



中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 3584—2013

草鱼出血病检疫技术规范

Quarantine protocol for hemorrhagic disease of grass carp

2013-08-30 发布

2014-03-01 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。

本标准参考了亚太地区水产养殖网络中心(NACA)的疾病诊断卡《Disease card》中的《草鱼出血病(Hemorrhagic disease of grass carp)》。采用了诊断卡中推荐的细胞培养分离、RT-PCR 方法,具体细化了 ELISA 方法,并增加了直接通过电泳观察病毒核酸带的方法。

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、中华人民共和国北京出入境检验检疫局、中华人民共和国湖南出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:江育林、梦芳、张永宁、王娜、张利峰、高隆英、景宏丽、唐连飞、张旻。

草鱼出血病检疫技术规范

1 范围

本标准规定了草鱼出血病的实验室的检测方法。

本标准适用于草鱼出血病病原的鉴定,用于流行病学调查、诊断、检疫和监测。

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

3 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

CO:草鱼卵巢细胞系(Grass carp ovary cell line)

CIK:草鱼肾细胞系(Grass carp kidney cell line)

CPE:细胞病变效应(Cytopathic effect)

EB:溴化乙锭(Ethidium bromide)

DEPC:焦碳酸二乙酯(Diethylpyrocarbonate)

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

ELISA:酶联免疫试验(Enzyme-linked immunosorbent assay)

PAGE:聚丙烯酰胺凝胶电泳(polyacrylamide gel electrophoresis)

HEPES: N-2-Hydroxyethylpiperazine-N-2-ethanesulphonic acid

TMB:四甲基联苯胺(3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine)

OPD:邻苯二胺(O-Phenylenediamine Dihydrochloride)

SDS:十二烷基磺酸钠(Sodium dodecylsulfate)

4 疾病概述

草鱼出血病(Hemorrhagic disease of grass carp)(参见附录 A)主要感染当年草鱼种和青鱼,死亡率可达80%以上。其他淡水鲤科鱼,如鲢鱼、鳙鱼、鲫鱼、鲤鱼感染后没有临床症状,但可以携带病毒到处传播。该病在水温高于20℃以上时流行,25℃~28℃为流行高峰。常见的临床症状为眼突出、体色发黑,口腔、鳃盖和鳍条基部出血。撕开表皮,可见肌肉出现点状或块状出血。剖检腹腔,可见肠道充血,肝、脾充血或因失血而发白。

病原为草鱼呼肠孤病毒(Grass carp reovirus, GCRV),是水生呼肠孤病毒属(*Aquareovirus*)的成员。病毒为直径70 nm的球形颗粒,有双层衣壳,无囊膜,含有11个片段的双链RNA。根据片段长度大小分为大(L1、L2、L3,大小在4.0 kb~3.7 kb)、中(M4、M5、M6,大小在2.5 kb~2.0 kb)、小(S7、S8、S9、S10、S11,大小在1.6 kb~1.0 kb)三组。在不同地区存在抗原性、核酸电泳图谱、对细胞的敏感