

团 体 标 准

T/**** XXXXX—2024

猪场疫病检测样品采集技术规程

Technical regulations for sample collection for pig farm disease
detection

(征求意见稿)

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

宣威火腿行业协会 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。

本文件由宣威火腿行业协会提出。

本文件由宣威火腿行业协会归口。

本文件起草单位：。

本文件主要起草人：。

猪场疫病检测样品采集技术规程

1 范围

本文件规定了猪场疫病诊断或监测时猪只剖检与样本采集技术规程。
本文件适用于生产宣威火腿用猪的养猪场。

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/T18635-2002	动物防疫基本术语
GB/T 17823-2009	集约化猪场防疫基本要求
GB/T 16569-1996	畜禽产品消毒规范
DB51/T1101-2010	生猪养殖场防疫技术管理规范
DB41/T1702-2018	猪血样与组织样品采集技能操作规范
DB51/T1075-2018	猪场废弃物处理与利用技术规范
DB51/T 1104-2010	畜禽防疫档案管理技术规程
	《中华人民共和国动物防疫法》
	《种畜禽管理条例》
	《重大动物疫情应急条例》

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本规范。

3.1 动物尸体剖检 (carcass necropsy)

动物尸体剖检是指对动物尸体各部位的组织器官进行全面系统的解剖检验，并使用文字、图像或影像等方式记录的过程。

3.2 猪前腔静脉 (porcine ventral caudal vein)

猪前腔静脉是收集头、颈、前肢和部分胸壁和腹壁血液回流入右心房的静脉干，由左右颈外静脉和左右锁骨下静脉先汇集成左右臂头静脉，然后合并形成前腔静脉。位于心前纵隔内，第一肋骨与胸骨结合处前侧的胸腔前口。

3.3 猪耳静脉 (porcine ear vein)

猪耳静脉指的是位于猪耳朵内的静脉血管，通常用于采血、注射或输液。

3.4 猪尾静脉 (porcine tail vein)

猪尾静脉指的是位于猪尾巴内的静脉血管，可用于采血和注射。

3.5 口腔液 (oral fluid)

口腔液是指动物口腔内产生的液体，主要是唾液和口腔粘膜渗出液的混合物，前者由唾液腺分泌，后者通过毛细血管穿过颊粘膜进入口腔。口腔液中同时含有病原体和抗体，因此在猪的兽医实践中，口腔液可以用于疾病诊断与监测。

4 活体样品采集

4.1 猪的保定

4.1.1 哺乳仔猪和保育猪的保定

仔猪及保育猪，可以采用单人倒提猪只保定法或者双人猪只仰卧腹部向上保定法。

4.1.2 育肥猪和种猪的保定

育肥猪和种猪，尤其是体重在20kg以上的中大猪，可以采用套猪固定器保定法。保定时要求猪的头颈部与躯干保持一条直线，使头颈与水平面呈30度左右的扬起，并充分暴露两侧胸前凹窝，保持站立状态。使用鼻捻或金属保定器套住猪的上颌骨，捻紧鼻捻圈套或收紧金属保定器圈环，向前方用力牵引，并将猪的上颌骨稍稍吊起，使猪两前肢刚好着地为度。

4.2 血液采集

可用于血常规、血液生化分析，在疾病急性感染期可以用于病原体检测，也可在发生血清转阳后用于抗体检测。

4.2.1 前腔静脉采血

找到猪的颈沟处的颅胸廓入口，对准对侧肩前胛的顶部刺入针头，使其与中位线大概成30°角，与颈线（从胸腔入口到头部的直线）成90°角。采血时猪只保定、针头扎入、注射器抽血过程中不可用力过猛，以防止猪只受到过度惊吓或应激而出现呼吸困难、发绀和抽搐等症状。

4.2.2 耳静脉采血

成年猪采用站立保定或在定位栏内限制移动，使用弹性稍弱的止血带、橡皮筋在耳朵根部周围绑定或用拇指按压，使耳静脉凸起，用手指背面轻拍耳背有助于刺激静脉凸起，其后针头斜面向上，使采血

针与静脉呈大约30°左右的角度刺入。静脉穿刺入针点应从大静脉的最远端（朝向耳尖）处开始，如果刺入失败产生血肿，仍然可以使用靠头端的静脉穿刺采样。采血后可按压止血。

4.2.3 尾静脉采血

成年猪在定位栏内限制移动，采血人员在做好个人防护的前提下站在猪正后方，将猪尾拉起垂直于地面。在尾根腹侧用酒精棉球消毒后，在第一个尾椎和第二个尾椎关节中间的位置垂直进针，回抽针管内有回血时表示位置正确，达到采血数量要求后立即拔出注射器针头，用干棉球按压止血。

4.2 口腔液采集

口腔液采集简便、无创，常作为猪栏内群体样本，适用于猪繁殖与呼吸综合征病毒等病原的病原和抗体检测。将直径在1.3cm~1.6cm之间的棉绳均匀分布悬挂于猪舍，使其末端与猪肩部同高，让猪自由咀嚼30分钟。随后，将棉绳潮湿区域剪下，放入塑料袋中挤压，使口腔液汇集一角，使用剪刀剪开塑料袋汇集液体所在角，并将收集的口腔液转移至5mL塑料管或锥形管中。可每个栏舍使用一条棉绳，单条棉绳覆盖动物不超过150头。同时，需避免棉绳受饲料、粪便和土壤等污染，以防影响检测结果。收集后若不能立即检测，需要根据运输时间和距离进行2~8℃冷藏或-20℃冷冻，运输时有条件使用干冰运输，无干冰时使用带有冰袋的保温箱运输。

4.3 鼻拭子

4.3.1 保育猪

采样员蹲下，将采样猪放在左大腿上，左手抓紧猪的上下颌，使猪嘴紧闭，同时用左臂夹紧猪体保定。右手持棉签与猪鼻中隔成45度角轻轻插入，避开鼻纵隔软骨，再转直深入鼻腔约2~3cm。轻轻旋转棉签浸湿后取出棉签。将棉签头折断在加有1mL浸液的样品管中，盖紧，用记号笔进行标记。于2~8℃保存待检。

4.3.2 育肥猪和种猪

用套猪固定器保定猪只，左手握住猪嘴，使其只能用鼻呼吸。右手用脱脂棉签采样。采样时，棉签应先朝右插入猪鼻，避开鼻纵隔软骨，再转直深入鼻腔，轻轻旋转棉签浸湿后取出棉签。将棉签头折断在加有1mL浸液的样品管中，盖紧，用记号笔进行标记。于2~8℃保存待检。

4.4 直肠拭子采集

站在猪身后，尽量避免接触猪，在猪尾翘起时迅速找到肛门，轻柔的将拭子插入到肛门内约深入3~5cm，拭子要尽量的沿着直肠壁刮擦，尽可能采集到粪便和直肠粘膜。将棉签头折断在加有1mL浸液的样品管中，盖紧，用记号笔进行标记。于2~8℃保存待检。

4.5 粪便样本采集

用灭菌纱布蘸取生理盐水和75%乙醇对肛周进行清洗，然后用灭菌的棉拭子刺激肛门排便，并准备无菌50 mL离心管收集排出的粪便。

5 剖检样品采集

5.1 体外检查

在剖开尸体之前，应先对皮肤、四肢、脐部、关节、口腔、鼻腔、眼睛、耳朵、会阴部等进行体外检查，评估并记录猪只的整体状况。应记录身体的异常或大体病变。可以评估躯体和四肢（如耳朵和四肢）是否存在变色（苍白、紫色、红色）、坏死、水肿或水疱等现象。此外，还应注意口腔、眼睛或鼻腔分泌物，眼睑水肿，粪便颜色变化，关节肿胀，创伤/骨折和疝气等异常情况。体外观察，可为后续诊断方案的规划和样品的采集提供线索。

5.2 剖检检查

5.2.1 剖检程序

剖检体型较大的成年猪时，可采取左侧卧或仰卧位；而剖检体型较小的猪通常采用仰卧位。用手按住右前肢的足部并向外展，从右下颌处切开皮肤并沿右侧肋骨切开皮肤和腋下肌肉组织，直至切离右前肢。第二个切口用同样的方法切离右后肢，即抬高并外展后肢，从右腿与腹部接合处切开皮肤，沿后腿内侧肌肉组织和髌关节囊（切断韧带）向后切至尾部外侧。垂直沿腹中线切开皮肤以及皮下结缔组织和肌肉。沿肋骨后缘切开腹腔，从胸骨沿脊柱向后，直至腹腔后缘，注意不要刺破消化道。打开腹腔时请确保不要触摸任何腹腔器官，最大程度地降低污染。

根据猪只大小和可用的工具选择一种合适的方法打开胸腔。对于幼年仔猪，可直接使用解剖刀切开肋骨和胸骨之间的软骨。如果有骨剪，也可以用骨剪在接近胸骨处沿腹腔到头部的方向将所有的肋骨逐一剪断，随后，从最后一根肋骨开始，沿脊柱向前直至胸腔口将肋骨全部剪断，同时切开肋骨后端的膈肌和胸腔口处的肌肉、血管等。

5.2.2 体表淋巴结的采集

在下颌底部和腹股沟处，分别切开皮肤和皮下脂肪和结缔组织，翻开后检查下颌淋巴结以及腹股沟淋巴结的大体病变情况，并采集新鲜的和固定的腹股沟淋巴结样本。

5.2.3 胸腔脏器采集

沿下颌骨两侧扩大切口，切至下颌骨到顶部，取出舌、气管、肺脏。将舌头从下颌处向腹侧提起，并用钝性分离法小心剥离，将肺脏和心脏拉出胸腔后在膈肌处剪断食管和血管。

依据肺脏的质地变化来判断肺部疾病和潜在疾病，当不同肺叶表现出相同病变时，采集1~2个样本；但若存在质地、颜色或外观不同的病变区域，则对每个独特的病变区域都应采集样本（新鲜样本和固定切片）。如果没有明显的大体病变，则随机采集5处肺脏样本进行组织学评价。如果出现败血症或胸膜炎，应专门采集肺部病变部位的样本。

心脏检查和采样时应首先切开心包，暴露心脏。如果心包液过多或异常，可使用注射器进行采集。可用棉签采集纤维性渗出物，检查心脏表面是否有炎症或出血。切开左右心室和室间隔检查瓣膜是否发炎以及肌肉是否出血或纤维化等，若有病变可在病灶交界处采集心脏组织。

5.2.4 腹腔脏器采集

检查腹腔时观察肠道器官的位置，确定是否发生肠扭转或器官异位。如有纤维素性渗出物，可用棉签收集，用注射器收集尿液。优先采集肝脏、脾脏、淋巴结和肾脏等实质器官的新鲜样本，再根据病变情况采取胃肠道组织样品。

5.2.5 中枢神经系统组织采集

当以神经系统症状为主要症状的情况下，可送检大脑和脊髓样本。猪仰卧或头后倾时，切开咽喉区域后其下方暴露的就是寰椎-枢椎接合处。用力使其头部后仰可暴露脊髓，将棉拭子直接插入枕骨大孔

并伸向颅腔内部。棉拭子可伸至猪的大脑和小脑交界处，此处为检测引起猪脑膜炎的细菌的常见采样部位。也可以通过用手术刀、骨剪或钢锯切断椎间盘的方式切断第一颈椎，并对此处的脊髓进行采样用于组织病理学检查。如需观察脑部和脑组织采样，可使用骨剪和钢锯开颅。

5.2.6 关节液样本采集

对有关节肿胀或跛行症状的动物，可采关节液检测。可用带针头注射器直接刺破皮肤采集关节液。也可使用解剖刀剥离采样部位的皮肤后，更换一片新的手术刀片，沿组成关节囊的骨头轮廓割开肌肉，从关节腔中获得清洁样本。

5.2.7 流产胎儿的采集

当母猪出现流产、产死胎和产木乃伊胎时，可采流产胎儿进行检测。当出现多头母猪流产时，应该至少选取3窝发生流产症状母猪的胎儿，每窝4~6头，当出现木乃伊胎时，建议从体型最小的、中等的和最大的木乃伊中各取3头送检。对新生仔猪、流产胎儿或木乃伊胎的尸体剖检应按照保育猪剖检流程进行。

6 尸体剖检的安全操作

6.1 个人防护

剖检人员应穿戴防护服、口罩、帽子、手套、胶鞋等个人防护装备。在操作过程中，应保证个人防护装备的完好，如有破损应及时更换。

6.2 场地选择与准备

剖检场所应远离人员或动物饲养密集地区，并划分清洗区、准备区、污染区，各区之间应隔绝。剖检最好在室内进行，若在室外应选择地势高的地方，并在剖检前挖深坑，坑内撒石灰，尸体放在垫草或塑料布上剖检，剖检结束后将尸体及其污染物掩埋，并进行消毒。

6.3 器械消毒

剖检前，所用的器械如手术刀、剪刀、镊子等应进行消毒处理，可以使用火焰消毒或煮沸消毒。剖检后，剖检器械应用消毒液浸泡，用清水漂洗后进行灭菌消毒。

6.4 剖检时间

一般应在猪死亡后12小时内开展剖检，最佳剖检时间在3小时内，夏季须在死后4小时内完成，冬季不得超过12小时

6.5 记录与分析

剖检过程中要做记录，将每项检查的各种异常现象详细记录下来，以便根据异常现象做出初步诊断。

6.6 无害化处理

剖检后，尸体和废弃物应进行无害化处理，如深埋、焚烧等。

6.7 场所消毒

剖检前后应对剖检场所进行消毒，使用紫外线、喷洒或熏蒸等方式，剖检过程中应随时用消毒液喷洒地面和墙面，保持污染区环境中消毒液的浓度。

7 采样记录与文档管理

采样和剖检记录文档参照DB51/T 1104-2010畜禽防疫档案管理技术规程执行。

8 医疗废弃物处置

猪场样品采集过程中所产生的医疗废弃物处理参照DB51/T1075-2018执行。