

第十一届猪人工授精关键技术研讨会

公猪精液带毒与精液净化

成都美强兽医技术有限公司 况 洪 安徽 六安 2017/04/10-13



农业部办公厅文件

农办牧[2016]24号

农业部办公厅关于 2015 年度种畜禽质量安全 监督检验测定结果的通报

检测结果表明,精液产品质量安全总体较好,种公猪生产性能合格率不高,种鸡生产性能保持稳定。从精液产品来看,9家企业的15头种公牛的冷冻精液产品和23家企业的100头种猪常温精液产品不符合国家标准,不合格指标包括前进运动精子数、精子畸形率、细菌数、精子活力、有效期和剂量等。从种公猪生产性能测定结果来看,有23家种猪生产企业的110头种公猪不合格,不合格指标包括测定期死亡、180日龄体重未达85kg和不符合品种种用标准要求等。

公猪精液中能检出的病毒



ᄴᅜ				病	毒		
地区	总样本数	CSFV	PRRSV	PCV-2	PRV	PPV	JEV
山东省	727	2. 48%	3. 71%	4. 54%	0. 96%	1. 24%	/
四川省	74	3. 9%	21. 1%	/	19. 7%	3. 9%	5. 3%
广西省	328	16. 76%	11. 59%	CSF	V和PRRSV混	合感染率4.	27%
广西省	441	10. 20%	2. 04%	7. 48%	0. 45%	20. 63%	/
云南省	797	/	/	/	/	/	0. 88%
海南省	375	8. 53%	11. 47%	1. 33%	4. 8%	2. 4%	/
上海市	355	1. 41%	1. 69%	1. 69%	2. 54%	21. 1%	/
江苏 浙江 安徽 福建 上海	186	12. 9%	9. 68%	CSF	V和PRRSV混	合感染率5.	91%

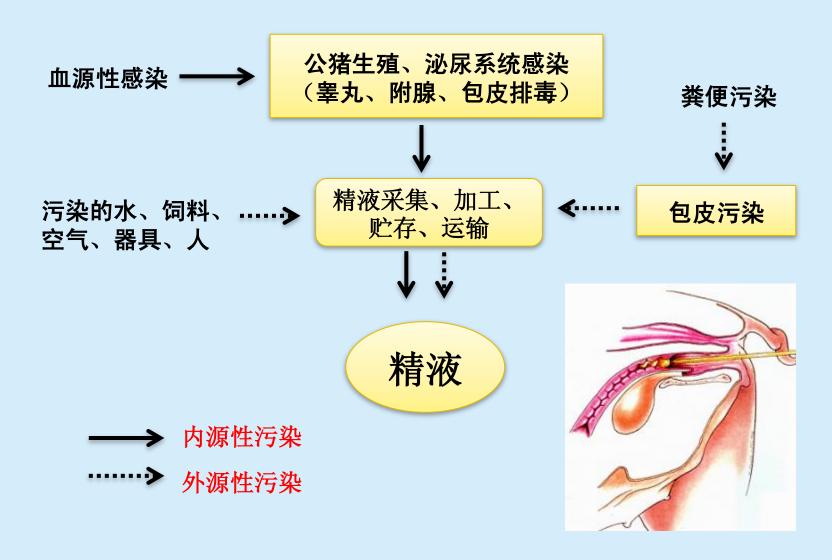
公猪精液中能检出的病毒



- 国内公猪精液中普遍存在蓝耳、猪瘟、伪狂等病毒;
- 精液中多病原混合存在现象普遍;
- 蓝耳病、猪瘟、伪狂、细小等已证明可通过精液传播;
- 在考虑疫病防控和净化时,必须重视种公猪精液带毒和疫病传播风险问题。

病原污染公猪精液的方式(内源、外源)





精液污染病原体的危害



- ≫ 影响精子活性──由于营养物质减少、pH值降低、毒素产生不成熟,生存能力、运动能力、繁殖能力下降,导致精子细胞精子凝集、死亡。如E. coli、PRRSV
 降低精子保存时间
- ▶ 导致母猪不育和繁殖障碍—由于公猪精子浆膜上有对卵子透明带的接受器,可将病原传给卵子母猪子宫内膜炎怀孕早期发生子宫内感染,胚胎被吸收、返情;怀孕中后期感染导致流产、产死胎/木乃伊胎仔猪隐性带毒
- ❷ 疫病扩散……

精液质量的控制——疾病传播的防控





引种及疫病检测
科学的饲养管理和良好的舍饲条件
严格的生物安全措施
病原监测、及时淘汰净化病猪
建立SPF的人工授精中心
精液采集、加工处理、检测、储存、运输过程的控制
正确的人工授精操作





- 1、能快速杀灭精液中大多数细菌及其他微生物;
- 2、能彻底杀灭PRRSV(经典株及变异株)、PRV、PPV、PCV-2; CFSV;
- 3、对精子、受精卵、胚胎发育安全且能显著延长精液保存时间;
- 4、能显著减少母猪产道疾病,降低母猪流产率、死胎率、仔猪畸形率,提 高母猪生产性能;



靓精®对五种猪病病毒在精液环境和非精液环境中的杀灭作用

作用环境	猪病病毒	病毒量	培养细胞	接种方式	靓精® 完全杀灭病毒浓度
	PPV	2000 TCID50/mL	ST 细胞	同步接种	0.156%
	PCV-2	2000 IFAD50/mL	PK15-ZJU 细胞	同步接种	0.156%
非精液中	CSFV	2000 IFAD 50/mL	ST 细胞	单层细胞接种	0.156%
	PRRSV	2000 TCID50/mL	Marc-145 细胞	单层细胞接种	0.125%
	PRV	2000 TCID50/mL	ST 细胞	单层细胞接种	0.125%
	PPV	2000 TCID50/mL	ST 细胞	同步接种	0.125%
	PCV-2	2000 IFAD50/mL	PK15-ZJU 细胞	同步接种	0.0625%
精液中	CSFV	2000 IFAD50/mL	ST 细胞	单层细胞接种	0.250%
	PRRSV	2000 TCID50/mL	Marc-145 细胞	单层细胞接种	0.125%
	PRV	2000 TCID50/mL	ST 细胞	单层细胞接种	0.125%

可以看出,靓精®对五种病毒的完全杀灭浓度均远低于安全浓度1.0%。





靓精® ——对口蹄疫的杀灭效果研究



对口蹄疫0S/99病毒杀灭研究报告——观察结果如下表

名 称₽	保护剂对口蹄疫 OS/99 病毒杀灭作用(病毒浓度为 200 TCID50/0.1ml)₽											
保护剂终浓度(%)↓	1.25₽	0.625+	0.3134	0.156	0.078+	0.039.,	0.019.	病毒;	2000000000		() ₽	空白
								原毒₽	504⊃	10₽	0.625.,	对照₽
			同步	接种B	HK (C	PE 孔数) ₽		· · · · · · · ·			
15年12月2日(1d)。	2/8₽	0/8€	0/8€3	0/8₽	2/8↩	5/843	4/8₽	5/5₽	5/5₽	5/5₽	0/5€	0/5¢
15年12月3日(2d)。	2/843	1/8₽	0/8₽	0/8€	3/8₽	5/8€	5/8₽	5/5₽	5/5₽	5/5₽	0/5₽	0/5₽

在保护剂不影响细胞生长的最大终浓度0.625%情况下,对实验中200 TCID50/0.1ml口蹄疫病毒0S/99毒液可产生杀灭效果。

采用实验中口蹄疫病毒0S/99毒液200 TCID50/0.1ml条件下,将保护剂稀释不同浓度,其中保护剂对病毒杀灭效果最佳(终浓度)范围在0.625%~0.078%之间。

视精®

——部分细菌杀灭试验数据



视精®对五株病原细菌的杀灭率和杀灭指数实验结果

200.00	to let a serie	处理前菌数	作用	1min	作用	5min	作用	10min
菌名	觀精◎浓度	cfu/mL	杀灭率%	杀灭指数	杀灭率%	杀灭指数	杀灭率%	杀灭指数
_L_07_+r_#r	0.5%		84.8	10 ¹	98.1	10 ²	100	106
大肠杆菌 CVCC1570	1.0%	1.54 × 10 ⁶	99.2	10 ²	99.8	103	100	106
	2%		100	106	100	106	100	106
	0.5%		98.8	10 ²	100	106	100	106
	1.0%	1.62 × 106	100	106	100	106	100	106
CVCC2081	2.0%		100	10 ⁶	100	10 ⁶	100	10 ⁶
金黄色葡萄球菌	0.5%	1.43×10 ⁶	35.4	100	65.8	10 ¹	88.6	10 ¹
CVCC1882	1.0%		84.3	101	98.6	10 ²	100	10 ⁶
Crcciooz	2.0%		100	10 ⁶	100	10 ⁶	100	10 ⁶
沙门	0.5%		28.4	10°	36.2	10°	52.3	10°
氏菌	1.0%	1.82 × 10 ⁶	98.5	10 ²	99.9	10 ³	100	106
C79-13	2.0%		100	106	100	106	100	106
巴氏杆菌 C44-1	0.5%		48.7	10°	62.5	10 ¹	87.3	10 ¹
	1.0%	1.26 × 106	99.8	10 ³	100	106	100	106
	2.0%		100	106	100	106	100	106

注: 杀灭率=(每毫升原菌液活菌数-处理后残留活菌数)/每毫升原菌液活菌数 杀灭指数=处理前后活菌数数量级之差



从表中可以看出:

- ≥ 2% 制精®对实验中所示全部病原菌在1分钟内能达到100%的杀灭率;
- 1%制精®对实验中所示全部病原菌在10分钟内的杀灭率能到达到100%, 作用5分钟能对所有病原菌达到98%以上的杀灭率;
- ▶ 0.5% 制精®在10分钟内对两株大肠杆菌的杀灭率能达到100%,而对另外四株病原菌的杀灭率在10分钟内不能完全杀灭。

靓精® ——对精子活力影响部分试验数据



表1 不同梯度浓度的靓精®对精子总体活力的影响

编号	靓精®终浓度	1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	8d
0	对照	87.59	78.74	75.13	73.79	71.93	67.68	51.55	43.77
1	0.5%	78.47	77.36	78.56	79.31	75.82	69.59	65.62	60.75
2	0.75%	88.73	81.49	79.36	75.13	74.42	74.12	61.27	58.52
3	1%	87.64	78.86	76.54	74.36	72.84	68.25	53.49	47.62
4	2%	9.29	6.36	5.56	3.67				

表2 不同梯度浓度的靓精®对精子前进式活力的影响

编号	视精®终浓度	1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	8d
0	对照	61.83	63.58	60.12	48.94	45.72	43.73	27.04	17.79
1	0.5%	52.40	50.39	47.87	45.94	45.21	44.73	41.62	34.28
2	0.75%	68.32	65.89	63.28	59.36	55.74	51.38	40.27	33.91
3	1%	62.04	63.89	61.43	50.26	46.58	44.87	31.63	23.11
4	2%	3.22	2.08	2.8	0.51				

靓精®

对精子活力影响部分试验数据



表3 不同梯度浓度的靓精®对精子快速前进活力的影响

编号	靓精®终浓度	1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	8d
0	对照	30.44	36.15	29.74	26.24	21.67	16.63	8.56	5.33
1	0.5%	29.24	31.42	28.98	19.88	17.75	17.16	16.51	9.86
2	0.75%	44.68	41.57	40.98	37.49	34.82	30.58	25.36	19.52
3	1.0%	31.23	32.04	30.06	27.87	23.52	18.43	10.11	7.25
4	2.0%	0.47	1.08	0.76	0				

注:表1、表2、表3中靓精®的浓度为稀释精液后的终浓度;

三种精子活力均百分比表示,表中数据省略%;

精液与稀释液的稀释比例均为1:1稀释,即靓精初始浓度为终浓度的两倍;



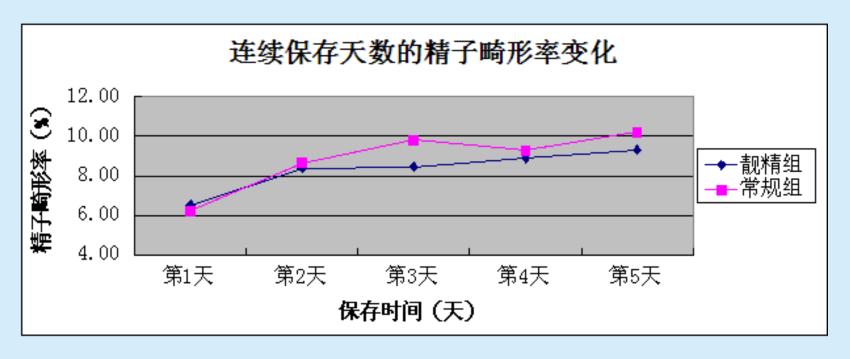
从表1、表2、表3中可以看出:

- 添加终浓度为0.5%和1%靓精®组的精子总体活力和前进式活力在同一时间均高于对照组,而快速前进活力在前五天各项指标均比对照组低,从第六天起,各项指标均比对照组高;
- 添加终浓度为0.75% 制精®的精液精子的三项活力指标在试验的同一时间均高于对照组及其他试验组;
- ▶ 与对照组相比,添加终浓度为2%的靓精®会降低精子总体活力、精子前进式活力及快速前进式活力,缩短精液保存时间。即终浓度低于1.0%为靓精®安全使用浓度。

靓精®——对精子畸形率的影响



	1d	2d	3d	4d	5d
对照组	6.22%	8.66%	9.27%	9.27%	10.21%
靓精®组	6.53%	8.39%	8.44%	8.88%	9.33%



研究报告详见《上海畜牧兽医通讯》2015年02期,"靓精对稀释猪精液保存质量的影响",曹建国等



组别	重复次数	培养卵数	成熟卵数	成熟率 (% ± SD)
对照	3	113	86	76.11 ± 3.73
0.5% 靓精	3	119	94	78.99 ± 5.01
0.75% 靓精	3	113	88	77.88 ± 3.64
1% 靓精	3	117	90	76.92 ± 3.44

卵母细胞、胚胎的卵裂率、囊胚率及囊胚总细胞数、凋亡细胞数在各组间都没有显著差异。

结果表明靓精不会危害卵母细胞的成熟及其后续发育能力。

(研究报告详见:《黑龙江动物繁殖》2016年01期,"靓精对猪精子、卵母细胞和胚胎的影响",陈丹朔等)







使用浓度靓精[®]对公猪精子、受精卵及胚胎发育安全无害,并能降低精子畸形率,延长精子存活时间;

制精[®]在10分钟内能完全杀灭五种试验病菌,能完全杀灭精液中的六种猪病病毒。

靓精[®]能作为精液净化保护剂应用于生产养殖中。





中國農業大學动物医学院

College of Veterinary Medicine, China Agricultural University

北京市海淀区圆明园西路2号

Ψ

检测报告书。

Ü

送检单位: 成都美强兽医技术服务有限公司↩

送检时间: 2015/09/25₽

送检样品:"靓精"精液保护剂→

检测项目:"靓精"抗PRRSV(JXwn-F8)效果 →

۳



一、 检测结果

各稀释浓度"靓精"杀灭 PRRSV (2000TCID50) IFA 检测结果→

	实验组₽	IFA(阳性	"+",阴忱	生"一")。	ته
A÷	<mark>0.05%+JXwn</mark> ∻	+ ₽	+₽	+₽	ç
	PBS+JXwn₽		+₽		ç
В∉	<mark>0.1%+JXwn</mark> ↔	+ ₽	+₽	- ₽	ç
	PBS+JXwn₽		+₽		Ç
C∉	<mark>0. 2%+JXwn</mark> ↔	-	-	- ₽	Ç
	PBS+JXwn₽		+₽		Ç
D∉	0. 4%+JXwn	-	7	- ₽	Ç
	PBS+JXwn₽		+₽		Ç
E∉	<mark>0.8%+JXwn</mark> ↔	-	7	- ₽	Ç
	PBS+JXwn₽		+₽		Ç
	对照组↩		P		ç
1∉	PBS+靓精₽	- ₽	-₽	- ₽	Ç
2∉	空白对照₽	- ₽	-₽	- ₽	ته

各稀释浓度(0.05%-0.1%-0.2%-0.4%-0.8%) "靓精"与 2000TCID₅的 HP-PRRSV(JXwn-F8)于 23℃作用 60min 后接入 Marc-145,60h 后进行间接免疫荧光实验(IFA),结果显示:药物在稀释至 0.2%时未出现荧光(3次重复),说明该药物杀灭 2000TCID₅的 HP-PRRSV(JXwn-F8)的最低浓度是 0.2%(使用终浓度则为 0.1%);另外实验中发现,药物需要现用现配。↩



靓精临床试验报告之一

添加靓精对母猪妊娠率、分娩率、产仔数的影响

处理	配种母猪数	妊娠率	配种分娩率	总仔数	活仔数	健仔数
0.75 % 靓精	104	94. 23%	92. 31%	11. 54	10. 57	10. 01
对照	108	94. 44%	94 41%	11. 38	10. 40	10. 12

数据来源:中国农大2016年数据



靓精临床试验报告之二

■ 添加靓精对母猪妊娠率、分娩率、产仔数的影响

处理	配种母猪数	妊娠率	配种分娩率	总仔数	活仔数	健仔数
0.5 % 靓精	125	91. 11%	90. 50	10. 32	10. 00	9. 74
对照	131	86. 44%	86 27%	9. 78	9. 20	9. 12

数据来源:本公司实验数据 四川



靓精临床试验报告之三

行标签 ▼	计数项:配种日期	计数项:分娩日期	平均值项:当前胎次	平均值项:分娩总仔数	平均值项:分娩健仔数	配种分娩率
□试验前						
对照组	1664	1535	3.79	12.18	10.54	92. 25%
试验组	1852	1762	2.99	12.40	10.78	95.14%
□试验后						
对照组	2087	1954	3. 81	12.31	10.73	93.63%
试验组	1992	1865	3.01	12.41	10.78	93.62%
总计	7595	7116	3. 39	12. 33	10.71	

対期	试验后					
	计数项:配种日期	计数项:分娩日期	平均值项:当前胎次	平均值项:分娩总仔数	平均值项:分娩健仔数	配种分娩率
□■■□■和猪场	1135	1062	3. 793832599	12. 28907721	10.72033898	
对照组	659	614	4.922610015	12. 22149837	10.63843648	93.17%
试验组	476	448	2. 231092437	12.38169643	10.83258929	94.12%
□ 計画 計种猪场	1702	1592	3. 485311398	12. 29773869	10.76319095	
对照组	778	729	3. 267352185	12. 24965706	10.75034294	93.70%
试验组	924	863	3.668831169	12. 33835458	10.77404403	93.40%
月种猪一场	1242	1165	2. 974235105	12. 51587983	10.76652361	
对照组	650	611	3. 318461538	12. 47954173	10. 79541735	94.00%
试验组	592	554	2. 596283784	12. 55595668	10.73465704	93. 58%
总计	4079	3819	3.42	12.36	10.75	

数据来源: HLWS 2017

产品介绍



主要成分:

特制高分子生物有机碘、特异抗菌肽、增效剂 及精子保护剂。



靓精®使用方法一:精液添加



实验室精液处理:

将靓精[®]与精液稀释液按照1:1000-2000的比例提前配制好,再用于稀释原精。注意计算最佳使用终浓度为0.3-0.75%之间。然后按照正常程序稀释、分装、保存精液。



关于使用浓度: 预防控制: 推荐0.3-0.5%左右;

污染净化或感染压力大时推荐0.5-0.75%;

最简单的用法: 10毫升靓精[®]加入2000毫升精液稀释液。

靓精®使用方法二: 公猪采精过程



- 公猪:清洗公猪体表污物,尤其是下腹及侧腹,修剪公猪包皮被毛,挤出包皮积液,用1%制精®溶液(用纯净水稀释即可)喷洒清洗腹部及包皮、阴茎,摸干。
- 采精员:采精前充分洗涤双手,用1% 靓精®溶液擦拭 后操作。
- **重复使用器械**:对实验室重复使用器械如烧杯、玻璃棒等做清洗、消毒(1%靓精®浸泡)、烘干。



成都美强兽医技术服务有限公司

靓精®使用方法三: 母猪输精过程



- 1、待配母猪: 先用清水将母猪尾根及外阴周围皮肤的粪污擦洗干净, 然后用1%靓精溶液擦洗一遍。
- 2、配种员:操作前双手用1%靓精®溶液浸泡或擦拭消毒。





使用注意事项——



- ▶ 1、须先配好精液稀释液,加入靓精®,然后用于稀释精液;
- ▶ 2、计算靓精®使用浓度在0.3%—0.75%之间;
- > 3、让靓精®与精液作用30分钟再用于人工授精;
- 4、精液保存时间和选用精液稀释保存粉质量有直接关系;
- > 5、其他要求按照相应的操作规范执行。

靓精®的价值



- 1、促进引种及精液交换(联合育种);
- 2、AI的生物安全措施落实到细节;
- 3、控制采精、输精过程污染;
- 4、提高养猪企业生产成绩;
- 5、促进商品精液推广,预防疾病散播;

视精®的知识产权



2016年初获得中国发明专利 专利号: 201410628740. X



靓精®研发团队及合作单位-鸣谢



- 四川大学(华西医科大学)
- 德国亚琛应用科技大学
- 四川华派生物制药有限公司
- 四川省种猪性能测定中心
- 中国农业大学动物科技学院
- 上海农科院畜牧兽医研究所
- 北京市畜牧总站
- 上海市动物疫病预防控制中心
- 中牧股份兰州生药厂

0 0 0 0 0





信或者不信

你信,或者不信我 事实就在这里 不增不减

你用,或者不用我 靓精就在这里 不悲不喜

拥我入怀 或者让我住进你心里 默然相爱 寂然欢喜





精液净化的终极武器



TELANK: