虾或粪便样品。

2.6 采样数量 每个监测点优先采集具有临床症状的个体,如:死亡、肝胰腺颜色变浅或发白、萎缩变小,表面常见黑色斑点和条纹且不易用手指捏破。甲壳发软,空肠空胃或肠道内食物不连续等,数量不少于30尾;无临床症状时,随机采150尾。

2.7 采样实施 1)育苗车间随机采集的孵化池(缸)数量不少于10个,共采集150尾作为一个样。如果孵化池(缸、环道)数量小于或等于10个,则每个孵化池(缸、环道)都要采集。2)若监测点设立的池塘、水泥池或露天养殖池等养殖单元数量多于10个,随机选择其中10个养殖单元,共采集150尾作为一个样;如果养殖单元的数量小于或等于10个,则每个养殖单元都要采集。

2.8 采样形式 1)活体样品:直接将活虾以合适的密度置于充氧的苗种袋中,12 h内运达检测单位;2)非活体样品:a)24 h内可运达检测单位时,完整个体可直接置于干冰或-20℃以下保存;24 h内无法运达检测单位时,完整个体直接置于-20℃以下,冰冻24 h;或先浸泡于3倍样品体积的95%~100%乙醇后再置于-20℃以下保存。5个工作日内,低温运达检测单位。

2.9 采样记录 采样时,需保留影像资料,填写《现场采样记录表》(附件2),相关人员签字确认采集样品的真实性和有效性。《现场采样记录表》一式三份,一份留被抽样单位,一份由采样单位留存,一份随同样品转运至承检单位。采样后,应立即在盛装样品的容器或样品袋上贴标签,标签应符合“采样标签”要求,防止笔迹脱落或晕染。每件样品必须标记清楚,应注明被采样单位、样品编号、监测点编号、采样人和采样日期,确保样品编号的唯一性。

采样单位应将采样信息录入“国家水生动物疫病监测信息管理系统”。

采样标签	
被采样单位:	_____
样品编号:	_____
监测点编号:	_____
采样人:	_____
采样时间:	_____年 月 日

2.10 采样频次 对国家级原良种场、省级原良种场、引育种中心和近两年 AHPND 致病病原监测结果为阳性的养殖场,每年采样 2 次,且 2 次采样间隔 1 个月以上;对其他类型养殖场,每年采样 1 次~2 次,若 2 次采样,应间隔 1 个月以上。

3. 样品包装、运输和接收确认

3.1 包装 样品的包装以保证样品中核酸不发生降解,不交叉污染,不泄漏为基本原则。《现场采样记录表》采用封口塑料袋封好后放置包装箱内。

3.2 运输 空运包装应符合《水产品航空运输包装通用要求》(GB/T 26544-2011)要求。运输活体样品,应用聚氯乙烯贴布革水产袋,充氧、降温运输。运输冰冻样品,应先将各样品独立装袋,连同标签密封,再集中套袋,在泡沫箱中用足量的冰、冰袋或干冰将样品塑料袋埋入,再进行合适的包装后运输。运输乙醇保存的样品,当不能带液体运输时,可用浸润 50%乙醇的吸水纸多层包裹样品,连同铅笔写的标签纸一起独立密封到小塑料袋或密封的塑料瓶或离心管中,做好外标签,多个塑料袋外裹多层吸水纸,再套入更大的塑料袋密封,尽量用低温条件装箱运输。

3.3 样品接洽 采样单位进行样品运输前与检测单位联系,确保样品的顺利接洽。空运时,提前联系航空公司,确定舱位,准备水产苗种产地检疫证明。检测单位接到样品后,如发现样品不满足采样规范或检测方法的要求,可不予接收,并知会上级主管部门。

第二部分 实验室检测及结果报告

1. 检测

1.1 资质要求 检测单位应通过上一年度农业农村部开展的水生动物防疫系统实验室检测能力验证,或国际能力验证,或取得中国合格评定国家认可委员会认可等相应等效资质,具备 AHPND 病原检测资格。

1.2 样品处理 活体或冰冻幼体、仔虾,可取完整个体(去掉虾眼),活体或冰冻的幼虾及成虾取与肠道关联的组织和器官,肝胰腺、胃、中肠及后肠。遵循“先无临床症状样品,后有临床症状样品”的原则,剖解组织。严格杜绝处理时可能引入的潜在的交叉污染风险。检测单位需自行保存规范的检测原始记录。收到样品后,分成N个小样,每个小样取30尾虾组织等量混合,各小样均需检测。

1.3 检测方法 检测单位按 SC/T 7233《急性肝胰腺坏死病诊断规程》10.1~10.3的要求进行检测和结果判定。阳性样品需逐一测序确认。

2. 检测结果报告

检测单位在接到样品后3周内完成检测,向委托检测单位(各省级水生动物疫控机构)提供《检测报告》,并将检测结果、阳性样品核酸序列以及其它相关信息上传至“国家水生动物疫病监测信息管理系统”。按照附件3的要求,编制检测报告。阳性样品处置按照《病原微生物实验室生物安全管理条例》(2018-03-19)进行。

省级水生动物疫控机构应将检测结果通知相关养殖场和县级水生动物疫控机构。检测结果为阳性时,应按照附件4的要求,填写《阳性检测结果报告》上报同级渔业主管部门,同时将检测结果通知相关养殖场

和县级水生动物疫控机构。

3. 阳性场处置

由县级及以上渔业行政主管部门负责组织阳性场处置工作。

对检出阳性的养殖场,停止该阳性品种的水产苗种流通,发病池的养殖虾无市场价值的,捞取所有虾个体,按《SC/T 7015-2011 染疫水生动物无害化处理规程》进行无害化处理和净化,并立即对该监测点开展病原溯源工作;及时将发病情况、后续处置情况、检测报告、《染疫水生动物无害化处理记录表》(附件5)、处理现场照片或视频、处理情况概述、相关文件等上报给该辖区渔业主管部门。及时将上述信息上传至国家水生动物疫病监测信息管理系统。发病池的养殖虾有市场价值的,收捕后虾须经70℃以上加热10分钟以上才能销售;应对收捕后的水体和池塘进行消毒,同时还应对捞虾工具、操作器材和场地进行消毒。

虾肝肠胞虫病监测技术规范

第一部分 采样和阳性场处置

1. 监测点的设置

监测点(养殖场)应包括辖区内所有虾类引育种中心、国家级原良种场、省级原良种场、县级以上虾类重点苗种场、近两年内虾肝肠胞虫(EHP)监测结果为阳性的养殖场。

纳入监测的监测点信息应填写到《监测点备案表》中(附件1)。

本规范中的监测点指需要监测的独立的流行病学单元。

2. 采样

2.1 准备 采样单位提前2周与监测点以及检测单位取得联系并确定采样和送样的时间;确定采样人员和车辆;准备《现场采样记录表》(附件2)、苗种专用袋或聚氯乙烯贴布革水产袋、扎口用尼龙绳或橡皮筋、小型氧气罐、塑料袋、工作服、95%酒精、解剖刀片、牙签、平皿、直尺、电子称、一次性手套、鞋套、温度计、消毒液、标签纸、记号笔、相机等。空运样品(苗种)应准备有相关检疫证明。

2.2 人员 采样人员须通过省级及以上水生动物疫病研究机构、预防控制机构或水产技术推广机构组织的采样技术培训,或具备采样必须的技术能力,掌握疫病相关专业知识。

2.3 采样对象 养殖虾类。一个监测点若养殖多种虾类,则每个种类作为不同样品进行分别采样,所有种类均需采样。

2.4 采样水温 不限,但需准确测量并记录采样时池塘的水温,精确到0.5℃。

2.5 采样规格 以实际采样时的样品规格为准,应准确记录样品的生物学体长(眼柄基部至尾节末端)和日龄(变态为仔虾后的天数,如所

放苗为P_n苗,放苗m天,则日龄为n+m)。采集样品分虾苗、养成期虾和亲虾。其中,虾苗只采集仔虾期样品;亲虾采集发病虾、濒死虾或粪便。

2.6 采样数量 每个监测点优先采集具有临床症状的个体,如:生长停滞、体节消瘦、体长偏小以及肝胰腺颜色偏深等临床症状的个体,数量不少于30尾;无临床症状时,随机采150尾。

2.7 采样 1)育苗车间随机采集的孵化池(缸)数量不少于10个,共采集150尾作为一个样。如果孵化池(缸、环道)数量小于或等于10个,则每个孵化池(缸、环道)都要采集。2)若监测点设立的池塘、水泥池或露天养殖池等养殖单元数量多于10个,随机选择其中10个养殖单元,共采集150尾作为一个样;如果养殖单元的数量小于或等于10个,则每个养殖单元都要采集。

2.8 采样形式 1)活体样品:直接将活虾以合适的密度置于充氧的苗种袋中,12 h内运达检测单位;2)非活体样品:a)24 h内可运达检测单位时,完整个体可直接置于干冰或-20℃以下保存;24 h内无法运达检测单位时,完整个体直接置于-20℃以下,冰冻24 h;或先浸泡于3倍样品体积的95%~100%乙醇后再置于-20℃以下保存。5个工作日内,低温运达检测单位。

2.9 采样记录 采样时,需保留影像资料,填写《现场采样记录表》(附件2),相关人员签字确认采集样品的真实性和有效性。《现场采样记录表》一式三份,一份留被抽样单位,一份由采样单位留存,一份随同样品转运至承检单位。采样后,应立即在盛装样品的容器或样品袋上贴标签,标签应符合“采样标签”要求,防止笔迹脱落或晕染。每件样品必须标记清楚,应注明被采样单位、样品编号、监测点编号、采样人和采样日期,确保样品编号的唯一性。

采样单位应将采样信息录入“国家水生动物疫病监测信息管理系统”。

采样标签

被采样单位: _____

样品编号: _____

监测点编号: _____

采样人: _____

采样时间: _____ 年 月 日

2.10 采样频次 对国家级原良种场、省级原良种场、引育种中心和近两年 EHP 监测结果为阳性的养殖场,每年采样 2 次,且 2 次采样间隔 1 个月以上;对其他类型养殖场,每年采样 1 次~2 次,若 2 次采样,应间隔 1 个月以上。

3. 样品包装、运输和接收确认

3.1 包装 样品的包装以保证样品中核酸不发生降解,不交叉污染,不泄漏为基本原则。《现场采样记录表》采用封口塑料袋封好后放置包装箱内。

3.2 运输 空运包装应符合《水产品航空运输包装通用要求》(GB/T 26544-2011)要求。运输活体样品,应用聚氯乙烯贴布革水产袋,充氧、降温运输。运输冰冻样品,应先将各样品独立装袋,连同标签密封,再集中套袋,在泡沫箱中用足量的冰、冰袋或干冰将样品塑料袋埋入,再进行合适的包装后运输。运输乙醇保存的样品,当不能带液体运输时,可用浸润 50%乙醇的吸水纸多层包裹样品,连同铅笔写的标签纸一起独立密封到小塑料袋或密封的塑料瓶或离心管中,做好外标签,多个塑料袋外裹多层吸水纸,再套入更大的塑料袋密封,尽量用低温条件装箱运输。

3.3 样品接洽 采样单位进行样品运输前与检测单位联系,确保样品的顺利接洽。空运时,提前联系航空公司,确定舱位,准备水产苗种产地检疫证明。检测单位接到样品后,如发现样品不满足采样规范或检测

方法的要求,可不予接收,并知会上级主管部门。

第二部分 实验室检测及结果报告

1. 检测

1.1 资质要求 检测单位应通过上一年度农业农村部开展的水生动物防疫系统实验室检测能力验证,或国际能力验证,或取得中国合格评定国家认可委员会认可等相应等效资质,具备EHP检测资格。

1.2 样品处理 活体或冰冻幼体、仔虾,可取完整个体(去掉幼虾眼),活体或冰冻的幼虾、成虾取肝胰腺和前肠。遵循“先无临床症状样品,后有临床症状样品”的原则,剖解组织。严格杜绝处理时可能引入的潜在的交叉污染风险。检测单位需自行保存规范的检测原始记录。收到样品后,分成N个小样,每个小样取30尾虾组织等量混合,各小样均需检测。

1.3 检测方法 按照《SC/T 7232-2020 虾肝肠胞虫病诊断规程》进行检测和结果判定。阳性样品需逐一测序确认。

2. 检测结果报告

检测单位在接到样品后3周内完成检测,向委托检测单位(各省级水生动物疫控机构)提供《检测报告》,并将检测结果、阳性样品核酸序列以及其它相关信息上传至“国家水生动物疫病监测信息管理系统”。按照附件3的要求,编制检测报告。阳性样品处置按照《病原微生物实验室生物安全管理条例》(2018-03-19)进行。

省级水生动物疫控机构应将检测结果通知相关养殖场和县级水生动物疫控机构。检测结果为阳性时,应按照附件4的要求,填写《阳性检测结果报告》上报同级渔业主管部门,同时将检测结果通知相关养殖场和县级水生动物疫控机构。

3. 阳性场处置

由县级及以上渔业行政主管部门负责组织阳性场处置工作。

对检出阳性的养殖场,停止该阳性品种的水产苗种流通,发病池的养殖虾无市场价值的,捞取所有虾个体,按《SC/T 7015-2011 染疫水生动物无害化处理规程》进行无害化处理和净化,并立即对该监测点开展病原溯源工作;及时将发病情况、后续处置情况、检测报告、《染疫水生动物无害化处理记录表》(附件5)、处理现场照片或视频、处理情况概述、相关文件等上报给该辖区渔业主管部门。及时将上述信息上传至国家水生动物疫病监测信息管理系统。发病池的养殖虾有市场价值的,收捕后虾须经70℃以上加热10分钟以上才能销售;应对收捕后的水体和池塘进行消毒,同时还应对捞虾工具、操作器材和场地进行消毒。

附件 1

监测点备案表

_____省(区、市) _____病

监测点地址			
监测点名称		联系人	
		电 话	
监测点 基本信息	监测点类型	<input type="checkbox"/> 国家级原良种场; <input type="checkbox"/> 省级原良种场; <input type="checkbox"/> 苗种场; <input type="checkbox"/> 成虾养殖场; <input type="checkbox"/> 引育种中心;	
	养殖品种		
	监测品种		
养殖 基本信息	养殖条件	<input type="checkbox"/> 海水; <input type="checkbox"/> 淡水; <input type="checkbox"/> 半咸水	
	养殖模式	<input type="checkbox"/> 工厂化; <input type="checkbox"/> 池塘; <input type="checkbox"/> 稻虾共养; <input type="checkbox"/> 其他	
	养殖场水源	<input type="checkbox"/> 海水; <input type="checkbox"/> 湖水; <input type="checkbox"/> 河水; <input type="checkbox"/> 地下水; <input type="checkbox"/> 其他	
	进排水系统	<input type="checkbox"/> 独立; <input type="checkbox"/> 不独立; <input type="checkbox"/> 无	
	苗种来源	<input type="checkbox"/> 自繁; <input type="checkbox"/> 外购	

填报单位负责人:

(单位公章)

年 月 日

现场采样记录表

_____病

监测点	名称					监测点编号		
	通讯地址					邮 编		
	联系人					电 话		
采样单位	名称							
	通讯地址					邮 编		
	联系人					电 话		
样品信息	样品名称					采样编号		
	个体数量					个体规格		
	个体状态	<input type="checkbox"/> 无病症； <input type="checkbox"/> 有病症； <input type="checkbox"/> 濒死； <input type="checkbox"/> 死亡； <input type="checkbox"/> 变质						
	保存方式	<input type="checkbox"/> 活虾； <input type="checkbox"/> 冰冻； <input type="checkbox"/> 酒精； <input type="checkbox"/> 其他						
	采样时 虾池状况	水温℃		盐度		健康状况	<input type="checkbox"/> 健康； <input type="checkbox"/> 发病； <input type="checkbox"/> 死亡	
监测点签署	本次采样始终在本人授权下完成，上述记录经核实无误，确认以上各项记录的准确性。 负责人签字： 年 月 日				采样单位签署	本次采样已按要求及产品标准执行完毕，样品经双方人员共同封样，并做记录如上。 采样人签字： 年 月 日		

检测报告

[报告编号、报告版次、页码]

(可选)声明:

1. 本检测报告经批准人、审核人、编制人签字并加盖本单位检测专用章后生效。
2. 未经本单位书面批准,不得复制本报告。
3. 委托检测结果仅对收到样品负责。
4. 对检测报告如有异议,请在收到报告之日起十五日内向本单位提出,逾期不予受理。

1. 委托单位

单位名称:

单位地址:

2. 样品信息

监测点名称:

监测点地址:

样品名称:

采样日期:

样品规格:

样品数量:

注:“监测点名称”、“监测点地址”、“采样日期”及样品品种信息均由委托检测单位提供。

3. 检测信息

收样日期:

检测日期:

检测项目及方法:

4. 检测结果:

(可选)*注:测序工作分包给****公司进行。

编制:

编制日期:

审核:

审核日期:

检测机构章

签发:

签发日期:

年 月 日

附件4

阳性检测结果报告

(渔业行政主管部门名称): _____

我省××养殖场,由××实验室,检出××疫病病原阳性,该疫病为××类疫病(或近年国内新发疫病);详见下表。

特此报告。

(疫控机构名称) _____

负责人签字:

年 月 日

阳性 养殖 场信息	监测点名称及地址	市 县 镇 村 养殖场		
	监测点联系人		联系电话	
	监测点类型	<input type="checkbox"/> 国家级原良种场 <input type="checkbox"/> 引育种中心 <input type="checkbox"/> 省级原良种场 <input type="checkbox"/> 苗种场 <input type="checkbox"/> 成虾养殖场		
	养殖品种		养殖方式	
	养殖面积(亩)		采样时间	年 月 日
发病 情况	有无临床症状	有 <input type="checkbox"/> 无 <input type="checkbox"/>		
	发病概况 (有临床症状 的填写)	发病面积(亩)		
		死亡情况(按尾数测算)(%)		
	经济损失(元)			

附件5

染疫水生动物无害化处理记录表

养殖场名称: _____ 塘口编号: _____ No. _____

染疫水生动物	品 种			面积, m ²	
	规格 (cm)		数量 (kg)		
	处理方法				
染疫水体	水深 (m)		水体 (m ³)		
	消毒剂种类		用 量		
	第一次消毒时间		消毒方法		
	第二次消毒时间		消毒方法		
	消毒后处理		排放时间		
使用工具	工具名称				
	消毒剂种类		浓 度		
	浸泡时间		销毁与否	<input type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 否	
备注					
实施人			证明人		

日期: 年 月 日