改良，永不停止

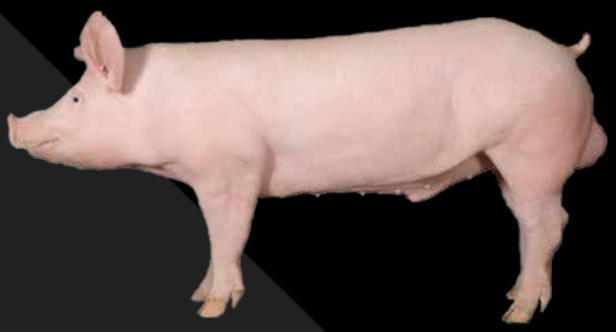
PIC® 2017

公猪站管理指南

PIC BOAR STUD MANAGEMENT GUIDELINES

PIC®

欢迎阅读2017年版 PIC公猪站管理指南



我们很高兴推出这份2017年版PIC公猪站管理指南。这份指南为公猪站工作人员提供工作建议。2017年版取代了2014年版，加入了最新的知识和技术。

本手册的目的是以一种简单易懂的形式分享实用建议。我们将本手册分为四大部分。每个部分都包含有关期望或目标的信息、最佳管理实践和有关重要工作步骤的详细说明。

与2014年版相比，我们添加了更多关于质量保证/控制(QA-QC)的信息。我们相信，QA-QC流程对于每个公猪站都是不可或缺的，因为一次人工授精(AI)的质量会对整个生产系统的性能产生重大影响。

本手册旨在适用于世界各地的公猪站，已排除特定国家的规定和实践。其目的是无论您的地理位置、运营规模、设施或技术设备如何，都能为您提供有用的信息。我们认识到不同的方法可以实现相同的结果，因此这份指南并不排斥其它管理策略。在任何时候，都请遵循客户所在国家当地管理机构在动物健康和福利方面规定的最佳实践和相应标准。

我们希望这份指南能够帮助您进一步提高公猪站运营的绩效。如果您有任何疑问，请联系我们。

术语和缩略语词汇表 1
第1部分：追求最佳性能的猪舍和公猪管理 1-1
公猪性能评估 1-1
生物安全 1-2
常规管理建议 1-2
体况 1-5
成功的公猪驯化 1-6
日常采精 1-7
处理精液质量不佳的公猪 1-8
针对已标记公猪的方案 1-8
卫生 1-8
问题解决 1-9
第2部分：实验室质量管理 2-1
期望 2-1
实验室设置 2-2
实验室卫生 2-3
精液评估 2-4
精液稀释流程 2-12
精液灌装 2-12
精液冷却 2-13
精液包装和运输 2-13
精液在农场的储存 2-14
第3部分：质量保证和质量控制 3-1
定义 3-1
设备和装置的维护和校准 3-1
水质 3-8
清洁和消毒 3-11
内部质量保证和控制 3-14
外部质量控制 3-16
HACCP 3-17
第4部分：遗传考虑因素 4-1
猪群遗传潜力的重要之处 4-1
管理猪群遗传潜力 4-2
最佳公猪使用年限 4-3
其它工具 4-3
附录 A-1
猪只饮水指导原则 A-1
饲料水平与公猪体重的关系 B-1
使用折射计进行精液稀释剂的质量控制 C-1
精液包装示例 D-1

术语和缩略语词汇表

第1部分

干预水平
应触发预定措施以中断性能趋势和改善的实际性能数值。

PRRS
PRRS表示猪繁殖与呼吸综合征，是一种可以通过精液传播的疾病，
并且除了其它症状之外，还可能导致母猪繁殖失败。

ppm
ppm表示百万分率，是用一百万单位溶液中溶解的溶质单位表示溶质在液体或气体中的浓度。

cfm
cfm表示立方英尺每分钟，表示流经通风系统或其它空间的空气体积。

fpm
fpm表示英尺每分钟，表示空气在通风系统或其他空间中流动的速度。

微米
微米是一种长度单位，等于百万分之一米。符号为μm。

Mcal/ME
Mcal/ME表示兆卡代谢能，是衡量（食物）能量价值的单位。

PCR
PCR表示聚合酶链式反应，是一种测试方法，可以对传染病快速进行高度特异性的诊断。

AI
AI表示人工授精。

性欲
性欲指性欲望。对于人工授精公猪，性欲指的是爬跨采精假猪台的意愿。

准备栏
准备栏是采精之前将公猪转入的栏。通过接触采精栏另一头接受采精的公猪，准备栏的公猪会受到性刺激，这样可以加快它进入采精栏后爬跨假猪台的速度。

包皮
包皮是围绕和保护阴茎头的皮肤，也称为阴茎鞘。

永存性系带
永存性系带是阴茎头和阴茎体之间的组织薄膜，通常是在出生之前形成。

AC
AC表示人造子宫颈，它可以在自动采精系统中固定阴茎并施加压力以产生刺激。

包皮积液
包皮积液是包皮中积存的受细菌污染的液体，含有尿液和其他阴部分泌物。

附睾
附睾是睾丸后表面上的细长器官，储存成熟的精子。

保质期
对于AI而言，保质期指的是精液头份可用于授精的时间。

无菌
无菌是指不含细菌或其他活微生物。

污染（微生物）
污染是指意外引入传染性物质，如细菌或其毒素和副产品。

消毒
消毒是指使用专门的清洁技术消灭能够传染的生物体或阻止其生长的消毒措施。

第2部分

活力（精子）
活力是精子移动的整体能力，通常用精子总数的百分比表示。

前向运动力（精子）
前向运动力是精子向前运动的能力，通常用精子总数的百分比表示。

原发性精子缺陷
原发性精子缺陷是源自生精（精子生成）障碍的精子缺陷，例如头部变形。

继发性精子缺陷
继发性精子缺陷是通过附睾时发生的精子缺陷，例如细胞质原生质滴。

CASA
CASA表示计算机辅助精液分析，是使用特殊软件和硬件自动估算精子活力和形态等不同精液参数的系统。

（分光）光度计
分光光度计是测量光线强度的装置。这种装置可以通过测量光线通过精液样本前后的强度来测量射出精液的浓度。

NaCl
NaCl表示氯化钠

男科
男科学是处理男性健康问题，特别是男性生殖系统相关问题的医学专业。

准确度
测量准确度定义为一个因素的测量结果与来自可信外部源的可接受值之间的差异，或者两个值的差异百分比。

顶体
顶体是动物精子头部覆盖的细胞器，含有能够消化卵细胞表层的酶，从而使精子得以进入卵子。

甲醛
甲醛是一种化学物质，可用于保存精子细胞以便评估。

油浸（显微镜）
在光学显微镜中，油浸是一种用来增加显微镜分辨能力的技术。
其方式是将物镜和盖玻片浸入高折射率的透明油中，从而增加物镜的数值孔径。

TDS
TDS是总溶解固体的缩写，是液体中所有无机和有机物质总含量的衡量指标。

等温
等温的意思是在相同温度下发生某事。对于精液保存而言，这意味着将精液样本与相同温度的稀释剂混合。

第3部分

校准
校准是将被测装置提供的测量值与已知准确度的校准标准品测量值进行比较。

QA – 质量保证
QA 是防止产品制造中出现错误或缺陷，着重确保质量要求得到满足的一种方法。

QC – 质量控制
QC是一个或一组程序，旨在控制制造出的产品符合一组定义的质量标准。

精度
精度是同一样本的一组给定测量值与其平均值的一致程度。

灵敏度
灵敏度是可以通过测量检测到的最小绝对变化量。

准确度
测量准确度定义为一个因素的测量结果与来自可信外部源的可接受值之间的差异，或者两个值的差异百分比。

容差
容差指测量中总的允许误差。

血细胞计数器
血细胞计数器是一种用于人工计数血液和精子细胞的装置，由统一深度的计数室组成，计数室由带网格的盖玻片覆盖，使每个方格下面的区域都包含已知体积的稀释样本。

流式细胞术
流式细胞术是一种基于激光或阻抗的技术，应用于细胞计数或细胞分选等领域，方式是将细胞悬浮在液流中并使其通过电子检测仪器。流式细胞仪可实现多参数同步分析，每秒可分析多达数千个颗粒的物理和化学特性。

生物膜
生物膜是一种微生物薄层（如细菌），通常具有耐受性，在各种表面上形成并将其覆盖，如水管。

紫外线灭菌
紫外线灭菌是通过暴露于紫外线对材料进行灭菌的过程。

RO-反渗透
RO是一种水净化技术，利用半透膜从水中去除离子、分子和更大的颗粒。

大肠菌群
大肠菌群是一种细菌，通常用作食物或水的卫生质量指标。粪大肠菌群是通常生长于温血动物肠道中的细菌。

EPA
EPA表示美国环境保护局。

置信水平
置信水平是一个衡量结果可靠性的指标。95%或0.95的置信水平意味着结果可靠的概率至少为95%。

偏差水平
偏差水平是用于量化一组数值的变化量或离散量的指标。

HACCP
HACCP表示危害分析和关键控制点，是用于识别和控制相关健康危害的监控系统，源自食品工业。其目的在于防止污染，而不是最终产品评估。

CFU
CFU表示菌落形成单位，是衡量细菌污染的指标，通常表示为每毫升或立方厘米。

第4部分

终端父本
终端父本指用于生产肉用商品或屠宰后代猪的公猪。

GP父本
GP父本指用于生产父母代母猪的公猪。

GGP父本
GGP父本指用于生产纯系后代的公猪。

康贝尔®
康贝尔指PIC L02（长白猪）和PIC L03（大白猪）杂交的PIC母猪。

OBL
OBL表示最佳公猪使用年限，是PIC遗传服务用于提供公猪站淘汰建议的工具。

追求最佳性能的猪舍和公猪管理

这部分首先会介绍优秀公猪站运营的特点和目标。此外，还会介绍有助于实现这些目标的实践，包括常规管理建议、生物安全考虑因素，以及关于公猪驯化和采精方法的建议。

公猪性能评估

良好的AI公猪性能来自良好的公猪管理，其中包括适当的公猪隔离和驯化、高水平的营养标准以及优秀的卫生和采精实践。表1.1确定了优秀公猪站管理计划的目标。

表1.1：公猪站管理计划目标

性状	目标	干预水平
经过4周驯化的公猪	>90%	<80%
无法驯化的公猪	≤3%	>10%
首次生产可用精液时日龄	≥220天-<300天	<200天->300天
每名采精人员每小时采集公猪头数[1]	≥5	≤3
每头公猪每周平均精液产量[2]	≥900亿个细胞	<750亿个细胞
非生产公猪（跛行、患病、精液质量等）[3]	≤5%	>10%
射精质量不良[4]	6-10%	>12%
公猪年死亡率	<5%	>5%

1 具体取决于猪舍设置：采精区到栏/舍的步行距离，传递窗口与采精区的接近程度等
半自动采精系统可以将每名采精人员每小时采集公猪头数增加至10头。
2 具体取决于品种和公猪日龄。表中数字考虑的是仅有终端公猪且替换率为70%的公猪站。
3 数字为年度平均值，具体取决于地理位置以及猪舍温度。夏季非生产公猪数量可能会增加至10%以上。
4 质量不良的定义是射出精液的活力<70%且/或异常细胞数>30%。给出的值为全年平均值。夏季每月丢弃率可能更高。

生物安全

多数公猪站都会为大量母猪/农场提供服务，通过精液传播的疾病（如蓝耳、猪瘟）可能会造成巨大的经济损失。因此，保护猪群的健康状况至关重要。适当的选址、隔离检疫和猪舍管理有助于降低将病原体引入公猪站和客户母猪场的风险。表1.2总结了生物安全的最佳实践。其他指导原则和实践应在当地兽医的帮助下记录并实施。

表1.2：生物安全建议

方面	生物安全公猪站的特点
设施选址	• 建立公猪站时尽可能远离其他养猪场、主要道路等； • 防止不速之客进入公猪站（上锁、篱笆等）
工作人员	• 接触其他猪只后确保最少隔离48小时； • 使用鞋履消毒/鞋套； • 进场前淋浴，彻底更换衣物和鞋子； • 从隔离检疫舍换岗至生产舍时确保隔离一晚
访客	• 只允许有必要的访客（维修人员等）； • 实施与猪舍工作人员相同的规定； • 登记访客记录簿（姓名、来访原因、上次接触猪只的时间/地点、确认生物安全规定）； • 站内保持常用（维修）工具库存； • 对所有需要进入公猪站的工具/用品进行清洁并消毒
用品	• 进入之前对所有用品进行清洁并消毒；用消毒剂喷雾； • 考虑在场外设置交货地点，以减少进入公猪站的外部人流量； • 拆除运输包装（如外部纸箱），以加强消毒
车辆/拖车	• 在接近生产舍（动物运输）之前清洁、消毒和干燥 • 为多次动物运输之间的拖车隔离时间设定适当标准
其他	• 制定啮齿动物和其它害虫控制规程； • 安装猪舍正压空气过滤器； • 为所有引进的后备公猪在进群前一段时间安排独立的隔离检疫

有关生物安全战略的更多信息，请咨询PIC健康保障部。

常规管理建议

这部分概述的常规管理建议对于隔离检疫舍和生产舍应该同样有效。表1.3中列出了关键信息。

免责声明：在任何情况下，生产者均应遵守当地关于管理和群养实践的适用法律，即使这些法律与本指南提出的建议有所不同。

表1.3：公猪站管理的常规建议

因素	防疫隔离	生产舍
饲养		
栏舍温度[1]	• <20°C (<68°F)	
湿度	• >40% - <70%	
气体（每m³空气最大ppm）	• 氨：20 ppm； • 二氧化碳：3000 ppm； • 硫化氢：5 ppm	
通风（单位：每头猪每分钟立方英尺数(CFM)）	• 最小值（低温）：14 CFM； • 最大值：150 CFM	
空气流速（单位：每分钟英尺数(FPM)）	• 400-800 FPM	
饲养[2]	• 公猪应单栏饲养； • 保持与其他猪只的目视和/或直接接触； • 将相同日龄/品种的公猪邻近饲养，以便目视比较	
地板[2]	• 实心地面倾斜以避免粪便和液体积聚； • 躺卧区域应保暖； • 漏缝地板：保持干燥清洁： • 稻草：至少每周更换一次。建议定期进行霉菌毒素检测。确保来源安全（无猪粪）； • 锯末：每年更换1-3次（具体取决于湿度）； • 尽可能保持躺卧区域干燥，没有粪便	
饲喂管理		
水	• 始终保持清洁饮水供给； • 使用乳头式饮水器（离地80-90 cm）或水槽； • 每日需求约为每头公猪每天17 L（4.5加仑）； • 最低流速1 L/min（0.26加仑）。每月进行检测； • 清洁水槽时检测乳头式饮水器； • 按照附录A检测水质（一年检测两次）	
日粮	• 针对不同日龄/体重，以保持所需体况。请参考附录B中关于具体情况和能量需求的信息。如需了解更多信息，请联系PIC营养服务 • 平均谷物粉碎力度750-900微米； • 避免使用可能含有大量霉菌毒素的副产品。公猪饲料应该使用经过检测的原料生产； • 使用霉菌毒素吸附剂可能有益； • 定期检查霉菌毒素污染情况； • 添加抗氧化剂可能有益； • 如需更多信息或帮助，请联系PIC营养服务	
饲喂策略	• 每天饲喂1-2次； • 饲喂前清洁水槽； • 如果使用自动料槽，请每2周进行一次称重和调整以检查准确度； • 如需适应新的饲料和环境，可减量饲喂（常规量的2/3）2-3天；前2-3天过后再正常喂养公猪以保持体况为2； • 进栏体重为大约160 kg时，一般每天提供2.5 kg、7.9 Mcal/ME的饲料	• 根据目视体况评分调整个体喂食量； • 目标是正常体况公猪>95%[3]。

因素	防疫隔离	生产舍
健康		
治疗	• 兽医应遵循当地法规； • 尽可能减少治疗以便尽量减少对精液质量的不良影响； • 如有可能，应优先采用口服给药而非注射。药物应溶于溶剂或无菌水中。溶剂成分可能会对精液生产和/或质量产生不良影响。通常不会对药物进行关于此类影响的检测； • 切勿在采精栏中进行注射； • 保留所有治疗记录。	
	• 到达后3天内不应接种疫苗； • 一些疫苗对精液质量有不良影响。这些疫苗应尽早施用，在开始采精之前留给公猪足够的时间恢复。 治疗后负面影响最长可持续8周。	• 将群体接种疫苗按照时间分成几组，以减轻可能对精液质量造成的不良影响； • 将疫苗接种次数降至最低。
诊断检测[4]	• 按照兽医指导和当地法规进行疾病诊断检测并选用检测方法； • 取样时尽可能采用温和的方式。考虑采用唾液检测、腿部（跗静脉）采血而不是颈静脉采血，等等； • 如需详细说明，请联系兽医。	
	• 在公猪到达后七天内对其进行初步检测； • 隔离期结束后对猪群进行全体检测。	• 对可由精液传播的常见疾病进行定期检测和强制检测。
临床监测	• 每天巡视猪舍检查公猪，找出没有吃光饲料或表现出呕吐迹象的猪只； • 测量并记录每头疑患病公猪的体温； • 如果发烧（≥39°C或≥102°F），请立即联系兽医，并取消这头公猪当天的采精。建议对血液样本进行诊断检查，包括PRRSV PCR； • 每天饲喂时都让公猪站立，观察有无跛行； • 如有疑问，请联系兽医； • 保留任何经过治疗或拒食公猪的记录。	
患病公猪的采精管理	• 止痛药治疗结束后，在跛行公猪完全康复之前不要对其进行采精； • 如果公猪精液中带血，应停止采精2周。如果休息期后仍带血，应按照兽医指导进行医学检查和适当治疗； • 如果公猪状态低于正常水平，应停止采精，直到恢复。	

因素	防疫隔离	生产舍
采精		
开始采精[5]	• 不应在180日龄之前或270日龄之后开始采精训练； • 到达后至少5天内不要开始采精训练。	• 220日龄之前不要开始采集用于AI的精液； • 用于AI之前，应连续采集2次超过最低标准值的射出精液（若第2次的精液良好则可使用）。
采精频率	• 采精训练应在连续进行两天后休息一天，如此重复，直到连续两个训练日均成功采精为止； • 训练成功后，应每7天采精一次。	• 12月龄以下公猪采精频率：每周1次； • 12月龄以上公猪采精频率： • 最低：每周1次 • 最高：每3天一次； • 不同公猪对采精频率的反应可能不同。
停采	• 跛行或呕吐公猪在康复前不要采精；精液中带血的公猪应休息2周。	
采精计划	• 训练期间，先采集性欲高的公猪，然后采集更难采集的公猪。	• 通过主动规划和安排来管理采精计划； • 按照指数和适合度确定优先次序（先采集休息天数足够且精液质量良好的高指数公猪）。

1 我们知道在某些地区或夏季，猪舍温度很难低于20°C/68°F。但是研究证明，这是对精液生产造成负面影响的临界温度。
2 请务必遵守有关AI公猪饲养和垫料的当地法规。
3 在下面的章节中可以找到体况类别的示例。
4 应与兽医一同确定。
5 可能会出现差异，具体取决于公猪是在隔离检疫区还是公猪站接受驯化。

体况

表1.3和附录A、B、C中的营养策略可帮助公猪保持适当体况。公猪体况的PIC评分如图1所示。但是，图中无法考虑到遗传品系之间的一些差异。在正常体况（评分2）下，用手掌用力按压可以触及脊椎，但是目视看不到（特别是尾巴附近）。

记住，必须根据当地日粮的具体营养特点，为每一头公猪调整饲料的量。自动喂食系统有助于执行更加一致的喂食量。为了一致性起见，理想情况下每次都应由同一个人执行体况评分程序。

图1.1：公猪体况

偏瘦体况

良好体况

偏胖体况

成功的公猪驯化

AI公猪的良好准备工作是保持高生产公猪存栏的基础。
采精训练过程中的错误可能会对公猪的“爬跨质量”产生持久的不良影响，或导致公猪完全无法采精。下面列出了成功训练公猪的关键要素。

准备工作

- 使用记录系统跟踪每头公猪的驯化和成功。
- 移除采精区任何会分散公猪注意力的来源。
- 确保采精栏不允许公猪过度闲逛。
- 在采精区旁边或后面设置准备栏。
- 确保工作人员安全。确保公猪对于与人相处感到舒适。
- 让富有经验和耐心的工作人员进行训练。
- 调整假猪台的高度以适应公猪的体型（后腿与腹部成大约120°角）。

采精

- 挤压包皮以刺激公猪，尽一切努力让公猪注意假猪台。
- 一旦公猪跨上假猪台，应固定阴茎并采集射出液。
- 在此过程中，应观察公猪任何可能的解剖学问题（如阴茎疲软、永存性系带）并向公猪供应商报告。

工作流程

- 工作人员对第一头公猪进行采精时，应将下一头公猪放入准备区准备接受训练。
- 如果公猪在大约5分钟后仍未跨上假猪台，应停止训练，第二天再继续。
- 或者考虑施用天然前列腺素（如果您所在国家允许，请咨询兽医）。
- 避免在采精栏中进行任何类型的操作（接种疫苗、剪牙等）。
- 公猪驯化成功后，应连续2天重复此过程，以强化爬跨记忆。
- 驯化成功完成后，每7天对公猪进行一次采精，直到其满12月龄。

使用自动采精系统进行驯化

这种驯化需要的方法略有不同，详情如下文所述。

- 自动采精系统包括人造宫颈(AC)、滑动臂、AC支架和假猪台。
- AC可以模仿母猪的子宫颈，产生压力刺激公猪。
- 采精过程中滑动臂可以自由来回移动。
- 第一天采精应遵循人工采精步骤（如上所述）。
- 第二天用左手人工采集原精的第一部分，持续大约1分钟。
- 1分钟后，将阴茎固定到自动采精系统，让公猪完成采集。
- 休息日过后的驯化第三天重复此过程。
- 每头公猪都会按照自己的节奏适应系统。并不是每头公猪都能接受自动采精。如果公猪4周后还不能适应系统，应考虑人工采精。

有关公猪成功采精训练的更多信息，请扫描下方二维码（访问成功公猪驯化的演示）。

日常采精

下面介绍高效采精流程的各个环节。

采精区设计

恰当的采精区设计有助于更快速、更安全、更卫生、更高效地采精。与饲养区采精相比，这种方式在卫生方面具有显著优势。下面列出了有效采精区的关键要素：

- 与饲养区分开。
- 尽可能小。
- 易于清洁（表面/墙壁/地面/假猪台）。
- 地板摩擦力良好。
- 从外部对公猪进行采精，或者设置工作人员脱险通道。
- 从采集坑对公猪进行采精，以减轻技术人员的肌肉劳损以及膝盖和背部问题。
- 假猪台应方便清理（易于上掀），高度可调。
- （半）自动系统，以减轻技术人员重复性劳损。
- 结合“准备区”操作
  - 对当前公猪进行采精时，通过观看/聆听/嗅闻前一头公猪来刺激下一头公猪。

采精程序

采精程序是生产高质量精液的关键组成部分之一。如果这个过程得到正确执行，可以大大减少射出精液的细菌污染。表1.4列出了最佳采精实践。

表1.4：关于采精的建议

方面	建议
采精前	• 请参考管理表（表3）了解有关采精频率/计划的信息； • 将手套、采精杯、袋子等所有必要用品存放在干净密闭的柜子里； • 使用隔热（预热至37°C/100°F）采精杯放置收集原精的塑料袋； • 用过滤器（纱布、牛奶过滤器、市售产品）覆盖杯子以便分离原精中的尿道球腺分泌物（凝胶）； • 为保持卫生，不要将采精杯放在地面或其他受污染的表面上； • 为了更好地刺激，建议使用准备区。 进入准备栏的公猪会通过嗅闻、聆听和观看正在接受采精的另一头公猪而受到刺激； • 让公猪在进入采精区后5分钟内爬跨上假猪台。
采精期间	• 双层手套法有助于提高采精卫生： ○ 排出包皮积液并刺激公猪直到阴茎露出之后，取下外层手套； ○ 固定阴茎之前，取下外层手套。只允许用内层干净手套触碰阴茎。 • 用一只手固定阴茎，露出龟头； • 保持阴茎头部高于公猪腹部高度，避免包皮液流下落入采精杯； • 不要用手触碰过滤器或龟头； • 请勿采集一开始射出的透明部分，将其扔弃在地上。 这样可以去除射出精液中大部分潜在污染物； • 继续采精，直到公猪完成射精并收回阴茎。
采精后	• 采精后的首要任务是准备原精以便送往实验室； • 不要尝试挤压过滤器以从凝胶部分挤出液体。 过滤器可能会受到污染，还可能损坏，挤压会导致凝胶颗粒进入精液，对精液质量产生不良影响。

处理精液质量不佳的公猪

正确处理精液质量不良的公猪有助于提高它们恢复生产的可能性和及时性。请注意，睾丸永久性损伤的公猪不会恢复。

- 如果连续两次射精均低于最低质量标准，应标记该头公猪。
  这也称为让公猪“暂停生产”，等待进一步检查；
- 对已标记公猪采用单独方案，如下表所述；
- 指标非常低的公猪或表现出精液质量不良的后备公猪应予以淘汰；
- 检查公猪有无能够解释精液质量不良的迹象，如：
  - 跛行/疼痛
  - 体况差
  - 睾丸异常/附睾异常（明显不对称、炎症、病变、萎缩等）
- 酌情施行治疗；
- 热应激、疫苗接种、霉菌毒素等因素会对精液质量产生不良影响。

针对已标记公猪的方案：

1. 采精前测量公猪体温。体温升高可能是精液质量不良的原因。
2. 查看该头公猪的健康和治疗记录。是否列有可能的原因？特别注意3-4周前的记录；
3. 将该头公猪从定期采精计划中剔除，但继续对其进行采精：
   - <12月龄：严格按照每周1次
   - >12月龄：最低每周1次

   有健康问题/跛行/精液带血的公猪例外（见表1.3）。
   将已标记公猪的采精安排在低生产日，以便有充足时间检查精液；
4. 评估每份精液的活力和形态以跟踪恢复情况。在高放大倍数下进行详细的形态评估（参见第二部分“精液评估”章节），以确认每种细胞缺陷的百分比。如果公猪有原精浓度低的问题，则还应检查细胞密度；
5. 如有必要，将精液样本送至第三方实验室进行微生物检测；
6. 如果连续两次采得的精液质量良好，可让公猪回到正常采集计划；
7. 观察解决质量下降的原因后大约6-8周，精液质量是否恢复正常。

卫生

精液受到细菌污染会对精液质量和精液头份产品的保质期产生不良影响。尽管在商业条件下很难采集到无菌精液，但采精过程中应优先尽可能减少原精的细菌污染。表1.5列出了为尽可能提高卫生程度应关注的关键方面。

表1.5：卫生采精的常规建议

方面	建议
公猪饲养	• 确保公猪躺卧区域干燥清洁； • 定期更换垫料； • 定期对整个猪舍进行彻底清洁和消毒。时间安排根据垫料材质和湿度等因素不同而有所不同。最少每年1次
公猪	• 在公猪进入时，采精区应没有粪便、垫料等； • 如有需要，清洁并擦干公猪腹部/身下； • 定期剪除包皮上的毛。
采精区/假猪台	• 尽可能与饲养区分开； • 每个生产日结束后清洁、消毒并干燥（高压水枪、清洁剂、消毒剂）； • 重点清理假猪台下侧（如有可能应翻转假猪台清洁）； • 更换表面划痕较深的假猪台
用具（杯子、手套等）	• 将所有物资存储在采集区附近的密闭柜子中，以便尽量减少污染； • 在干净的环境中准备采精杯（聚苯乙烯泡沫塑料和纱布/过滤器）； • 如果使用带有集成过滤器的采精袋，应考虑在猪舍中进行准备工作； • 不要用手触摸采精过滤器和杯子/袋子的内部； • 使用温暖的隔热瓶盛放采精杯/袋
采精技术	• 请参考这部分前面的“采精”段落
保温柜	• 每个生产日结束后清洁、消毒并干燥（清洁剂-干燥-酒精）。
隔热瓶	• 每个生产日结束后清洁、消毒并干燥（清洁剂-干燥-酒精）。

问题解决

这部分介绍了公猪站最常见的挑战以及一些干预策略。请注意，此列表并不排他。如需了解关于其它问题或更详细的建议，请联系PIC客户经理或PIC技术服务团队。

问题：大量公猪无法驯化成功

表1.6中提供了4周后成功驯化的公猪不到80%或无法驯化的公猪达到5%以上时的干预策略。请注意，不同遗传品系之间可能存在差异。

表1.6：有大量公猪无法驯化时的检查要点和干预措施。

可能的原因	干预措施
缺乏刺激	• 让性欲高的公猪先爬跨假猪台，在假猪台上留下气味； • 让公猪在自己采精之前先观看其他公猪采精； • 可移动假猪台可能有助于更好地“模仿母猪”并与公猪互动
舒适感不足	• 将假猪台调整至适当高度（腿部-腹部约成120°角）； • 假猪台应放置在摩擦力良好的地面上，防止滑动； • 在假猪台上设置一个安全的位置（防止腿来回拍打）
驯化计划	• 第一周应进行多次驯化。尝试连续驯化2天，然后休息1天，再驯化2天。
干扰	• 驯化过程中不要进行其他活动（如喂食、水枪冲洗等）。
负面刺激	• 不要在采精栏中治疗公猪，避免光滑的地板/假猪台或其他应激源。
采精年龄	• 在6.5月龄时开始驯化的公猪响应性最佳； • 约9月龄之后训练难度可能上升。

问题：异常细胞数量增加

公猪精液异常细胞数量增加的原因有很多。表1.7列出了一系列潜在原因和干预策略。很多情况下可能是由于多重原因复合造成的，因此无法单独确定一个原因。特别是在夏季，由于季节和温度的影响，整体精液质量会下降。请注意，对这些应激源的反应强度可能因遗传品系和个体而异。

表1.7：精液异常细胞数量增加时的检查要点和干预措施。

可能的原因	干预措施
猪舍环境温度高于22°C/72°C	• 用水帘或其它设备降低温度； • 提高通风率以改善热对流； • 让较为敏感的公猪/品种靠近水帘； • 在较为凉爽的早晨时段进行公猪的采精、驯化和喂食工作； • 少量多喂； • 检查供水； • 不要在盛夏时节接种疫苗； • 如有可能，避免在盛夏时节运输公猪（也可在清晨/夜间运输）。
体温升高（发烧）	• 接种疫苗时将公猪分组，组与组之间隔4-6周接种； • 如果核心体温超过39°C/102°F，应施用退烧药（采集诊断样本以排除PRRS病毒感染）； • 如果同时有疾病/跛行，应按照兽医的建议施行治疗。
治疗/接种疫苗	• 请参考“体温升高”。
公猪日龄	• 220日龄以下公猪的精子细胞生产功能仍在发育，因此正常细胞的百分比可能较低。可以对它们进行驯化/采集，但建议在公猪达到大约220日龄之前，不要使用其精液； • 3岁以上公猪的异常细胞数通常略有增加。
霉菌毒素	• 检查饲料有无霉菌毒素； • 饲喂之前清洁食槽（避免霉菌）； • 在饲料中加入霉菌毒素吸附剂； • 如需了解更多干预措施，请咨询营养师。
错误的采精频率	• 成年公猪的每周采精次数不宜少于1次或超过2次； • 12月龄以下公猪的每周采精次数不宜超过1次； • 至少每7天对公猪采精1次。
跛行/呕吐	• 按照兽医指导施行治疗，恢复之前不要对公猪进行采精。
睾丸疾病（损伤、病变、明显不对称、炎症等）	• 咨询兽医以了解正确的治疗方案。如果损伤持续存在且精液质量没有恢复，应淘汰该头公猪。

问题：跛行或蹄裂的猪只数量增加

跛行或蹄裂可能有多种原因。表1.8列出了最常见的原因和干预策略。

表1.8：跛行/蹄裂的原因和干预策略

可能的原因	干预措施
关节感染、物理损伤	• 按照兽医建议施行（抗生素和抗炎）治疗； • 恢复之前不要对公猪进行采精。
湿度过高/猪蹄软化	• 注意干燥地面。增加通风以便干燥。

地板问题/锋利边缘	• 检查饲养区以下要点：
	  • 检查地板是否过于粗糙/存在锋利边缘（尤其是新设施）；
	  • 检查金属食槽是否有锋利边缘；
	  • 检查限位栏/围栏是否有锋利边缘/突出部分；
	  • 检查假猪台在地板上的固定情况（螺钉）

问题：原精细菌污染严重

如果精液头份的微生物检测显示猪舍是发生污染的潜在地点，请按照表1.9进行彻底检查。

表1.9：精液细菌污染的原因和干预措施

可能的原因	干预措施
由于饲养区脏污导致公猪体表细菌负荷高	• 增加垫料清除频率，尽可能保持公猪饲养区干燥清洁，增加地表空气流量，调整乳头式饮水器，避免水洒到地板上； • 增加饲养区清洁频率； • 采精前用干纸巾清洁公猪腹部/包皮区域
采精区细菌污染程度高	• 每个生产日结束后清洁并消毒假猪台和采精区，尤其是假猪台下侧； • 设置准备区，供公猪进入采精区前大小便； • 在准备区排出包皮积液； • 在采精间隔，用铲子清除采精区的粪便
用品污染	• 存放采精手套、杯子和过滤器时保持清洁干燥，直到使用； • 不要将采精杯放在地板上； • 不要用手触碰采精过滤器/采精袋内侧
采精技术错误引起污染	• 请参考本部分“采精”和“卫生”章节中的说明
清洁剂/消毒剂选择错误或使用错误	• 确保药剂对怀疑存在的细菌菌群有效； • 按照制造商的说明使用药剂。

第2部分：

实验室质量管理

这部分概述了确保只加工质量合格精液的管理策略，同时还提供了有关实验室最佳操作策略和卫生的详细信息。

预期

每个AI实验室的首要目标都是产生质量一致的精液头份供母猪受精。实验室流程的目标是有效评估精液以确定它们是否符合表2.1中所述的既定质量标准，以及生产出能够满足内部和客户要求的精液头份。

表2.1：实验室管理计划的预期结果

性状	目标	干预水平
每AI头份的细胞含量一致	偏离目标≤+/- 5%	偏离目标>+/- 10%
AI头份的体积一致	偏离目标≤+/- 1 ml	偏离目标>+/- 2 ml
AI头份到有效期限日的最低总活力	≥70%	<60%
AI头份到有效期限日的最低前向运动力	≥60%	<50%
AI头份异常细胞最大数量（原发性和继发性缺陷）	≤30%	>30%
AI头份仅原生质滴最大数量	≤20%	>20%
AI头份细菌细胞数	<1 cfu/ml	>1 cfu/ml

实验室设置

如表2.2所述，适当的实验室设计可以为高质量、高效率的精液头份生产奠定基础。实验室设计会影响卫生生产和高效工作流程。实验室设计的细节往往需要根据每个公猪站的特殊情况（空间、工作人员等），具体问题具体分析。

表2.2：AI实验室设计的主要原则和目标

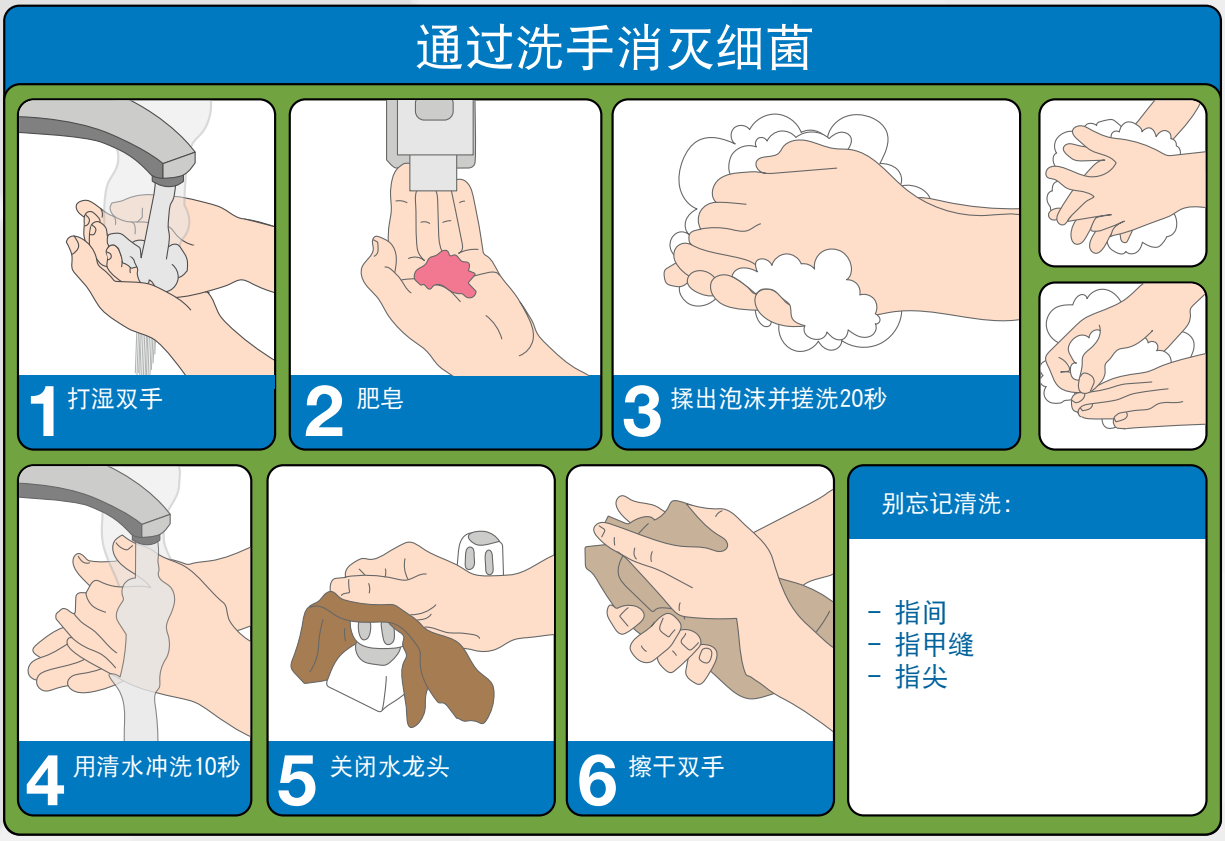
原则	说明
应将生产实验室与下列区域分离： • 清洁区（湿实验室） • 用品储藏室 • 精液储藏（冷却）室 • 办公室 • 休息室 • 卫生间 • 设施室（水、电、压缩机等）	生产实验室只用于精液的评估和加工。其布局设置应使房间易于清洁和消毒。为防止加工的精液受到污染，进行其他所有活动的房间都需要与生产区分开。
实验室中只放置生产必须的物品/机器。	物品或设备越少，实验室清洁起来越容易。
拉近工作站之间的距离。	加快加工速度
直列式工作流程	从“脏区”（精液到达、评估）到“净区”（稀释、灌装）区的工作路线不要交叉，避免交叉污染。
定期更换空调过滤器。	减少污垢/细菌通过空气散布的机会。
实验室器具应当可移动（带轮）/与地板留出开放空间	可以清扫下方区域
避免将存储柜放在生产实验室。工作时使用装有日常用品的移动推车。	柜子也需要清理，而且通常不是定期清理。
所有表面（天花板、墙壁、地板、台面、家具）均由适当材料制成，构造形式应易于清洁并可以消毒。	便于适当清洁和消毒
在电线/管道和墙壁/地板之间留出距离。	便于清洁
地板和墙壁之间不要有90°角	便于清洁
地板涂层不能有接缝和排水沟	方便清洁，不会积聚污垢和细菌
电源插座设置在设备区上方	地板或墙上或水平表面上没有电线，方便清洁
单独设置房间来储存灌装好的精液头份和实验室用品。	便于清洁

实验室卫生

除了上述正确设置实验室的规则之外，还有很多实践有助于减少精液加工过程中的细菌累积和交叉污染：

- 必须更衣（实验服、裤子和鞋子、发套/须套）后才能进入实验室。
- 进入实验室之前必须洗手并消毒（图2.1）。
- 实验室中禁止食物或饮料（可在休息室饮食）。
- 饭后和上洗手间后应洗手并消毒。
- 如果使用精液传递窗口，切勿同时打开两侧。
- 不要将不必要的东西存储在传递窗口中。
- 除精液（装在塑料袋或类似容器中）外，猪舍的任何物品都不得进入实验室。
- 如果人员必须在同一天从猪舍转移到实验室（最好不这样做），必须淋浴更衣。
- 尽可能在用品进入实验室之前打开包装。
- 不要用手触摸会与精液/稀释剂直接接触的任何物品。
- 使用一次性塑料袋排列要盛装精液的罐子。这样可以降低交叉污染的风险并减少清洁工作。
- 立即用纸巾擦去洒到桌面上的精液/稀释剂，并用酒精擦拭消毒。
- 在使用前过滤压缩空气（如气动管道系统、灌装/包装机器）。
- 生产后的废弃精液和残留稀释剂应在厕所或生产实验室外的其他弃置场所或仅用于清洁的水槽弃置。
- 加工两批精液的间隔和每次有可能发生污染时均应对双手进行消毒。
- 按照第3部分“清洁和消毒”章节中的说明定期清洁实验室。

图2.1：正确洗手说明



精液评估

AI头份生产的基础是测量原精细胞数量和评估两个关键质量参数（精液活力和细胞形态）。只应加工符合表2.3中最低标准的原精。丢弃不符合最低标准的原精。

表2.3：精液评估的阈值

精液参数	正常值	最低阈值
外观	粘稠度在乳状到乳脂状之间	
颜色	颜色为灰白色到白色	
体积	100-500 ml	≤ 50 ml
精子细胞总数	200-1200亿	>150亿
运动精子细胞（原始精液）[1]	80-95%	满足有效期限日时的最低精液活力要求
前向运动精子细胞（原始精液）[1]	60-90%	满足有效期限日时的最低精液活力要求
凝集	0-10%	≤ 30%
异常精子细胞（原发性和继发性缺陷）	10-15%	≤ 30%
细胞原生质滴（作为异常细胞的一部分）	5-10%	≤ 20%
最大活力损失/24小时	2.5-3.0%	≤ 3%
最大前向运动力损失/24小时	2.5-3.0%	≤ 3%
有效期日时精子细胞活力		≥ 70%
有效期日时精子细胞前向运动力		≥ 60%

1 测量结果可能因所用CASA系统而有所不同

宏观评估

宏观评估是一个简单而重要的步骤，目标是在进入分析和加工流程之前丢弃不适用的精液，尤其是污染的精液。表2.4列出了评估因素。

表2.4：精液宏观评估

因素	正常	异常
颜色	白色、灰白色、黄白色	红色或棕色（包含所有变化色）
粘稠度	乳脂状、乳状	水状、片状
杂质	无	血液、脓液、尿液、粪便等
气味	中性气味	尿液、粪便、腐烂气味

精子浓度/总细胞计数测量

有多种不同方法可以测量精液中的精子细胞浓度。

表2.5列出了使用不同装置精确测量精子浓度的要求。细胞浓度乘以精液量（用天平测量；精度000.0g）可得精液中的细胞总数。

AI公猪站中最常用的浓度测量装置是计算机辅助精液分析(CASA)机器和光度计（比如分光光度计）。

测量对象通常是原始精液，或者也可能是预稀释的精液（具体取决于实验室方案和装置）。

表2.5：使用CASA机器和光度计进行精确测量的要求

光度计	CASA
样品制备	
没有异常颜色/精液纯净	
采样前正确充分混合精液	
精确吸取样品。也可使用自动移液系统替代	
根据具体系统，测量之前需要稀释精液样品。 这一步的准确度和精度对测量结果有很大影响	
将比色皿轻轻翻转5次，将样品混合在比色皿中（用盖子或石蜡膜而不是指尖盖住比色皿，以避免污染）	装满标准计数室（参照制造商说明）。 避免装得不够满/太满
测量	
每个测量系列开始时均应对装置进行零位校准（参照制造商说明。通常使用0.90% NaCl溶液）。	• 正确设置软件（种类、样品稀释率、计数室类型、活力临界值等）。 • 使用前确认所有设置
避免接触比色皿/测量室的测量区域/视场	
	检查光线调整和对比度设置是否适当
样品制成后立即测量	
考虑因素	
样品中有气泡或比色皿有脏污/划痕可能会影响测量结果。	测量室应无灰尘、碎屑、水分和霉菌。
避免光度计轴受阻。	
光度计的光吸收曲线通常呈S形。仅曲线线性部分的测量结果可靠。	至少要计算400-600个细胞（取决于测量室和CASA制造商）。
定期保养并使用标准品校准装置（至少每年2次）（参照制造商说明）	由专业技术人员定期（至少每年1次）维护。

精子活力评估

精子活力评估是原始精液整体质量控制的一个重要步骤。

表2.6列出了对良好活力测量的所有要求。只建议对最低活力为70%或以上的精液进行进一步评估和加工。活力评估使用带有加热（38°C/100°F）载物台的相差显微镜进行。评估可以通过人工估算完成，也可以在CASA系统的帮助下自动完成。

表2.6：良好活力测量的要求

技术人员估算	CASA机器测量
样品制备	
• 将所有设备（玻璃载玻片、显微镜载物台等）加热至38°C • 所有耗材（玻璃载玻片、盖玻片、移液器吸头、计数室等）均为未使用过的新品；禁止清洁/重复使用物品	
制备样品前正确混合精液	
使用经过预热的玻璃载玻片和盖玻片	使用经过预热的计数室/显微镜载玻片
• 5-15 µL原始精液样品 • 如果浓度过高（超过每mL 500x10^6个细胞），可用一滴稀释剂或0.9% NaCl稀释。	• 用温热稀释剂预先稀释样品以获得最佳细胞浓度进行测量（参考CASA制造商手册）； • 预稀释在经过预热的样品管中进行。制备好的样品在分析前应再次混合（涡旋）。
	使用带尖头的微量移液器装载计数室。进样量应为计数室实际容量± 0.5 µL。计数室容量取决于制造商（MOFA®计数室：≈2.2 µL；Leja®计数室≈ 3 µL）。
测量	
移液到玻璃载玻片或CASA计数室后立即测量样品。	
在200-400倍放大倍数和相差下评估至少5个不同视野。	正确设置软件（种类、样品稀释率、测量室类型等）。
在盖玻片中心区域进行评估。	检查光线调整和对比度是否适当。
评估新样品在视场范围内活力变化是否很大。	测量室应无灰尘、碎屑、水分。
在0-100%范围内进行评估	如果手动选择测量视场，所选视场应位于计数室中央。

凝集评估

凝集评估可以在活力/形态评估的同时进行。
大多数公猪站实验室可使用表2.7提供的分级，不建议加工评分为3的精液。稀释评估样本可能有助于减少凝集。

表2.7：精液凝集评分

评分	描述 （百分比表示视场内的凝集细胞）
0	无
1	轻度(<10%)
2	中度(10-30%)
3	重度(>30%)

精子形态评估

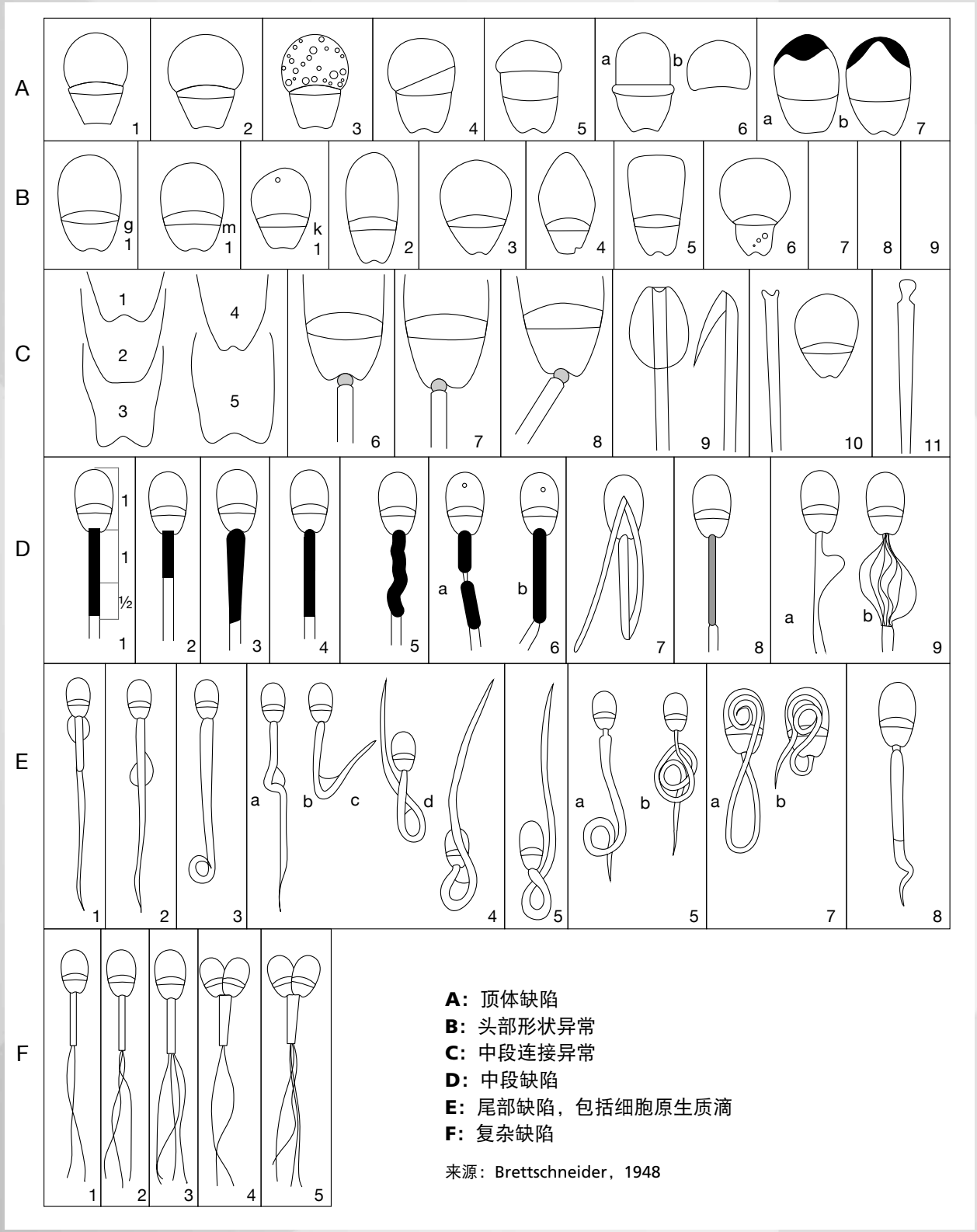
可以通过使用具有自动形态评估功能的CASA系统或通过人工显微镜方法评估精子形态。结果的准确度取决于分析的细胞数量。
表2.8中的例子强调了最小和最大异常细胞计数与观察到的总细胞数之间的关系。一般来说，可以计数的细胞越多，结果越接近实际值。精液评估结果越接近最低阈值，这种关系的作用就越关键（参见表格中框住的区域）。

表2.8：精子细胞形态评估结果的准确度

细胞数	100		200		500	
异常百分比	最小值	最大值	最小值	最大值	最小值	最大值
0	0.00	3.60	0.00	1.80	0.00	0.70
1	0.00	5.40	0.10	3.60	0.30	2.30
2	0.20	7.00	0.60	5.00	1.00	3.60
3	0.60	8.50	1.10	6.40	1.70	4.90
4	1.10	9.90	1.70	7.70	2.50	6.10
5	1.60	11.30	2.40	9.00	3.30	7.30
6	2.20	12.60	3.10	10.20	4.10	8.50
7	2.90	13.90	3.90	11.50	4.90	9.60
8	3.50	15.20	4.60	12.70	5.80	10.70
9	4.20	16.40	5.40	13.90	6.60	11.90
10	4.90	17.60	6.20	15.00	7.50	13.00
15	8.60	23.50	10.40	20.70	12.00	18.40
20	12.70	29.20	14.70	26.20	16.60	23.80
25	16.90	34.70	19.20	31.60	21.30	29.00
30	21.20	40.00	23.70	36.90	26.00	34.20
35	25.70	45.20	28.40	42.00	30.80	39.40
40	30.30	50.30	33.20	47.10	35.70	44.40
45	35.00	54.30	38.00	52.20	40.60	49.50
50	39.80	60.20	42.90	57.10	45.50	54.50

值得一提的是，CASA系统的自动形态评估准确度取决于机器设置和检测不同异常情况的能力。大多数CASA系统能够检测细胞原生质滴和弯尾/卷尾，但无法检测到顶体缺陷或头部形状异常。图2.2概述了不同的精子异常情况。

图2.2：不同精子细胞异常的概述



在普通公猪站程序中，不需要区分上表中提到的所有异常情况。为了简化，可以使用表2.9来记录人工评估的精液。

表2.9：常规形态表

形态	计数	占总数百分比
正常细胞		
头部缺陷（包括顶体）		
细胞原生质滴（近端和远端）		
尾部缺陷		
其他缺陷		

制备固定/染色样品

异常细胞评估样品有两种制备方法：未染色湿样和染色干样。两种技术各有优缺点，如下表2.10所述。

表2.10：未染色湿样和染色干涂片的对比

未染色湿样	染色涂片
便于制备	对比度良好，便于检测细胞异常
细胞漂浮→区分“真正的”细胞原生质滴和自由漂浮原生质滴	样品制备略为复杂/耗时
细胞移动→评估略为困难	细胞位置固定，因此很容易评估
固定后的载玻片不能存放	固定样品的保存
可以将固定后的精液样品存放在样品管中	

未染色湿样

未染色湿样制备技术适用于相位对比或微分干涉相差照明的检测。可以在任何透明介质中对精子细胞进行检查。向1 mL（原精）精子悬浮液（稀释精液仅需使用500 µL）中添加10 µL 1.5%甲醛[1]，可以使精子停止运动。在载玻片上放一小滴（例如5 µL），然后用大盖玻片（如22x40 mm）小心盖好。形成的单细胞薄层意味着精子处于相同的焦平面内，并且比在较厚的层中移动得更少。如果使用油浸，对焦时会有一些压力通过油转移到盖玻片上。如果精子悬液层较厚，精子会被推离视野。

[1]甲醛只能由兽医使用，或者在经过关于处理该化学品时应遵守的健康和安全规定培训后使用。

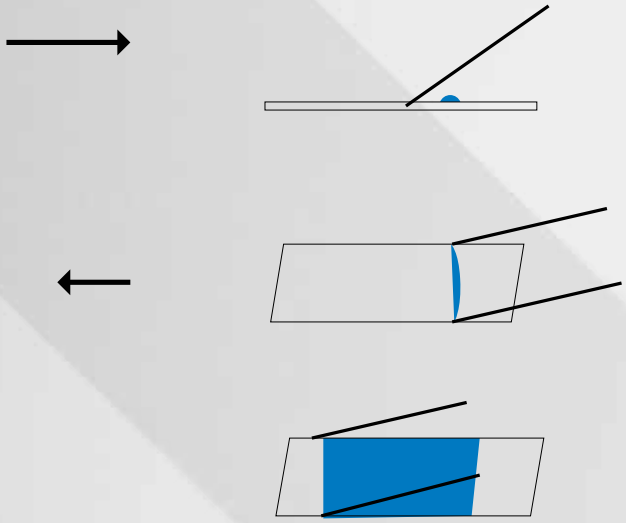
染色制备

染色制备技术制备时只使用普通载玻片。玻璃载玻片和着色剂应处于室温。在显微镜载玻片上滴1滴原始精液和2滴着色剂（最常用的是伊红）。用另一张载玻片的边缘将液滴平缓地混合。使用载玻片的边缘或尖角，将少量固定和染色精液转移到干净的显微镜载玻片上，将其靠近载玻片的一端放置，留下标记空间。

使用另一块新的显微镜载玻片（推片），将其短边放在载玻片上液滴的“下游”。保持整个边缘与载玻片接触，向回拉动载玻片，直到接触到染色的精液滴。等待精液扩散覆盖载玻片的整个宽度，然后沿着载玻片以45°角推动推片，形成涂片。涂片不应太薄（这不是血液涂片）或太厚（可能难以鉴别染色）。

待涂片风干后立即使用低倍物镜检查（无需再加热）。如果精子太多或太少，或者对比度不足或过高，请准备一张新的载玻片。涂片应外观均匀。每个低倍率（低放大倍数）视野内都应有许多精子。如果低倍率视场没有或只有一两个精子，意味着油浸后会很难在载玻片上找到精子。在另一个极端，精子密度不应高到精子相互重叠。这样清晰检查每个精子会非常难。

图2.3：关于涂片制备的说明



制备和评估涂片需要练习。良好的涂片有以下特征：

- 每个视野的细胞数量足够（放大1000倍时最低为5）
- 细胞不重叠
- 对比度足够，能够看到所有细胞细节
- 容易对焦（只有一层细胞）

人工样品评估

人工样品评估应使用光学显微镜，在1000倍放大倍数和油浸条件下使用可移动载物台进行。需要练习才能在这个放大倍数下“找到”细胞。先在100倍或200倍放大倍数下对焦精子细胞。从低倍数变为1000倍时，只需要一些微小调整即可对焦细胞。为评估精液中异常细胞的百分比，至少应对100个细胞（最好是2x100个细胞）进行计数和评估。在涂片上找到一个细胞没有相互重叠的位置作为起点。从视野左上角开始，沿着向右的一条虚线，评估线上的每个细胞。然后向下移一行，从右到左沿之字形完成整个视野评估。然后移到下一个视场，继续此过程，直到评估的细胞达到目标数量。如果一个细胞显示出一项以上异常，只计入较为严重的异常。头部和顶体异常优先级最高，其次是细胞原生质滴和尾部缺陷。
在精液生产中进行形态评估时，时间非常重要。在这种情况下，在不浸油的情况下放大650倍就足够了。

使用CASA自动形态评估系统的注意事项

不同CASA系统能检测到的精子异常类型有所不同。大多数都能识别细胞原生质滴（近端和远端）和弯尾/卷尾，不能识别典型的缺陷顶体和头部形状异常。在设置异常精子最大允许百分比阈值时，应考虑到这一点。有关自动形态评估功能的更多信息，请联系CASA供应商。自动形态评估的一大优势是可以在更短时间内检查更多的细胞，计算出的估计值也更加准确。

精液保存

原始精液在采集后的保存期限非常短，因此需要通过添加精液稀释剂来保存它们使卵母细胞受精的能力。通常稀释剂可以将采集后的精液保存最多3-7天。原始精液的稀释率（生产的精液头份数）取决于每AI头份的目标细胞计数。精液稀释剂可视为AI头份的“主要成分”，需要细心制备。

用于制备稀释剂的水应经过净化（ASMA I型水或等效物）且不含细菌。可以利用现场水净化系统生产，也可以从可靠供应商处采购。最低水质要求请参见第3部分的表3.5-3.6。

每个生产日都应使用不锈钢大桶制备稀释剂，可以为大桶配备一次性塑料衬垫以降低卫生风险。

制备稀释剂的基本步骤有：

- 将所需量的净化水加入大桶中
- 当水达到合适的温度时（参照制造商说明；通常在35°C/95°F左右），将所需量的稀释剂粉末加入水中，充分混合。人工搅拌和/或再循环水可以帮助粉末溶解。
- 稀释剂制剂的使用期限因产品而异（请参考制造商说明）
- 使用前确保所有稀释剂粉末均已溶解在水中
- 使用稀释剂之前，使用电导率仪或TDS仪或折光仪检查水与稀释剂的比例是否正确（参见附录D说明）。
- 使用pH计进一步检查稀释剂的完成程度。按照制造商的规格确定适当的值
- 稀释当天第一批精液之后，检查精子活力是否在正常范围内。稀释后2小时重复此步骤，作为稀释剂质量的进一步复查。
- 每次生产完成后，确保清洁所有接触过稀释剂的大桶、管子和管道。更多细节请参见第3部分“清洗和消毒”章节。

每头份专有细胞

不同公猪站的每头份细胞数有所不同，受到多种因素影响。本指南无法给出一般性建议。全球最常用的是每头份体积30-100毫升，细胞数15至30亿个。每头份细胞浓度不应超过每毫升约6000万个细胞，否则可能导致保质期缩短。

每头份专有细胞有两种不同的表达方式：

1. 每头份总精子细胞数

细胞数量不随时间变化，因此在每头份生产后几天内检查和计算精子细胞总数都是很容易的。一份精液可生产的具有专有总细胞计数的头份数量可按以下方式计算：

$$\frac{\text{精液量(mL)} * \text{精子细胞浓度（百万/mL）}}{\text{每头份目标细胞数（百万）}}$$

原始精液需添加的稀释剂用量(mL)可按以下方式计算：
（生产头份数（见上文）*头份体积(mL)） - 精液体积(mL)

2. 每头份活性[1]精子细胞数

每头份活性精子细胞数目标定义的是每头份中形态正常的运动精子细胞数量。不运动细胞与形态有缺陷的细胞之间通常存在重叠。计算出的综合评分可以很好地定义“无活性”细胞的数量（参见下文公式）。正如我们所期望的那样，只有运动的正常细胞才能使卵母细胞受精，这种计算方式比每头份总精子细胞的表达更有意义。然而，活力会随着时间的推移而下降，因此很难控制每头份有足够的活细胞数。生产后越晚检测样品，活性细胞数量越少。无法确定最初是否加入了特定数量的活性细胞。一份原精可生产的具有专有总细胞计数的头份数量可按以下方式计算：

综合评分=运动细胞(%)*正常形态细胞(%)
活细胞（百万）=综合评分*体积(mL)*浓度(M/mL)

生产头份数和稀释剂用量的计算与上面提到的总细胞数计算相同。

[1]请注意，“活性细胞”的原有/科学定义不同于上述AI公猪站常用语中的定义。科学语境中的活性细胞指完整细胞（顶体和质膜完整）。

精液稀释流程

最常用的精液稀释方式有一步稀释和两步稀释。它们的不同之处在于稀释剂加入原精时的温度。两种流程的第一个步骤完全相同：

- 尽可能早地对原始精液进行第一次稀释，最晚在采精完成后15分钟。
- 确保第一次稀释在等温条件下进行；原始精液和稀释剂的温度应当相同
- 在适当的干净容器中混合稀释剂和精液。最好使用带有一次性塑料内衬的专用精液混合罐或桶。

1. 一步稀释

- 采精后15分钟内在相同温度下使用稀释剂完成精液稀释。
- 如果无法在15分钟内完成，替代方法如下：用相同温度的稀释剂（最常用的精液-稀释剂比率为1:1至1:3）快速对原始精液进行预稀释，并尽可能在相同温度下进行最终稀释。
- 及时包装精液。
- 冷却至储存温度(17 ± 2°C/63±3.6°F)。

2. 两步稀释

- 用相同温度的稀释剂（最常用的精液-稀释剂比率为1:1至1:3）对原始精液进行预稀释。
- 等待15-20分钟以便与室温平衡。
- 用稀释剂进行最终稀释，不要低于室温(20°C/68°F)。
- 及时包装精液。
- 冷却至储存温度(17 ± 2°C/63±3.6°F)。

最近的研究(SCHULZE et al., 2013)表明，用一步等温法稀释的精液具有微小的质量优势。

精液灌装

大多数情况下会借助包装机将稀释后的精液“灌装”到塑料管或塑料袋中。考虑到自动包装机成本较高而自身产量较低，小型公猪站通常采用人工方式灌装精液。

每头份体积通常在30至90 mL之间，具体取决于要完成的AI类型。对于传统AI，每头份体积建议至少为70 mL。表2.11总结了包装精液时最重要的方面。

表2.11：精液包装的关键方面

卫生

存放软管/包装袋时保持清洁干燥，直至使用完毕

确保一切接触到稀释精液的物品都满足以下条件：

- 清洁（一次性或经消毒）
- 不用手触碰（除非是消毒）
- 对精子没有毒性

包装每批精液后，应更换用于包装精液的软管、压片、针头。

为软管、压片、针头制定适当的消毒和灭菌程序。

均匀性

- 灌装前应充分混合稀释后的精液
- 如果包装过程超过10分钟，应当再混合一次以避免精液沉降，这会导致每头份精子细胞数量发生变化。

包装体积

- 包装过程中应检查每头份的专用灌装体积，以确保准确
- 若差异>+/-1 mL，应立即对灌装机进行校准/维护

维护

- 每个生产日结束后，应对灌装机进行清洁和消毒。
- 遵循制造商规定的维护间隔。

精液冷却

发货前使用冷藏室储存和冷却精液。保持温度在17±2°C/63±3.6°F，使用换气扇保证空气流通。使用自动记录设备记录冷室内的每日高温和低温。

使用金属搁架或手推车搬运、储存和冷却精液。这些设备的设计可以提供最佳的冷空气流量，让稀释后的每份精液更均匀地冷却到保存温度。

冷却系统加上冷室内充分的空气循环，是在适当时间内将每份精液温度降低至所需范围的关键因素。

精液包装和运输

在运输和交付过程中，精液包装的目标是保护每份精液免受冷暖环境温度影响以及物理损伤，包括日晒。目标是在农场使用之前，保持每份精液温度在17±2°C/63±3.6°F，温度波动不超过1°C/2°F。

如果精液是由公猪站自己的递送员运送，最好的选择是为运载工具配备使用车辆电源的插入式气候箱。这些设备应该能够冷却和加温，并且具有外部显示屏，以便定期检查内部温度。换气扇有助于循环经过调节的空气，保持整个箱内温度相同。包装箱子时，内部应留出足够空气流通的空间。使用这种气候箱运输的精液不需要聚苯乙烯泡沫塑料盒等特殊隔热包装材料。这种类型的运输使用双层塑料袋或纸袋（卸货前取下外层包装袋）就足够了。

如果精液通过包裹快递服务（邮件、UPS®、FEDEX®等）或航空邮件运送，通常没有温度控制车辆，并且包裹可能需要承受极端和/或波动温度。以下因素可以减少运输温度波动，从而保护每份精液：

- 确保精液在包装前处于最终储存温度。
- 使用单层厚壁或双层聚苯乙烯泡沫塑料盒包装精液。
- 使用保温箔包裹双盒体系的内层聚苯乙烯泡沫塑料盒或单盒体系的单个聚苯乙烯泡沫塑料盒。保温箔也可以用作内层包装，直接包裹精液。
- 使用凝胶袋保持精液周围的运输环境稳定，它们可以增强体积和温度调节，帮助减轻波动。应将冷藏室温度的凝胶袋与精液头份直接接触放置。在两个聚苯乙烯泡沫塑料盒之间的空隙中加放冷冻凝胶袋（双盒体系），可以缓解较高的环境温度。相反地，如果运输过程中环境温度较低，可在空隙中加放温暖的凝胶袋。
- 将外层聚苯乙烯泡沫塑料盒装入纸板箱以增强保护。
- 加装小型电子温度记录设备来跟踪运输过程中的内部温度，这有助于解决包装和装运程序中的问题。
- 尽可能缩短精液运输时间。

更详细的说明请参见附录D。

精液在农场的储存

理想情况下，精液货件应由快递员或商业包裹快递员卸放在农场之外的地点，从而保持农场和公猪站的生物安全水平。卸货点可以设置一个17°C/63°F的存储设备，司机将货箱放在该设备中。农场工作人员应该知道卸货时间，以便在到达货物净化流程结束后及时取货并转移到最终存储设备（请参见第1部分表1.2）。

下面列出了农场精液储存的关键要点：

- 精液应在17±2°C/63±3.6°F下储存。避免使用储存温度超出此范围的精液。
- 使用可以加温和冷却并带有浪涌保护功能的风扇辅助冷却器。
- 精液冷却器与墙壁至少隔开2.5 cm/1英寸距离，以便其有效工作。
- 打开冷却器棚架，以便彻底通风。
- 将精液放入精液冷却器之前应打开包装。
- 将精液零散地水平存放。
- 记录精液冷却器温度和每天检查库存的人员。
- 使用多个带有外部读取器的数字温度计。在冷却器的不同位置放置传感器（靠近冷却/加热元件、靠近门、中间）
- 尽可能在生产后三天内使用精液，并根据当前库存量订购新的精液。
- 将精液放在隔热容器中送至配种舍，使用17°C/63°F凝胶袋保持温度。
- 只把1小时内会用到的精液带到猪舍。不要将精液从猪舍带回精液冰箱。
- 最近的研究表明，过去每天转动精液的做法是没有必要的。

第3部分：

质量保证和质量控制

这部分介绍有关如何使用、校准和维护测量设备及其目标精度的信息。此外，还会介绍有关清洁和消毒程序的信息，以及符合要求的第三方监测计划。

定义

质量保证(QA)是防止错误、避免问题和确保质量要求得到满足的一种方法。预防质量问题（即主动流程）与质量控制(QC)之间存在微妙的差别，后者的目标是检测质量不合格的产品并实施改进（即被动流程）。QC主要是检测成品，而QA检测的是决定最终产品质量的关键流程。我们有两个QA指导原则：“适用”（产品应适合其预期用途）；和“一次成功”（杜绝错误）。这部分将会结合精液头份的生产介绍这些原则。

设备和装置的维护和校准

公猪站会用到许多技术设备。设备故障可能会推迟当天的生产完成时间，还可能影响产品质量，因为其中许多设备对于确定精液质量非常重要。

例如，使用移液器或分配器制备稀释精液样品以便测量精子细胞浓度。如果分配的体积不准确，会导致稀释不准确，浓度测量会得出低估或高估的浓度。这可能导致头份含有的精子细胞数目不足以达到最佳受孕效果。

我们越依赖设备，就越需要使用不同设备的每日、每周或每月检查清单，并制定校准和维护计划。此外，在设备出现故障时备好替代方案非常重要。表3.1给出了一个关键实验室设备的检查、清洁、维护和校准计划示例。对于QA而言，这个计划应附有关于如何对每台设备/装置执行检查、清洁、维护以及校准时间和执行方式的具体说明。

表3.1：检查、清洁、维护和校准计划

保养/校准计划	检查	清洁[1]	内部维护[2]	保养[2]	校准[3]	备注
秤	每日	每日		每年1次	每年1次	需要标准重量
手动移液器和分配器	每日	每日	每月	每年2次	每年2次	
自动分配器	每日	每日	每周	每年1次	每年1次	按照制造商说明
分光光度计	每日	每日	每季度	每年2次		
带有加热载物台的显微镜	每日	每日				需要经过校准的温度计
加热板	每日	每日	每月			
稀释剂桶加热装置	每日	每日	每月			
加热块	每日	每日	每月			
干热灭菌器	每日	每日	每周			按照制造商说明
冰箱和精液存储设备	每日	每月	每年4次			最小值/最大值温度计
温度计	每日	每日	每月	更换		
TDS电导率仪	每日	每日	每月	每年2次		
pH计	每日	每日	每月	每年2次		
显微镜(CASA)	每日	每日	每周	每年1次		
空调	每日	每月	每年4次	每年2次		每月更换过滤器

[1] 最低要求彻底清洁

[2] 遵循制造商说明并考虑使用强度

[3,4] 最低校准频率；设备偏离目标时需要另行校准

秤

秤的准确度是指在保持一致的基础上提供尽可能接近实际值的结果的能力。大多数公猪站都有多台秤，它们各自有不同的规格和称重能力范围。规格取决于需要称重的对象以及测量需要达到的精确程度。表3.2列出了实验室最常用的秤。

表3.2：各种秤一览

测量对象	称量范围	灵敏度
移液器/分配器的准确度和技术人员的可重复性	0-50 g（分析秤/精准秤）[1]	0.0001 g/0.1 mg
稀释剂粉末重量	0-5000 g;	1 g/1,000 mg
精液量	0-1000 g;	1 g
向精液分配稀释剂	0-5000 g;	1 g/1,000 mg
管/袋容量	0-100 g;	0.1 g/100 mg
包装重量	0-20 kg/0-20000 g	0.1 kg/100 g

[1] 这种秤用于检查移液器/分配器的准确度和可重复性

每个生产日均应在使用前使用标准砝码检查所有秤。将一个或多个重量等于秤的负载（量程）的标准砝码放在秤上，读取读数并从秤上取下砝码。检查准确度。在读取用于生产的读数之前，应将这项操作重复几次。秤开启并“暖机”之后，可重复性会更好。

即使没有被使用过，秤也会非常准确，但“暖机”过程可以达到更好的效果。准确度可以通过测量5-10次并取平均值来计算。平均值和标准重量之间的相对(%)差异就是准确度。

分析秤/精准秤的准确度计算示例如下：
准确度(%) = 100x（（平均重量-目标重量）/目标重量））
标准重量 = 2.00 g
平均重量 = 2.02 g
准确度(%) = 100x ((2.02-2.00)/2.00)) (%) = 100x ((0.02)/2.00)) (%) = 100x ((0.01)) (%) = 1%

表3.3所示为标准重量的容差（重量读数与标准重量的最大容许偏差）。如果平均值超出容许偏差范围，则秤需要校准。在示例中，秤偏离目标1%，而容差是（最大）0.06%（参见表3.3）。因此这台秤需要重新校准。是否需要重新校准取决于不准确性对最终产品的影响程度。

例如，如果您检查的是用于分配稀释剂的秤（5 kg），则容差为0.01%。所以如果不精确度为0.1%（5 g），对最终产品的影响很小，因此并不重要。这在包装机可接受的体积变化范围内。

表3.3：标准重量测量值的容差

重量	容差	容差(%)	重量	容差	容差(%)
5kg	0.5g	0.01%	2g	1.1mg	0.06%
3kg	0.3g	0.01%	1g	0.9mg	0.09%
2kg	0.2g	0.01%	500mg	0.72mg	0.14%
1kg	0.1g	0.01%	300mg	0.61mg	0.20%
500g	70mg	0.01%	200mg	0.54mg	0.27%
300g	60mg	0.02%	100mg	0.43mg	0.43%
200g	40mg	0.02%	50mg	0.35mg	0.70%
100g	20mg	0.02%	30mg	0.3mg	1.00%
50g	10mg	0.02%	20mg	0.26mg	1.30%
30g	6mg	0.02%	10mg	0.21mg	2.10%
20g	4mg	0.02%	5mg	0.17mg	3.40%
10g	2mg	0.02%	3mg	0.14mg	4.67%
5g	1.5mg	0.03%	2mg	0.12mg	6.00%
3g	1.3mg	0.04%	1mg	0.1mg	10.00%

来源：国家标准与技术研究院(NIST)；NIST手册2003 105-8

校准

校准是将秤或天平的输出值与标准值进行比较。校准需要标准重量，并且要将天平设置为“校准模式”。您可以自行校准（遵循手册中的说明）也可以请专业公司校准（推荐做法），具体取决于秤本身。

使用移液器或（自动）分配器分配

大多数情况下，在测量浓度或分析活力和形态之前，必须稀释原始精液样品。稀释误差可能对每头份细胞数量产生深远影响。

无论您使用的是自动分配器、瓶口分配器还是移液器，都需要在每天生产前检查设备的准确度，检查每位技术人员的可重复性，并且经常测试不同技术人员之间的可重复性（建议至少每月1次）。下面是测试分配准确度和可重复性的要点：

- 使用精准秤/分析秤（用标准砝码检查），并在实际开始操作前进行5-10次测量。
- 每次吸取液体之前，更换移液器吸头后（如果适用）分配所需的体积（水）10次。
- 将结果记录在电子表格程序中。
- 计算10次测量的平均值和标准偏差。
  - 准确度（系统误差%）= 100x（（平均重量 - 目标重量）/目标重量））。
  - 变异（随机误差）表示为变异系数(CV %) =100x（标准偏差测量值/平均测量值）。
- 解释结果时请牢记以下几点：
  - 分配量越小，预期系统误差和随机误差越大。
  - 准确度取决于移液器/分配器的质量、正确使用和适当维护。
  - 可重复性取决于分配技术，移液器/分配器的质量以及移液器吸头（如果适用）。表3.4所示为准确度（系统误差）和可重复性（随机误差）的最大允许误差。

表3.4：分配器和移液器允许的系统和随机误差

最大允许		系统误差		随机误差	
体积(µL)	体积(ML)	± %	± µL	± %	± µL
1	0.001	5.0%	0.05	5.0%	0.05
2	0.002	4.0%	0.08	2.0%	0.04
5	0.005	2.5%	0.125	1.5%	0.075
10	0.01	1.2%	0.12	0.8%	0.08
20	0.02	1.0%	0.2	0.5%	0.1
50	0.05	1.0%	0.5	0.4%	0.2
100	0.1	0.8%	0.8	0.3%	0.3
200	0.2	0.8%	1.6	0.3%	0.6
500	0.5	0.8%	4.0	0.3%	1.5
1,000	1	0.8%	8.0	0.3%	3.0
2,000	2	0.8%	16	0.3%	6.0
5,000	5	0.8%	40	0.3%	15
10,000	10	0.6%	60	0.3%	30

来源：ISO 8655:2002

分光光度计

许多公猪站使用分光光度计测量精液的精子浓度，也称为精液密度。根据精液透光量与精液吸光度计算浓度。这是一种间接测量方法，因此应比照精度已经过测试且在允许范围内的参考设备/样品测量设备精度。分光光度计通常使用经参考设备和方法检测过的不同浓度样品校准。

分光光度计通常会显示S形曲线，只有曲线线性部分的测量值可靠。需要知道该分光光度计能够可靠测量的浓度最小值和最大值。

为了日常检查分光光度计是否正常工作，使用福尔马林[1]固定的样品（低密度和高密度）作为参考。在4°C/40°F（冰箱温度）下，福尔马林固定[1]精液（1:1稀释）中的精子浓度在0.1 M/mL至100 M/mL浓度下可保持稳定至少5周。

从低密度和高密度福尔马林[1]固定的精液样品中取样，用分光光度计测量浓度，并判断分光光度计是否仍然准确。

[1]甲醛只能由兽医使用，或者在经过关于处理该化学品时应遵守的健康和安全规定培训后使用。

每天清洁分光光度计，至少每周检测一次（最好每天一次）。参照制造商的建议维护，至少每年保养2次（最好每季度一次）。我们建议每月请参考实验室检测多份精液样品浓度，以确保分光光度计的准确性。
参考实验室通常使用四种方法检查使用公猪站分光光度计（或其他设备）制备的样品浓度：

1. 使用血细胞计数器进行细胞计数
   将样品装入细胞计数室。室内的网格代表一定的量。
   计算标准数量网格中的细胞数，然后计算每毫升细胞数。
   例如，如果将样品以1:10稀释（11倍；1份样品+ 10份稀释剂），5个方格中细胞技术为325个，则每毫升总细胞计数的计算方式为：
   每毫升总细胞计数= (325 x 11 x 10,000)/5=每毫升715万个

2. 使用流式细胞仪
   使用结合猪DNA的荧光哺乳动物DNA探针孵育样品。探针结合的DNA流经机器并被测量到时，细胞会发出荧光信号。基于总信号强度，计算样品中的细胞数量。然后通过制备流式细胞术样品时使用的相应稀释因子计算原始样品浓度。这种方法通常非常准确，因为它是直接测量，可以计数许多细胞(>50000)。流式细胞仪并非AI实验室的基本设备，但可以在专业的第三方男科中心找到。
3. 使用Nucleocounter®
   Nucleocounter®与流式细胞仪的原理相同。Nucleocounter®计数的细胞较少(2000-5000)，因而不如流式细胞仪准确。然而，由于Nucleocounter®的成本远低于流式细胞仪，因此很多公猪站都有这种机器，用作每头份精液密度的“内部”参考。
4. 使用CASA和计数室
   参考实验室经常备有计数室和CASA系统，用于确定公猪站提供的精液的浓度。
   有关使用CASA系统和计数室的更多信息，请参见第2部分“精液评估”章节。

加热装置和温度计

精液生产中使用的许多装置需要保温或加热。这会通过设备中的电加热元件实现，例如显微镜载物台、稀释剂桶和加热平台/加热块。加热元件会设定为一定温度，但并不能保证设定温度处于目标温度。如果表面较大，热量会流失到环境中，因此可能需要调整温度设定以便补偿。与此同时，设备的温度设定可能不准确。因此，需要每天使用经过校准的温度计检查实际温度。

许多公猪站使用红外线（即激光）温度计，因为与需要直接接触被测物体或被测液体的传统棒式温度计相比，它们快捷、实用并且可以降低污染风险。但是，与接触式或浸入式温度计等传统方法相比，红外线的准确度可能较低，可重复性也较差。红外线的准确度和可重复性取决于设备的使用方式、与物体/液体的距离、使用角度和周围环境温度。使用红外线温度计的公猪站应遵循标准操作程序中所述的操作方法，并且也应该比照经过校准的温度计对其进行检测。

电导率/总溶解固体（TDS）测量仪

用于制备稀释剂的水必须经过纯化（I型水）。作为公猪站QA程序必不可少的组成部分，必须在每个生产日开始之前测量电导率或TDS，以检测稀释剂粉末和水的比例是否正确。加入稀释剂粉末之前，先对水进行检测。然后，充分混合并检测制得的稀释剂。由于电导率受温度影响，大多数测量仪都会自动修正该变量。但是，仍然建议在实际检测水和稀释剂样品之前，用标准溶液检查测量仪功能是否正常。

电导率/TDS测量仪的校准：

1. 确保标准校准溶液的温度与待测溶液的温度相同，从而最大限度地减少温度影响造成的误差。
2. 将足量（≥2.5 cm灌装高度）标准校准溶液倒入清洁干燥的容器中。
3. 取下测量仪的保护端盖，露出不锈钢电极。
4. 打开测量仪，将电极浸入标准校准溶液中，使其完全浸没。电极周围不要留有任何气泡，以避免测量错误。
5. 将电极留在标准校准溶液中，直到读数稳定。
6. 调整校准按钮，让数字显示屏显示与标准校准溶液相同的值。
7. 用一定量待测液体冲洗测量仪电极。不要将冲洗部分用作测试样品，以便尽量减少校准溶液的残留污染。这个过程不需要晾干测量仪的电极。如果实际情况不允许，请用蒸馏水冲洗电极，然后用干净的抹布吸干。

此时测量仪已完成校准，可以测量水和稀释剂样品的TDS。
不同测量仪的操作方法可能略有不同。使用测量仪之前，请仔细阅读制造商的说明手册。

PH计

每种稀释剂都有其可接受的pH范围。应使用经过校准的pH计检测稀释剂的混合/质量是否良好。校准通常是通过测量一系列具有不同温度下已知准确值的参考标准品（即所谓pH缓冲液）进行。
可按照以下方式检测：

校准前：
校准前应妥善清洁电极。如果存放过电极，请确保电极干净并且可以按照制造商的建议使用。

一般PH校准程序的主要步骤如下：

1. 打开pH计，留出足够的时间预热（请查看操作手册）。
2. 选择两种pH值与待测样品接近的pH缓冲液（公猪精液稀释液的pH范围为6.8到7.2）。第一种缓冲液的pH值应为7.00（用于零点调整）。第二种缓冲液应接近待测样品的pH值。
3. 确保传感器和缓冲液处于相同温度。如果不是，请留出温度平衡的时间。
4. 将所需量的缓冲液倒入单独的玻璃瓶或烧杯中。缓冲液会在玻璃烧杯中保持稳定最多2小时。为了尽量减少污染，不要直接在储存缓冲液的容器中校准电极。保持缓冲液容器密闭，避免吸收二氧化碳。不要将用过的缓冲液倒回存储瓶中。
5. 将电极放入第一种缓冲液中。读数稳定后，将pH计设置为测得温度下第一种缓冲液的pH值。大多数现代pH计具有“自动读数”功能，可以尽早检测到稳定读数。
6. 在更换缓冲液的间隔，用蒸馏水冲洗电极，然后再用第二种缓冲液冲洗。或者用蒸馏水冲洗电极，然后用无绒布轻轻擦干。
   避免摩擦或擦拭电极末端。
7. 对第二种缓冲溶液重复步骤5。
8. 完成pH计校准后，用样品液冲洗电极，然后将电极放入样品中进行pH值测量。

提示

- 在使用的间隔，将pH电极存放在存储溶液中；按照参考手册的说明将TDS和电导率探头存放在安全的包装材料中。
- 将所有技术设备的说明手册作为参考资料。
- 为每台关键设备准备好最重要的备件。
- 对于关键设备和程序，每月应练习一次备用方法，以便在意外发生时有备用程序可用。

水质

精液稀释剂生产需要I A型（ASTM标准）水质。
表3.5显示了I A型水的化学和微生物学要求。

表3.5：配制稀释剂的水质要求：

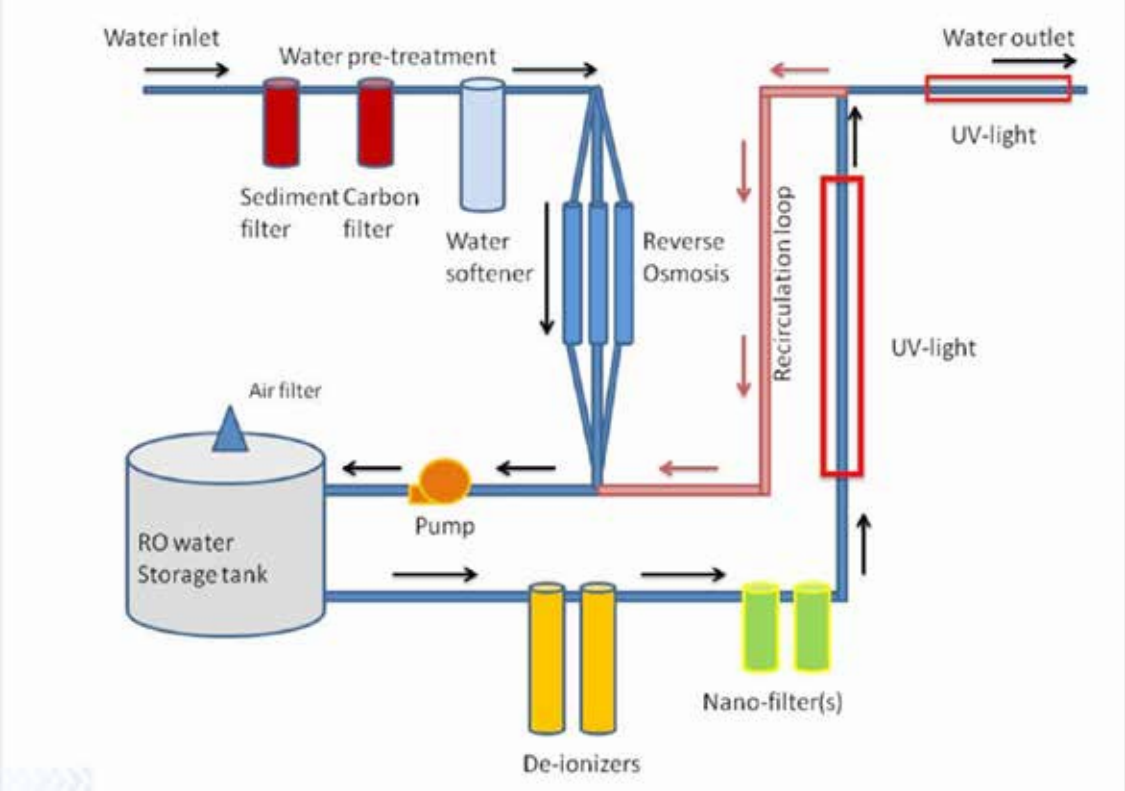
化学要求	I型
25° C下的电阻率(MΩ -cm)	>18
电导率(μS/cm)	<0.056
总有机碳(ppb)	<50
钠(ppb)	<1
氯(ppb)	<1
总二氧化硅(ppb)	<3
微生物学要求	**A型**
异养细菌计数(CFU/mL)	<1
内毒素（每毫升单位数）	<0.03

净水系统

净水系统的选择通常基于投资回报、当地水质、风险评估、当地可用供应商以及日常保养/维修等因素。
一般而言，应根据系统质量、当地可用服务、所需容量（以每小时生成的水升数）和易用性（包括便于消毒）作出选择。安装净水系统时应遵循以下几个原则：

- 防止生物膜形成：
  - 避免死角。安装循环回路以保持水流运动
  - 使用柔性软管/管路减少弯管数量
  - 减少接头和阀门的数量
  - 安装锥形储水罐
- 尽可能缩短系统与水龙头之间的距离
- 在储罐前后尽可能接近水龙头处设置紫外线灭菌和0.2微米（尽可能使用0.1微米）过滤器（用于消除微生物生长）
- 在再循环回路内安装专门的再循环水龙头（市面有售）
- 使用易于清洁的锥形储水罐
- 遵循适当的清洁和消毒程序
  - 清洁和消毒频率通常视微生物状况而定，但至少每年应进行4次（包括储水罐和反渗透膜）
  - 与制造商或供应商合作，制定整个系统的消毒程序，或由当地专家执行
  - 使用专门的反渗透膜清洗和消毒产品（产品应兼容反渗透膜）
  - 在系统上连接进料罐，用安全的方式引入清洁和消毒产品
  - 在消毒后冲洗系统以防止残留物，并使用测试条确保程序有效
- 通过独立的第三方测试进行微生物监测
- 消毒后更换过滤器
- 消毒后更换去离子树脂
- 如果水龙头处需要使用软管，请选择用后便于消毒的硅胶软管
- 在加注稀释剂桶之前，将水龙头打开一段时间，以冲掉水龙头中可能存留的细菌

图3.1：循环净水系统设计原则



备用水或应急用水

公猪站应有备用I A型水源，以防主要系统发生故障。管理人员应确定备用水量，需要考虑到生产量、每周生产天数（即周末与工作日和连续生产天数）、当地供水系统部件和服务的有效性、主要系统长期故障时快速补充应急用水的能力、主要系统在修复之前可能“停机”的预计时间长度（即“最坏情况”）。

备用水可以从外部购买并存放在现场，到期时予以更换。另一种方法是在现场保有两个独立的水系统，每个系统都用于生产相同质量的水。即使辅助系统的输出（每小时升数）可能较低，但如果需要，也可以在几个生产日内用它替代主系统。

水源水质

水源水也称为“原料水”（用于生产纯水的水），其水质是决定您是否需要购买水或安装现场净水系统的另一个重要因素。建议经常检测以确定和监测水源水质。尽管许多矿物质和化学物质都可以从水中过滤掉，但水源水质差可能会危及生产用水，从而影响稀释剂的质量。这会对精液质量产生不良影响。如果水源水符合饮用水质量要求，即可用于公猪站净水系统。在互联网上可以找到现行饮用水规定，包括扩展表和最大允许污染物。供应商应经常提供公共饮用水的检测结果。如果使用私有水井作为水源，需要经常检测水质。

水源水有三个主要质量指标：

- 总大肠菌群计数
  如果总大肠菌群计数较高，在水中可能也会发现有害的病毒、细菌和寄生虫。
- 粪大肠菌群或大肠杆菌存在情况
  粪大肠菌群是总大肠菌群的一个特定种类。人类和温血动物的粪便和消化系统含有数以百万计的粪大肠菌群。大肠杆菌是粪大肠菌群的一部分，可单独检测。粪大肠菌群和大肠杆菌通常是无害的。但若检测结果阳性，可能表明粪便和有害细菌已经进入水系统。
- pH值
  pH值描述了水的酸性或碱性程度。水的pH值可能影响水的外观和口感。如果pH值太低或太高，可能会损坏管道或导致铅等重金属从管道泄漏到水中。

表3.6列出了水质要求（EPA-环境保护局）的示例。请咨询您当地的健康/环境部门以了解要检测的污染物。

表3.6：美国国家二级饮用水管理条例（美国环保局）

无机物	含量
铝	<0.05 - 0.2 mg/L
氯化物	<250 mg/L
色度	<15（色度单位）
铜	<1.0 mg/L
腐蚀性	无腐蚀性
氟	<2.0 mg/L
发泡剂	<0.5 mg/L
铁	<0.3 mg/L
锰	<0.05 mg/L
气味	<3气味阈值
pH	<6.5-8.5
银	<0.10 mg/L
硫酸盐	<250 mg/L
总溶解固体	<500 mg/L
锌	<5 mg/L
有机物（消毒副产品/农药污染）	**含量**
三卤甲烷TTHM -总量	<80 mg/L
卤代乙酸HHA5 -总量	<60 mg/L
氯乙酸	<1 mg/L
溴乙酸	<0.01 mg/L

清洁和消毒

清洁和消毒计划包括清洁和消毒的频率和方法。猪舍、实验室（包括天花板、墙壁、地板、台面和橱柜）以及公猪栏舍都有通用的清洁和消毒程序。猪舍中的采精栏和假猪台以及实验室中的材料和设备则有更加具体的清洁和消毒程序。所有清洁和消毒程序都遵循一系列简单而重要的步骤：

1. 去除有机物质
2. 使用清洁剂清洁（浸泡）
3. 用刷子、海绵或抹布擦洗表面，以去除有机物质并溶解生物膜
4. 冲洗以稀释并去除清洁剂、油脂和蛋白质
5. 干燥
6. 消毒或灭菌以灭除剩余微生物
7. 每次使用后将清洁材料（刷子/海绵/抹布）清洁/消毒或更换

完全的清洁是上述程序中最重要的环节。如果没有完全的清洁，消毒表面并不会杀死微生物，因为有机物质会保护它们免受消毒剂的伤害。

使用清洁剂和消毒剂时，需要正确的浓度、水温和接触时间才能有效。严格按照制造商的说明进行操作，并确保充分冲洗以除去残留物。此外，使用的消毒剂必须能够有效对抗待处理环境中发现的细菌。请记住，随着时间的推移，细菌会获得对于消毒剂的抵抗力，因此有必要使用几种效力相当的市售产品。

材料的清洁和消毒实际上并不简单。如果处理不当，可能会导致材料受到污染或者清洁剂/消毒剂残留。如果含有残留物的物质直接接触精液，会对精液质量产生不良影响。这一点很关键，却很难监控，正因如此，许多公猪站决定使用一次性材料而不是可重复使用材料。

如第2部分“实验室设置”章节所述，应为墙壁、天花板、工作台面和其他器具选择合适的设计和材料，尽可能便于清洁和消毒。尽可能为墙壁、地板和工作台面使用光滑、坚固且无腐蚀性的材料（即浇注环氧树脂/树脂地面、不锈钢、固体石油基复合材料等）。需要每天清洁的区域（生产实验室、采精区和假猪台）只应设有生产所需的必要物品。例如：将多余耗材储存在储藏室而不是实验室，这样就不需要在实验室设置橱柜。在独立办公室处理文书工作。使用带轮手推车，仅将当日生产所需的耗材带入实验室。使用带轮不锈钢桌子，它们可以很方便地在生产实验室中移动，也可将其完全移开以便彻底清洁墙壁和地板。

清洁剂

清洁剂有很多种选择。清洁剂必须能有效去除有机物质，漂洗后必须不会留下残留物，并且必须无毒。安全的选择是使用实验室器皿清洁剂、饲料工业专用清洁剂，甚至是手洗餐具的液体清洁剂。
Decon90®是一种广为人知的用于清洁实验室器皿和表面的清洁剂。请确保在使用清洁剂后对所有表面和材料进行充分冲洗。天花板、墙壁和地板可以使用强力清洁剂，如SimpleGreen®。请按照标签上的说明进行操作。
不要使用喷瓶喷洒清洁产品，因为喷雾很容易喷到无法冲洗的区域。
我们建议准备一种可以用海绵或抹布涂抹在表面上的清洁溶液。

消毒剂

如果重复使用的材料无法进行灭菌处理，则需要消毒。同时，在每个生产日结束后，必须清洁设备和工作台，然后进行消毒。表3.7列出了消毒剂的活性成分。

表3.7：一组液体杀菌剂的活性水平

程序/产品	水溶液浓度	活性水平
消毒		
戊二醛	可变	高到中
邻苯二甲醛(OPA)	0.50%	高
过氧化氢	3-6%	高到中
甲醛	1-8%	高到低
二氧化氯	可变	高
过氧乙酸	可变	高
含氯化合物	500-5000 mL/L游离氯	中
醇（乙醇、异丙醇）	70%	中
酚类化合物	0.5-3%	中到低
碘化合物	30-50 mg/L游离碘至10000 mg/L可用碘0.1-0.2%	中到低
季铵化合物(QUADS)		低

来源：疾病预防控制中心(CDC)

有几种消毒剂非常适合公猪站使用：

- 70%异丙醇（优先选择）
- 杀菌漂白剂

精液头份生产期间，所有设备每次使用后均应清洁并消毒，包括CASA系统、计算机、键盘、分配器、显微镜、电话、移液器等。每个生产日结束后，务必清洁和消毒至台面上方35 cm/14英寸高度。确保尽可能拆卸设备并清洁所有部件。购买设备时，应将易于清洁作为一项重要的购买标准。

先清洁高处表面，再清洁低处表面，使用一次性清洁材料。我们建议在实验室使用清洁推车，因为它是一个独立的移动平台，可以把清洁桶放在上面。这样可以避免将清洁桶直接放在实验室桌上。污染物可能通过桶底从脏区域转移到净区。另外，推车及其内容物可以在清洁后彻底撤出实验室。

制定每日、每周和每月清洁计划。表3.8提供了一个类似计划示例。考虑雇用专业清洁工清洁公共房间，例如淋浴室、休息室、走廊、洗手间、办公室和其他公共区域，这样公猪站工作人员就可以专心进行生产区域的清洁和消毒。

表3.8：实验室和公共房间清洁计划示例

Where	What	Daily	2x weekly	Weekly	Monthly	Quaterly	Procedure no.	Product	Who
Laboratory	Floor-sweep-mop		X						professional
Laboratory	Anti fatigue mats		X						professional
Laboratory	Ceiling-Walls rotational (1 part every week)-vents - door			X					professional
Laboratory	Pass through windows: ceiling walls bottom and windows (except barn side)		X						professional
Laboratory	Reception window	X							Barn staff
Laboratory	Countertops + aisle	X							lab staff
Laboratory	Cabinet doors and drawer fronts		X						professional
Laboratory	Cabinets inside					X			Lab-staff
Laboratory	Specific lab equipment-machines-materials	X							Lab staff
-	Autodiluter	X							Lab staff
-	Microscope	X							Lab staff
-	Scales	X							Lab staff
-	Autodispensers	X							Lab staff
-	SPS-11	X							Lab staff
-	Conductivity meter	X							Lab staff
-	Heat sterilizer			X					Lab staff
-	100 liter extender vats	X							Lab staff
-	Extender vat scales/underneath				2X				Lab staff
-	Manual Sealer	X							Lab staff
-	Dish washer			X					Lab staff
-	MOFA storage cabinet			X					Lab staff
-	Refrigerator			X					Lab staff
Laboratory	Underneath equipment and machines (describe in procedure)			X					Lab staff
Laboratory	Office type equipment-machines (computer/keyboard/telephone/copier)		X						professional
Laboratory	Stools/chairs		X						professional
Laboratory	Glass and plastic ware / pitchers / lids (non disposables)	X							lab staff
Laboratory	Sinks	X							Lab staff
Laboratory	Trash cans (small)	X	X						Lab staff
Laboratory	Clean and disinfect racks		X		X				Lab staff
Laboratory	Clean and disinfect carts			X	X				professional
Other rooms	Cool room		X						professional
Other rooms	Shipping room		X						professional
Other rooms	RO-water production system-room (floor and whatever is realistic to clean)		X						professional
Other rooms	Hallway from lab towards the break room		X						professional
Other rooms	Showers			X					professional
Other rooms	Rest rooms			X					professional
Other rooms	Break room			3X					professional
Other rooms	Entry hall-bench (dirty side)				X				staff
Other rooms	Clean Break room Refrigerator				X				staff
Other rooms	RO-water production system				X				Water professional

务必为各个房间、设备和装置制定具体的清洁和消毒/灭菌程序。查看制造商说明，了解可以使用哪些清洁剂和消毒剂。

如果需要对直接接触精液的物品（如包装机软管）进行灭菌处理，我们建议使用高压灭菌器或高温烘箱。市面上可以买到专用指示胶带或试纸，以检查灭菌器是否达到足以杀灭微生物的适当温度和暴露时间。表3.9所示为不同灭菌方法、温度和暴露时间的示例。

表3.9：灭菌设备、温度和暴露时间示例

灭菌器类型	温度	暴露时间	干燥时间
重力置换蒸汽灭菌器	121°C (250°F)	30分钟	15-30分钟
重力置换蒸汽灭菌器	132°C (270°F)	15分钟	15-30分钟
预真空蒸汽灭菌器	132°C (270°F)		15-30分钟
蒸汽冲洗压力脉冲蒸汽灭菌器	132°C (270°F)		15-30分钟
干热灭菌器	170°C (340°F)	60分钟	
干热灭菌器	160°C (320°F)	120分钟	
干热灭菌器	150°C (300°F)	150分钟	
在水中煮沸	100°C (212°F)	20分钟	15-30分钟

如需了解清洁和消毒方法、清洁剂和消毒剂的详细信息，可以访问疾病预防控制中心(CDC)的网站：
https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/Disinfection/index.html

内部质量保证和控制

为了确保高水平的公猪精液生产标准，QC监控至关重要。应按照预定时间表，持续监测精液头份（最终产品）的精子细胞数量、后期活力和温度。对最终产品有影响的实验室流程和组件也是QC监控计划的重要环节。该程序应包括对加工当天开始时制备的稀释剂进行精液稀释后活力测试。总体而言，内部或外部监测的目标是最终产品的测试样品有95%或以上符合精液头份质量标准。

稀释剂质量控制

每种（制备）稀释剂都有pH值和电导率规格。如前所述，这两个参数都可以使用测量装置检测，以确保稀释剂制备正确。
这些测量应在制成的稀释剂充分混合并稳定后进行。不同稀释剂需要的稳定时间不同。请记录仪器校准和测量结果以便参考。

稀释后活力评估

应在每桶稀释剂稀释后（取2-3份样品）立即进行稀释后活力评估，并在2小时后对相同样品进行稀释后活力评估。如果稀释剂存在质量问题，就可以及早发现这些问题，并且可以制备新的稀释剂，避免产量大幅降低。如果使用的稀释剂超过一桶时，应在生产开始时对每桶稀释剂进行检测。及早发现问题可以留出足够时间制备新的稀释剂以便后面使用。

生产后活力评估

后期活力评估可评估生产后几天的精子活力。每24小时的活力下降幅度可以清楚地显示精液头份生产的正确执行程度。它还可以显示出精子细胞质量在有效期日前维持足够水平的可能性。总活力的目标是有效期日时保持总精子细胞数的70%以上。应在稀释前（如废弃不成熟的精液；如果问题持续存在，则暂停使用或可能进行剔除的公猪精液）或通过对个别精液（如有长期活力问题记录的精液）进行频繁的后期活力评估识别出精液质量有问题的公猪。
应根据风险评估确定个体公猪的检测频率。为了检测生产后活力问题，每头公猪至少需要每射精4次检测一次。要检测的样品数量取决于一个生产日生产的头份总数（参见表3.10）。需要对数量具有代表性的样本进行评估，以监测生产流程的质量以供内部参考，并使用评估结果来检测和解决问题，以防止以后继续出现。最后，系统必须确保生产的精液头份在有效期日时仍能达到最低活力值。

表3.10：不同置信度和错误率的样本数量

每周头份数量	95%	99%	95%	99%	95%	99%	← 置信水平
	10.0%	10.0%	5.0%	5.0%	2.0%	2.0%	← 偏差水平
100	25	35	44	59	77	90	
150	26	38	48	67	94	94	
200	27	39	51	72	105	117	
250	27	40	52	75	112	149	
300	27	41	53	77	117	159	
400	27	41	54	80	124	174	
500	28	42	55	82	128	183	
750	28	42	56	85	134	194	
1,000	28	43	57	86	138	204	
1,500	28	43	57	87	142	212	
2,000	28	43	58	88	143	215	
3,000	28	43	58	88	145	219	
4,000	28	44	58	89	146	222	
5,000	28	44	58	89	146	223	
6,000	28	44	58	89	146	224	
8,000	28	44	58	89	147	225	
10,000	28	44	58	89	147	225	

程序：

- 用5 mL样品试管（每个检验日1管）从批次或单头公猪采精中保留数量具有代表性的样品（根据表3.10）。此外，将一份样品保存在管中（批次/一次射精的最后一份）或包装袋中。
- 根据稀释剂制造商提供的说明重新激活样品以便评估。
  重新激活步骤：
  - 倒置精液样品管，直到所有细胞重新均匀悬浮。
  - 在38°C/100°F的加热器中孵育样品
- 请注意，孵育时间取决于稀释剂的类型，应根据稀释剂标签/说明或供应商的直接指导确定。应在到期日和生产日（0日）与到期日之间的至少一天执行生产后活力检查。
  最常用的方法是在第1天再进行一次检查。
- 如果在检验日精液的活力评分小于合格/不合格截止百分比，应重新检测样品以确认结果。
- 如果此次分析与上次分析（一般是第0天或第1天）分析之间的活力差异超过每24小时3%，应重新分析样品以确认结果。

表3.11中列出了最低标准。

监测每头份精子细胞数

为了确保达到最低阈值并确定不同头份之间的差异，需要监测精子细胞的数量。需要对数量具有代表性的样品进行监测。最好使用Nucleocounter®或流式细胞仪等精确设备。这种设备价格昂贵，在商业AI实验室中并不普及。如果没有设备，可将检测外包给专业第三方机构。

如前所述，另一种准确的方案是使用计数室（血细胞计数器）和显微镜。但是，这种流程较为耗时，需要技术熟练且经验丰富的技术人员。

温度管理

一些稀释剂可以防止温度波动导致的精子损伤。但是，采集、评估、加工、储存和运输过程中的温度管理仍然非常重要。应尽可能减小精液头份生产、储存和运输过程中的温差压力。精液生产过程的温度管理包括以下关键环节：

- 监测采精过程中的精液温度和从采精到稀释的过渡（时间）。测量从采精到准备好稀释过渡期间不同时间点的精液温度。从中可以得出材料和稀释剂所需温度。
- 请注意，不同季节和公猪站的精液温度可能有所不同。因此需要经常测量以便相应调整材料和稀释剂的温度。
- 材料或稀释剂与精液温度的最大允许温差为±2°C/3.6°F。
- 使用经过校准的温度计或比照经过校准的温度计检查温度计，以确保读数的准确度。
- 检查加热装置的温度设置（如有）。请注意，温度设置并不一定准确，应定期用温度计检查。
- 评估活力的显微镜应该具备温度设定为38°C/100°F（且在此温度下经过检查/确认）的加热载物台，以使精液表现出最大活力。
- 稀释后，应在运输前将精液逐渐冷却至17±2°C/63±3.6°F。虽然可以买到对抗温度波动的商用稀释剂，但我们仍建议逐渐达到该储存和运输温度，直到有足够的科学证据证明不需要如此。

微生物检测

微生物检测通常由外部专业实验室进行，但也可以在内部进行。对最终产品使用的水、稀释剂和环境（如假猪台以及台面和水槽/排水管）进行采样。有关更多信息，请参阅第3部分“外部质量控制”章节或咨询PIC技术服务团队。

外部质量控制

出于多种原因考虑，需要对最终产品进行外部质量控制。这样可以确保设备校准正确，精液头份质量在可接受的范围内。在经过认证的独立男科实验室进行常规外部监测以评估精子细胞数量、活力和形态是质量控制计划的一大要素。此类男科实验室的好处是会使用CASA系统进行活力评估，并使用精确且经过验证的方法来确定浓度，例如Nucleocounter®或流式细胞仪。形态评分最好是用固定或染色的精子细胞，在1000倍放大倍率下人工评估，记录所有具体的异常分类。表3.11列出了高质量精液头份的最低标准。

表3.11：精液头份在到期日应满足的最低标准

精液参数	最低标准
体积	偏离目标< ±1 mL
每头份精子细胞数	偏离目标<± 5%
运动精子细胞	> 60%
前向运动精子细胞	> 50%
每24小时（前向）运动力损失	< 3%
凝集	< 30%
异常精子细胞	< 30%
细胞原生质滴（作为异常细胞的一部分）	< 20%
细菌污染*	< 1CFU/mL

*在37℃有氧培养48小时后测量

微生物检测

精液头份中的细菌可能会降低精液质量。精液稀释剂含有抗生素，可以灭活精液中的细菌。但是，如果污染较为严重，抗生素浓度可能不足以灭活所有细菌。细菌对抗菌素的耐药性是精液头份细菌污染的另一个原因。通过对精液头份进行微生物学检测，可以深入了解精液生产的卫生水平。稀释剂用纯净水制备，占精液头份体积的至少75%。因此，必须定期检测水和稀释剂。精液中发现的大多数细菌源自动物、人类或环境，并且在有氧条件和20°C/68°F到45°C/113°F之间的中等温度下生长最为旺盛。因此，微生物检测可以在37°C/99°F温度和有氧条件下进行。

- 微生物检测应在稀释剂稀释后至少24小时进行，为抗生素留出灭活细菌的时间
- 竞争导致某些细菌繁殖速度较慢，只能在其他细菌失活的情况下繁殖。
  因此，即使新鲜样品中未观察到生长，对存放时间较长的样品取一部分检查也可能观察到细菌生长
- 如果经常发现细菌，说明：
  - 有必要进行鉴别以找出污染来源
  - 检测细菌对包括稀释剂抗生素在内的一组抗生素的敏感性可以得到关于耐药性发展的信息

HACCP

HACCP表示危害分析关键控制点，HACCP是食品生产中使用的一种系统的预防方法，用于从生物、化学和物理角度确保食品安全。
它可以分析生产过程中可能导致成品不安全的危险，并设计测量以降低风险水平。这种方法非常适合于精液生产。HACCP的七大原则如下：

1. 进行危害分析：
   找出会导致精液头份质量不合格的危险。考虑冷冲击、细菌污染、稀释剂制备错误、水质、交叉污染、温度变化、有毒物质等。
2. 确定关键控制点：
   分析从采精到精液包装、储存和运输的每一个步骤和使用的所有材料。精液生产中的关键点有：水质（化学和微生物）、稀释剂质量（pH值和电导率）、抗生素有效性、污染点以及接触精液的材料中的非有意危险物质，如乳胶或含粉手套、漂白棉纱布、软管中的清洁剂残留物等。

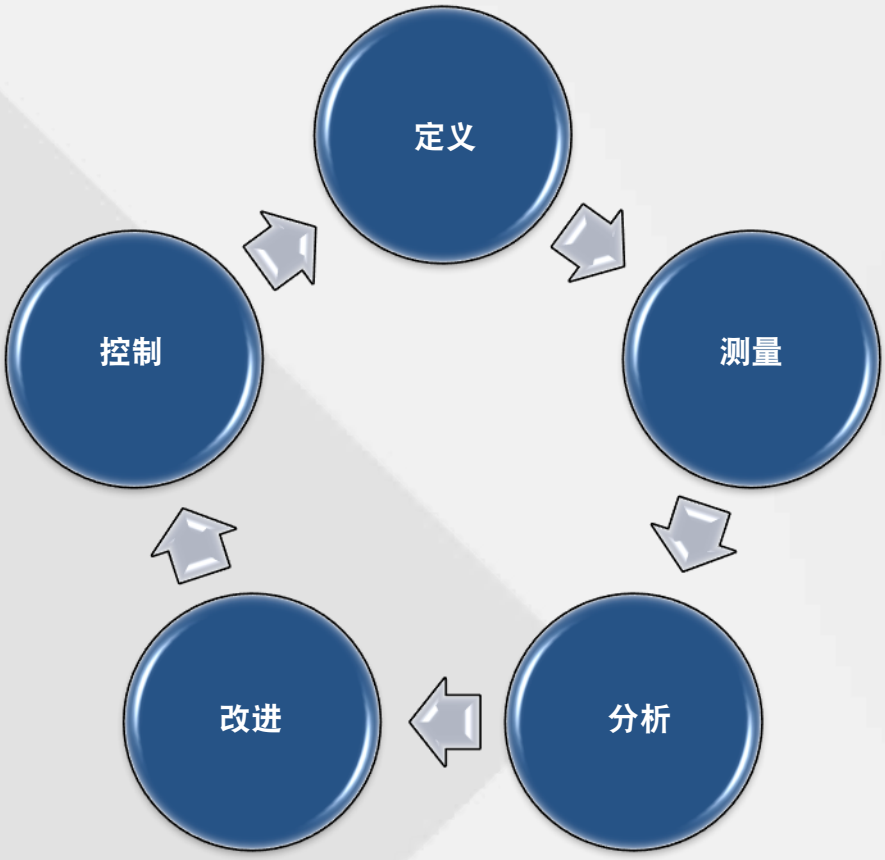
3. 确定关键限值：
为每个控制点设置关键限值。例如：
   a. 微生物状态：
      ii. 精液头份：<1 CFU/mL
      iii. 清洁后的台面表面：< 3 CFU/cm2
      iv. 稀释剂：<1 CFU/mL
      v. 净化水（用于稀释剂制备）：<1 CFU/mL
      vi. 水源水：大肠菌群<1 CFU/100 mL
      vii. 清洁后的假猪台表面：< 10 CFU/cm2
   b. 温度：
      iii. 采精杯：38°C ± 2°C/100°F±3.6°F
      iv. 加热板和显微镜载玻片、盖玻片和样品管：38°C ± 1°C/100°F±1.8°F
      v. 显微镜加热载物台：38°C ± 1°C/100°F±1.8°F
      vi. 塑料内衬、管子和袋子：如果从存储处取出，应确保加热时间足够，使温度至少为室温(20°C/68°F)且不高于稀释后的精液温度
      vii. 稀释剂：稀释前精液温度± 2°C/3.6°F
      viii. 冷藏室：17°C ± 2°C/63°F±3.6°F
4. 监控CCP：
确定CCP并确定关键限值之后，请对具有代表性数量的样品进行相关测试。
   e. 对于用于制备稀释剂的水，应测量电导率。
   对于稀释剂，应测量电导率和pH值。
   f. 精液到达实验室时测量温度并检查稀释剂的温度。
   g. 经常（每季度一次）分析水源（入口处）有无重金属和有机物。
   h. 检测水、稀释剂和精液头份有无微生物污染。
   i. 检测清洁后表面的污染情况，以检查消毒程序的有效性。
   j. 使用实验室的秤之前，用标准砝码检测。
   k. 每次生产前，应检测加热装置的温度。
5. 确定纠正措施：
如果偏离确定的关键限值，需要采取纠正措施。
纠正措施的一个重要目的是避免销售可能对受孕造成不良影响的不合格精液头份。纠正措施应包括以下要素：
   - 确定并纠正不合规的原因
   - 确定不合规产品的处置方式
   - 记录已采取的纠正措施

示例：
   - 有细菌污染的净化水：
      - 对净水系统进行消毒
      - 更换树脂/过滤器
      - 清理储水箱
      - 检查UV过滤器并根据需要更换
      - 使用购买的水生产稀释剂或考虑将水煮沸（具体取决于所需体积）
      - 如果还有污染，您可能需要考虑重新设计净水系统，方法包括重新循环水、更换储水箱或更换/升级紫外线灯能力

完成更改后，将偏差、纠正措施和测试结果记录在日志中。

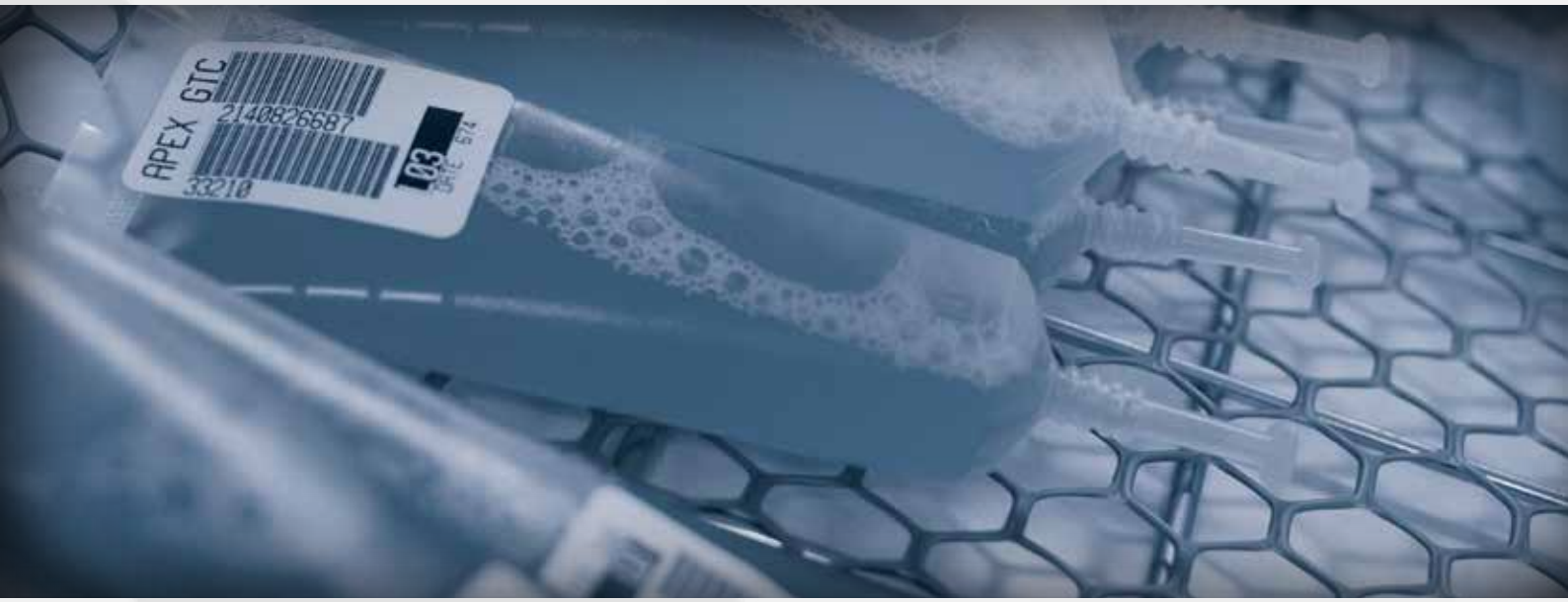
6. 制定并验证能够确保HACCP方法按预期发挥作用的程序：
   验证程序可能包括诸如审核HACCP计划、CCP记录、关键限值（基于监测结果）、微生物检测样品数量和测试频率等活动。
7. 保存记录
   记录非常重要。应记录检测结果，对结果进行分析，利用得出的信息来改进程序。这一流程最终应重新设定最低标准，以改善对生产流程的控制，降低风险。

图3.2：HACCP原则



第4部分

遗传考虑因素



这部分将概述基因管理的重要性，然后提出一些建议，并介绍PIC为支持公猪站管理人员的决策而开发的一些工具。

猪群遗传潜力的重要之处

公猪站发出的每一份精液头份都会对生产出的猪只的生产性能（进而对利润）产生极大影响。假设平均每次采精产出30头份，影响到的商品猪数量可能高达大约50000头（表4.1）。

表4.1：每次采精可能影响到的出生商品猪

终端公猪	196头商品猪
GP公猪	每窝选育4头康贝尔后备母猪→每头康贝尔一生可产出60头商品猪→每次采精可产出3360头商品猪
GGP公猪	每窝选育4头纯系后备母猪→每头纯系后备母猪一生可产出15头康贝尔后备母猪→每头康贝尔一生可产出60头商品猪→每次采精可产出50400头商品猪

PIC公猪的选育是依据其后代在商业生产中的性能潜力。选育计划的重点在于最大限度地提高PIC遗传特性在我们客户运营中的利润潜力，PIC指数代表动物在所有盈利因素方面的遗传潜力。
PIC指数值显示，终端父系指数每提高一分，都相当于每头子代0.10美元的利润增长潜力。对于母系，指数每提高一分相当于每头子代0.05美元的利润增长潜力。这使得遗传指数成为公猪站库存管理的重要考虑因素。继续我们前面的例子，指数提高1分，每次采精最多可以为生产系统提高的价值是3000美元（表4.2）。

表4.2：指数提高1分带来的附加价值示例

父本	对于生产系统的价值
终端公猪	*每次采精19.20美元！*
GP公猪	*每次采精187美元！*
GGP公猪	*每次采精2808美元！*

管理猪群遗传潜力

公猪站的遗传潜力会随着时间的推移而增加，活性库存生产的商品猪价值也随之增加。在实际中，这是通过引入高指数公猪来替代低指数公猪来管理。有两种策略可以优化公猪站对猪肉生产系统的贡献：

1. 根据最佳预计替换率主动订购公猪
2. 根据遗传价值积极管理淘汰公猪（经过必要的生产淘汰后）

尽管遗传潜力是公猪站影响猪肉生产经济的主要因素，但公猪站的运营成本也是一个重要的考虑因素。建议替换率的依据是在年轻公猪为商品猪流量贡献的遗传价值与公猪年龄增加时每头份生产成本降低之间取得平衡。通常情况下，更换率目标约为：

- GGP公猪130%
- GP公猪100%
- CBV+/Profit+、Max公猪95%（现有指数最高的终端公猪）
- 标准AI终端公猪70%。

最佳公猪使用年限(OBL)

PIC的OBL工具可以帮助公猪站管理人员根据每头终端公猪对生产系统的贡献，安排淘汰决策的优先顺序。这一计算主要由公猪当前的遗传优势及其年龄（用于评估剩余生产力和预期精液产量）决定。一头公猪在公猪站度过的一生中，总利润贡献是这两个因素的组合，然而随着公猪年龄的增长，每头公猪对总体系统盈利能力的相对影响会发生变化：

- 进入生产公猪库存：
  - 遗传优势：相对于公猪站年龄较大的公猪，年轻高指数公猪对于生产体系代表着较新/较高的遗传潜力，由其精液头份生产出的商品猪在生长/育肥的过程中性能潜力较高。这是年轻高指数公猪的主要价值驱动因素。
  - 精液产出：公猪在进入公猪站的初期精液产出水平最低。
    因此，公猪首次进入公猪站时，生产每头份的成本最高。
- 在公猪站几个月后：
  - 遗传优势：公猪指数开始降低。由于相比较基因遗传优势，正在用于生产的公猪会被PIC遗传农场的年轻公猪取代，这反映出与年龄较大的公猪相比，新进站的高指数公猪能生产出性能潜力更高的商品猪。
  - 精液产出：公猪达到其精液生产曲线的顶峰，每头份成本降低，因而为生产系统提供的价值增加。在这个阶段，公猪站的成本优势平衡了公猪遗传价值的降低。
- 公猪最佳留站寿命结束时：
  - 遗传优势：公猪指数继续降低，表示以更年轻的新公猪为父本生产的商品猪性能潜力提升越来越高。
  - 精液产出：公猪的精液生产曲线达到稳定期。这头年长公猪的每头份生产成本较低，不再能够平衡新公猪带来的遗传潜力差距。此时，生产系统可以通过用高指数年轻公猪代替老公猪来获得更多价值。

使用最佳公猪使用年限可以确保PIC遗传农场实现稳健的遗传改良，从而实现商品猪清栏时的产品差异化。

其它工具

PIC在不断寻找机会，使用最好的信息进一步改良公猪站的专用服务和产品。我们将不同公猪站客户定期提供的精液质量数据纳入整体指数计算，力求不断提高公猪精液质量。PICtraq®还为公猪站提供了其他不同分析工具。如需了解更多信息，请联系PIC基因服务代表。

附录A:

猪只饮水指导原则

项目	PPM（百万分率）
钙	<1000
氯化物	<400
铜	<5
氟	<2-3
硬度（碳酸钙）	<60软 >200硬
铁	<0.5
铅	<0.1
镁	<400
锰	<0.10
汞	<0.003
亚硝酸盐	<10
硝酸盐	<100
磷	<7.80
钾	<3
钠	<150
硒	<0.05
固体溶解	<1000
硫酸盐	<1000
锌	<40
每毫升总活菌计数(TVC) 37 °C/99 °F	低，但更重要的是样品之间无波动，目标是 <200 TVC/mL
22 °C/72 °F	<10000 TVC/mL
每100 mL大肠菌群含量	零

采编自NRC (2012)和1987年加拿大安大略省渥太华内陆水务局水质指南特别工作组编制的加拿大水质指南。

根据总溶解固体评估猪饮用水质量(NRC, 2012)。

总溶解固体(MG/L)	等级	备注
<1000	安全	对猪只没有构成危害
1000 - 2999	合格	不适应的猪只会出现轻度腹泻
3,000 - 4,999	合格	可能导致暂时拒绝饮水
5,000 - 6,999	合理	避免给种猪群提供含量更高的水
>7000	不适宜	对于种猪群和热应激猪群构成危害

附录B：

饲料水平与公猪体重的关系[1]

体重(KG)	体重(LB)	MCAL ME/D	MCAL NE/D	饲料(LB/D)	饲料(KG/D)
<159	<350	7.2	5.3	5.0	2.3
159	350	7.9	5.9	5.5	2.5
205	450	8.6	6.4	6.0	2.7
250	550	9.5	7.0	6.6	3.0
295	650	10.4	7.7	7.2	3.3
341	750	11.2	8.3	7.8	3.5

1.采编自PIC技术备忘录142，假设环境温度为17-18°C/62-65°F，基于膳食能量密度2350 kcal NRC NE/kg。

附录C:

使用折射计进行精液稀释剂QC

液体精液稀释剂的制备是精液加工最易受影响的环节之一。如果稀释剂与水的比例错误，可能会对所保存精液细胞的活力产生不良影响。根据混合不充分的程度，可能导致轻微不良影响，也可能导致头份中精子细胞功能完全损失。作为一种便宜易用的工具，折射测定法可以用于对适当的稀释剂制备进行复查。

折射计

Brix 18折射计是最佳选择。其量程为1%到18% Brix，分度为1%。
校准-每周按照用户手册校准折射仪。大多数情况下使用纯水设定0% Brix。

设定基准

Brix值因稀释剂而异，取决于其成分。水质也会影响该值。为了设定目标，需要了解您的具体数值，大多数情况下应在4%到5% Brix之间。连续五个生产日测量Brix值，以确定可接受范围。每次更换稀释剂或稀释剂成分时都必须重复此程序。

使用折射计

确保装置经过校准。使用移液器在蓝色测量区域滴一滴稀释剂。液体必须覆盖整个区域。通过目镜观察并读取Brix值。如果该值超出范围（大于±0.5），请确保折射计校准和使用方式正确，然后重新测量。如果测量结果超出范围，请勿使用该稀释剂保存精液，应准备一桶新的稀释剂。

要点:

- 折射计应定期校准
- 如果改变稀释剂或添加其他成分，Brix值可能会改变
- 如果水质改变，Brix值可能会改变
- 每次均应在相同的稀释剂温度下进行测量
- 液体必须覆盖整个蓝色测量区域

附录D:

精液包装示例

1. 事先准备好冰袋及内衬。

2. 精液在内层泡沫箱的保温袋里分层放好。

3. 在顶上放置一个室温的冰袋

4. 盖上盖子，并用胶带密封。

5. 密封好的内层泡沫箱外面再用保温袋包裹。

6. 包裹好的内层泡沫箱放置在外层的泡沫箱内，并放置些胶体袋(根据季节需要调整胶体袋的温度)。

7. 盖上盖子并密封。

8. 密封好后，放入纸箱中打包待运。

PIC中国
地址: 上海市徐汇区漕宝路509号华美达广场1101室 | 电话: 800-820-5337 021-34612020 | 传真: 021-34612296
网址: www.picchina.com