



Minitube公司发布的国际人工授精行业新闻

SpermNotes®

高效的公猪精液生产

猪舍和实验室设计

现代化的精液生产实验室

德国的高质量精液生产

公猪精液生产实验室的水质

第2页

第5页

第8页

第9页

猪舍和实验室设计

猪舍设计

对大规模的育种组织或育种公司来说公猪猪舍是核心组成部分。公猪猪舍的主要目的在于高质量高效率的生产液态基因(即公猪精液)。为满足这一需求,猪舍和精液生产实验室在建造前必须经过完善的设计。图1为一个容量为100-200头公猪的猪站以及所有必要设施的概览。每间猪舍可以容纳100头公猪。

生物安全非常重要,所有直接或者间接的污染物都应该远离种畜。图中上部有两道围墙以防止野兽,人类和车辆进入设施。只有清洁的并经过消毒的车辆可以被允许进入第一道围墙。而只有在公猪站的工作人员和偶尔到来的访问者可以进入第二道围墙。所有其它的人员和车辆应该尽可能的被阻止在公猪站之外。

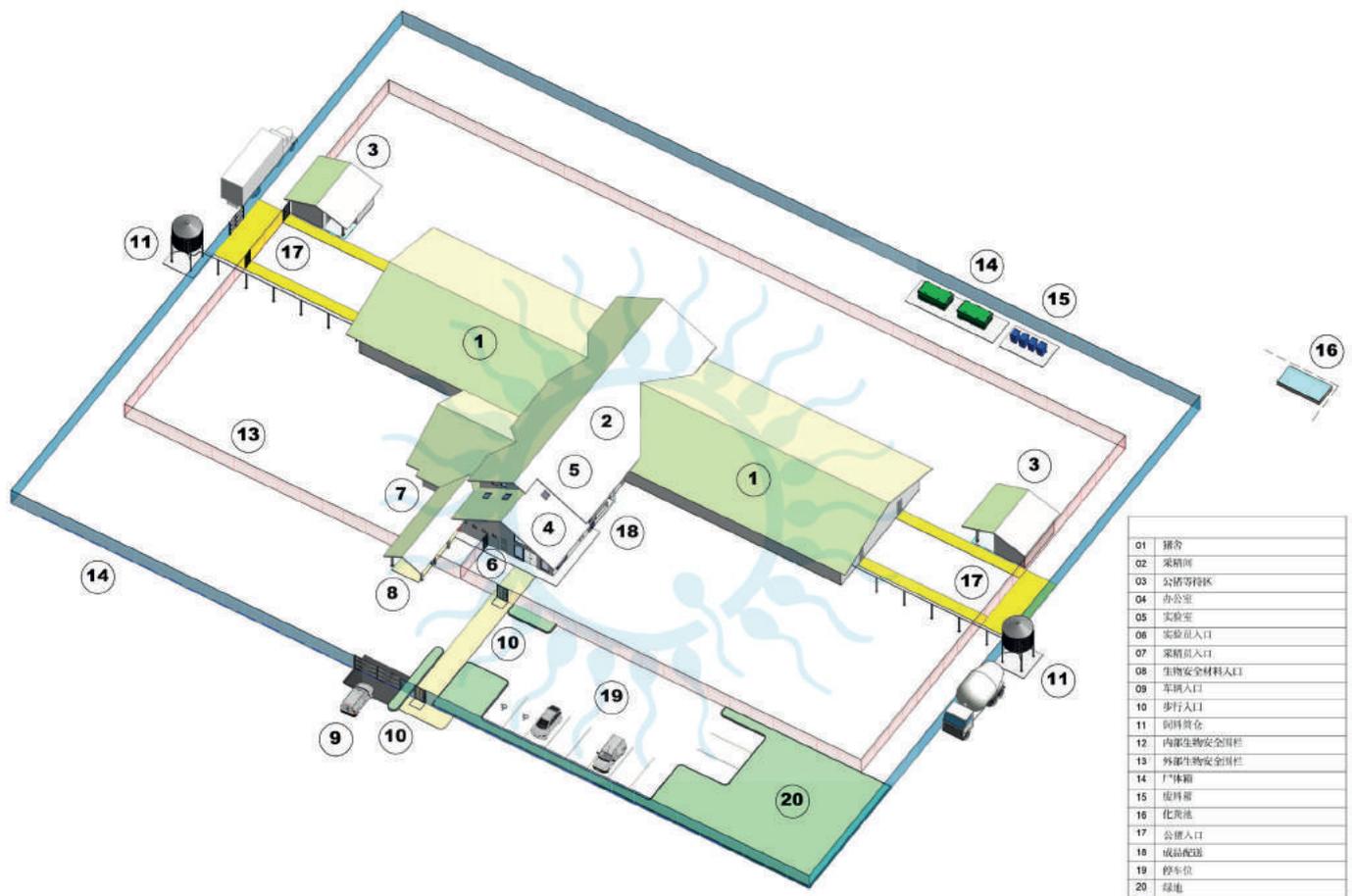


图1:容量为100-200头公猪的猪舍总体概览

公猪站的工作区

图2 中展示了更多的公猪站内部细节，特别是工作区。

黄色区域为采精区(部分可见)，以及猪舍工作人员的工作和准备区。蓝色区域为精液生产实验室，包括准备间和材料存放间。

需要强调的是，这两个区域相互分离。在猪舍工作的人员不能进入实验室，反之亦然。两者间不能有交叉通路。因此两个区域必须各自拥有带淋浴间的入口。这可以保证实验室的高清洁度。实验室和猪舍间唯一的连接是一道传

递窗，在这里采集到的精液可以被传送至实验室。

橙色区域用于办公。在这里工作的人员既不能与猪舍又不能与实验室发生直接接触。在冷藏间和办公室间有一道闸门，冷藏的精液管通过这里被发送到猪站以外。

建造这些屏障，使得种畜和实验室尽可能的免受污染。

实验室区			采精区			办公区		
号码	房间名称	区域	号码	房间名称	区域	号码	房间名称	区域
4	进入实验室通道	2.4 m ²	10	女更衣室+女浴室	5.2 m ²	1	传达室	21.6 m ²
5	女更衣室+女浴室	5.4 m ²	11	男更衣室+男浴室	5.3 m ²	2	进入观察间通道	4.8 m ²
6	男更衣室+男浴室	5.5 m ²	12	采精区通道	17.7 m ²	3	厕所	2.3 m ²
7	实验室用品存储间	9.5 m ²	13	厕所	2.2 m ²	24	观察间(2层)	43.0 m ²
8	清洗+消毒	4.8 m ²	14	衣柜	0.8 m ²	总计		71.7 m ²
9	冷藏室, 包装间	6.5 m ²	15	采精区休息室	7.3 m ²			
17	机械室	11.9 m ²	16	采精区用品存储间	8.2 m ²			
25	实验室通道	16.4 m ²	18	采精区外套鞋柜更换间	3.6 m ²			
26	厕所	2.1 m ²	30	采精间	98.4 m ²			
27	实验室休息间	7.8 m ²	总计		148.8 m ²			
28	实验室外套鞋柜更换间	1.6 m ²						
29	实验室: 分析, 稀释, 生产	25.4 m ²						
总计		99.3 m ²						



图2:实验室，采精区和办公区的建设方案

实验室设计

图3中所示的公猪精液生产实验室的设计是根据精液生产的工作流程安排的。在采精间采集的精液通过传递窗被运入实验室。首先经过称重(3)确定精液容积。在分析(4)过程中精液要一直被加热。借助显微镜和CASA精子自动分析系统(5)进行精子活力和密度的评估。在数据被馈入实验室管理软件,例如Minitube IDEE后,进行精液稀释(6,7)。

之后,运用精液分装设备,例如MiniBSP(8,9)将精液封装入精液管中。用一个手推车(10)来收集和放置灌装后的精液管。封装后,根据实验室的工作制度,将精液管存放在室温下,或者被送入温度为16°C的冷藏间 / 包装间里(11)。在冷藏间,精液管被储存并包装,之后发送到客户手中。



图3: 公猪精液生产实验室设计图

现代化的精液生产实验室

高质量的精液提供了大量的精子细胞并且防止病原体进入生殖道。因此，对精液生产和加工的所有工序所执行的严格的卫生措施也就成为了降低稀释后精液生物污染的保障。另外，高度的自动化也降低了精液生产中存在的污染风险。

Minitube的BlueBag采精袋是从采精到包装的一次性解决方案。在它的上部有一个过滤装置，在采精结束后可以将其和过滤出来的精液胶状物丢弃。采精杯的准备简单便捷，采精袋的内层可以防止感染。BlueBag采精袋既可以用于手动采精也可以用于BoarMatic自动采精。

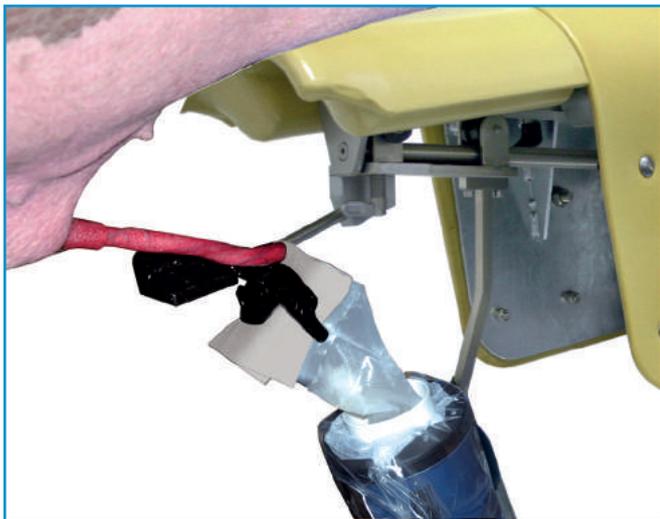


图4: BoarMatic - 公猪精液自动采集系统

图4为半自动的公猪精液采集系统：假台畜和一个内置的采精装置系统，它包括假台畜下的一个滑轨，一个采精杯托架，一个假阴道(AC)的夹子。一次性的假阴道是对母猪阴道表层和纹理的复制。在假阴道上有一个可以撕下的内袋，用于收集公猪在射精时排出的第一部分杂质，还有一个护套用于将射出的后部分精液导入采精杯中。如图所示猪的阴茎被夹在一个封闭的系统中。精液通过假阴道被导入BlueBag采精袋中(图5)。在整个采精过程中，封闭的系统降低了污染物混入精液的可能性。

图5对手工和自动精液采集系统采集的公猪精液中的细菌含量进行比较。



图6: 用于公猪精液采集的精液袋 (BlueBag)

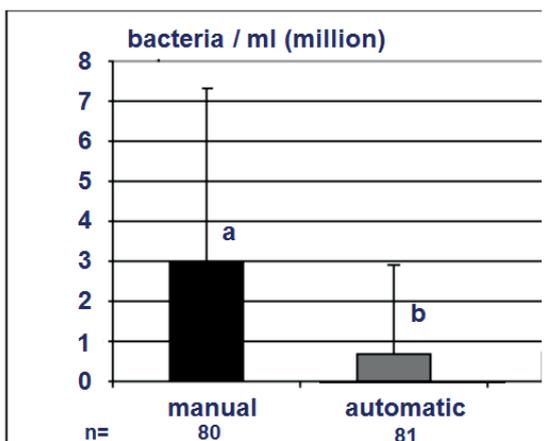


图5: 人工或自动采集的公猪原精中的细菌含量

其它用于精子生产线的设备都可以与实验室管理软件联结为一体。AndroVision®是一款高自动化的CASA(自动精子分析)系统,它既秉承了经典CASA系统的全部功能,又带有先进的精子功能性分析。在从AndroVision®获得的所有测量结果均可被导入IDEE的精液数据库中。

AndroVision®还可以对精子密度、活力、远端和近端原生质滴及卷尾进行同步测量。所有这些测量的参数均可被纳入精液生产计算中以改善产出的精子质量。CASA系统被逐步发展为一个精子质量分析的标准,使用这一标准可以最大程度的减少人工检测造成的误差。



图12: AndroVision®-一体化的精子功能分析

IDEE还可以控制进一步的精子加工步骤。智能分配器Smart Dispenser由一部电子控制单元,一台电子秤和一个蠕动泵组成。它能够提供最安全级别和最高精度的精液稀释。



图13: 智能分配器 Smart Dispenser - 高精度的精液稀释

公猪精液自动灌装封装机MiniBSP占用空间不大,可以每小时加工950支精液管。它拥有一个内置的精液管轨道架,以电子称重传感器控制灌装容积,其精确度可达每管 ± 1 毫升。

当然MiniBSP也同样可以与IDEE管理软件相连接并在其控制下工作。

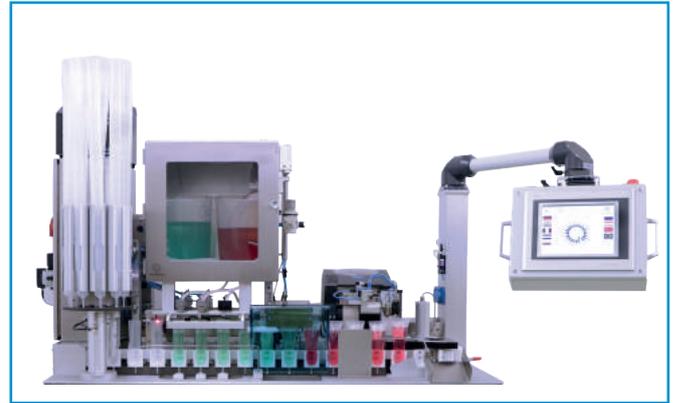


图14: MiniBSP-公猪精液自动灌装封装机

德国的高质量精液生产

德国是全球最大的生猪生产国之一。2017年德国的生猪存栏量为2千7百10万。其中1百90万为繁育用母猪。每头母猪所产的断奶仔猪年平均为29头，而顶级猪场的母猪年均断奶仔猪产量可达35头。

之所以能够达到这么高的数量，是由于有现代化的人工授精生产作为保障。据统计在2010年德国每头公猪精液年均产量将近1,900剂。而在美国的年均产量仅达到1,259剂(数据来源：Riesenbeck, 2011)。

德国公猪精液生产的高效率主要归因于在所有精液生产实验室实现了高自动化和高标准化。位于波恩的德国养猪协会(BRS e.V.)是一个囊括了所有公猪精液生产中心的组织。组织成员严格遵循自我承诺的精液质量标准。

除了对原精的这些要求之外，由德国养猪协会成员收集的精液还需满足：精子含量至少达到每管18亿个精子，精液体积至少达到80ml，储存3天后的精子活力至少为65%。

为了保持这一高标准，所有BRS成员都拥有一套持续的质量监控程序。它包括由独立的科学机构进行的检测、由国家官方实验室进行的独立精液质量控制、定期的人员培训、研究推广和其它众多的质保措施。

例如，生产的公猪精液必须达到以下最低标准：

属性	最低标准
颜色	灰白，白，黄白
稠度	乳清状，乳状
杂质（尿，血，脓）	无
污染物（粪便，毛发）	无
气味	中性
除去尿道分泌物的容积 [ml]	100
精子密度 [$10^6/\mu\text{l}$]	公猪年龄： ≤ 9 个月:0.150 > 9 个月:0.200
精子量 [10^9 /剂精液]	公猪年龄： ≤ 9 个月:15.0 > 9 个月:20.0
精子活力 [%]	70
储存72小时后的精子活力 [%]	65
形态异常精子，包括原生质滴 [%]	≤ 25
头部变形的精子 [%]	≤ 5
精子帽变形的精子 [%]	≤ 10
带原生质滴的精子 [%]	≤ 15
打结的精子 [%]	≤ 15
其它异常形态 [%]	≤ 15
第一次受检测的精液的细菌含量	无动物和人类病原体细菌

图15: 用于精液生产中的公猪精液的最低质量要求

公猪精液生产实验室的水质

在精液生产中所需要的净化水的两个目的：

- 制备稀释剂
- 清洁玻璃器皿，水浴锅和蒸气灭菌器

自来水中不仅含有纯水（H₂O），也含有矿物质，如碳酸钙，碳酸镁，硝酸盐，磷酸盐及其他离子。它甚至可能含有不同含量的化学废物，有机化合物，微生物和内毒素。在很多地区，为了保护人体健康，还会在自来水中添加低含量的氯和氟。

为了获得合适的水供精液实验室使用，水必须经过净化处理。特别是稀释精液需要用到非常高纯度的净化水。

水质净化系统

1. 蒸馏

在蒸馏器中，水通过蒸发冷凝后收集成为蒸馏水。蒸馏水无菌且高度去离子，但挥发性有机物会保留在馏分中。对于水的蒸馏，需要用到单蒸馏器或者双蒸馏器设备，在使用前通常要进行去离子处理。碳酸钙含量高的“硬”水在进入蒸馏器之前必须进行去离子处理，否则将增加蒸馏过程的耗时，以及蒸馏器内部的管道的除垢次数。另外，蒸馏过程需要大量额外的自来水来冷却。

当制备稀释剂所需的水量相对较少时，例如每天最多需要30升水，蒸馏法是一个很好的选择。蒸馏器需定期维护，且经常要进行去垢处理。存在问题的蒸馏器不能产生符合要求的净化水。对于中型或大型公猪精液生产实验室来说，采用蒸馏法对水进行净化往往效率太低。

2. 去矿化

去矿化（也称去离子化）是指去除水中的离子化合物，如钙离子或镁离子。树脂是一种带电荷的小颗粒，装在通水的交换柱中；当水通过时，离子组分就会滞留在树脂中。树脂在使用数月后（1-3月，具体根据系统和净化水的要求）须进行更换或回收。该净化方法耗时短，且能耗低。为了检测去矿化过程是否有效，需在控制系统中连结电导率测量装置。这种电导率测量装置须定期检查，当测量值超标时，则必须马上更换新的交换柱。去离子水或去矿质水不是无菌的；当含有细菌的水在该过程中被使用时，水中的细菌会污染交换柱，并在柱内快速生长，这可能会造成更加严重的细菌污染。出于这个原因，即使监测的电导率保持在限制值以下，同根柱子的使用期也不应该超过3个月。为了控制细菌，去离子水需进行额外处

理；可通过蒸馏、细菌过滤器（0.2微米孔径）或紫外光照射等方法来除菌。对于对水质要求非常高的实验室来说，去矿化联合细菌控制是一个非常方便的选择，但是需保证交换柱和循环系统的标准运行，并能承受此持久花销。该解决方案特别适用于需要大量净化水的公猪精液生产实验室，即每天用水量超过50升的实验室。

3. 反渗透

在反渗透净化系统中，增加装有自来水的容器内的压力，可推动自来水通过半透过滤器，不需要的组分会滞留在过滤器内。利用高渗透压使水通过渗透器的净化方法可去除水中高达98%的溶解成分，但无法去除水中溶解的气体成分。反渗透可以有效去除细菌。但对于具有高电导率的硬水，反渗透法在去矿化方面的效率不够，还需进行第二道工序；出于这个原因，反渗透法经常与去矿化法和超滤法相结合。反渗透法需要大量额外的水来冲洗过滤膜，净化水只占所用水的20%到30%。在用水量大（每日用水量超过100升）的精液生产实验室中经常使用反渗透法。去矿化结合反渗透法对水的净化非常有效，往往还结合紫外光处理，用于对成水灭菌。

反渗透、去离子化、活性炭过滤和紫外光照射联合系统是利用最多且效率最高的净水系统。

净水方法的选择取决于AI中心对水质的要求和每天所需的净化水的水量。但在任何情况下，都必须先满足水质的要求。

美国材料与试验协会ASTM标准被用于对净化水的水质进行分级，该标准将净化水分为四种不同的级别（图16）。

参数	TYP I	TYP II	TYP III	TYP IV
电导率（微西门子/厘米）	0.056	1.0	2.5	5
电阻（兆欧姆/厘米）	18	1.0	4.0	0.2
细菌生长（UFC/ml）	0 (A)	10 (B)	100 (C)	100 (C)
总有机碳（ppb）	10	50	200	-
钠（ppb）	1	5	10	50
氯化物（ppb）	1	5	10	50
硅酸盐总量（ppb）	3	3	500	-
重金属（毫克/升）	0.01	-	-	-
内毒素	0.03	0.25	-	-

- ASTM (American Society for Testing and Material)

图16: 净化水的分级

为了制备精液稀释剂，水质需要达到ASTM类型II标准。即必须符合下列最低要求：

- 电导率：需低于5 μ S/cm。电导率是表示水中离子或盐含量的数值。电导率数值太高，表示介质的渗透压高，水会对精子造成损害。另外，水中所含的钙必须完全去除，因为精子的获能率会随时间增加。但在精子浓度较高的精液中，可以使用较高电导率（至20 μ S/cm）的水。
- 细菌含量：要求为每10毫升水中0到1CFU（= 1菌落形成单位）。精液中所含的细菌是有害的，并且容易在适于其生长的精液稀释液中繁殖。细菌会降低稀释精子的生存能力，因此只有细菌含量达到要求的水可以用来制备精液稀释剂。而且某些特定的病原体（在动物中引起特定疾病的细菌和病毒）必须被清除。另外，内毒素的含量也须达到要求，因为其对精子细胞的毒性很强。
- TOC（总有机成分）：最多不超过50ppb。这是反映水中有机碳总含量的一个参数；TOC反映了在工业生产，家庭生活和农业生产中产生的化学有机废物。作为评价水质的总体指标，TOC含量必须达标。

在冲洗需接触精液的玻璃器皿或其他材料时，所需用水的水质要求较低，去矿物质就足够达到目的。但是，为了消除可能与精液或稀释液接触的材料表面上附着的矿物质或洗涤剂，一定要对其进行彻底的冲洗。

另外十分重要的一点是，净化水的水质会随着时间逐渐恶化，不同的储水系统水质变坏的速度不同。一般情况下，净化水不建议储存超过一个星期。

建议

1.在选用净化水系统之前，需对下列因素进行分析：

- 自来水水质分析：碳酸钙含量，细菌含量，有机污染物含量，电导率以及渗透压；
- 明确净化水要求：每天需多少体积的净化水？使用该水量的时间阶段？

2.净化水的保存：净化水在使用前很容易被污染。通水管道并非完全无菌，有些甚至还含有繁殖细菌菌落形成的生物膜，生产出的净化水通过这些管道时不时地被污染。这种情况经常发生，一些相对旧的净水系统中尤为严重。储存净化水的容器和瓶子也不是完全无菌的，特别是在不能保持密闭的情况下。细菌和藻类会在光线的照射下大量增殖；另外有一些细菌，如假单胞菌属，可以利用管道的塑料成分来进行代谢。净化水最好立即使用，不进行储存。通水管道、水龙头和储水容器也应定期灭菌。

3.其他选择：购买净化水。如果没有合适的净水系统，最好的选择是购买净化水。然而，去离子化的生活用水不满足制备精液稀释剂的水质要求。购买的净化水也应满足无菌，去离子化（最大电导率5 μ S/cm）和不含致热源这三点要求。