

第十二届猪人工授精关键技术研讨会

靓精如何帮助种猪企业 实现伪狂犬净化

成都美强兽医技术有限公司

况 洪

浙江 桐庐

2018/04/10-13

2017年3月21日，农业部印发《国家高致病性猪蓝耳病防治指导意见（**2017-2020年**）》《国家猪瘟防治指导意见（**2017-2020年**）》，对猪场蓝耳病和猪瘟的净化提出明确要求。

蓝耳病防控目标：到**2020**年底，全国核心育种场达到净化标准（即连续**24**个月以上无临床病例，猪繁殖与呼吸综合征病毒野毒感染病原学和抗体检测阴性）；其他养殖场（户）达到稳定控制标准（即连续 **12**个月以上临床发病率 $\leq 5\%$ ）

猪瘟防控目标：到**2020**年底，全国所有种猪场和部分区域达到猪瘟净化标准，并进一步扩大猪瘟净化区域范围（净化是指连续**24**个月以上种猪场、区域内无猪瘟临床病例，猪瘟病毒野毒感染病原学检测阴性）。

高标准，严要求！

连续24个月以上无临床病例！

**猪繁殖与呼吸综合征病毒野毒感染病原学和抗体检测
阴性（双阴性）！**

公猪精液中能检出的病毒

地区	总样本数	病 毒							
		CSFV	PRRSV	PCV-2	PRV	PPV	JEV	PRRS+PCV	PRV+PCV
江西18	111		9.91%	74.77%	15.32%			9.01%	13.51%
四川省	74	3.9%	21.1%	/	19.7%	3.9%	5.3%		
广西省	328	16.76%	11.59%	CSFV和PRRSV混合感染率4.27%					
广西16	248	16.94%	48.39%	3.23%	5.24%	42.34%	PRRS+PPV 14.92% PRRS+PPV+CSFV 5.65%		
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%	CSFV和PRRSV混合感染率5.91%					

精液污染现状

实时荧光定量PCR检测法 便携式核酸检测箱

伪狂犬阳性率：
规模猪场：20-35%
小散接近100%

蓝耳病阳性率：
规模场：10—15%
小散：20—50%



- 1、环境控制
- 2、引种和引进精液
- 3、阳性公猪的处理、
- 4、太相信疫苗。
- 5、缺乏坚持。

如何做净化？

A: 伪狂犬病阴性猪场：引种是关键，只引进经过**靓精[®]**处理的精液，包括**国外引种也坚持只引进精液不引活猪，精液在引种场加靓精[®]处理再拿回来**；人员进出控制；运输工具的清洗消毒和灭鼠等；

B: 强化疫苗免疫接种及精液净化处理：后备猪应在配种前进行**2次**伪狂犬病基因缺失疫苗（**gE缺失**）的免疫接种；经产母猪产前**4周左右**进行**1次**免疫；仔猪**8-10周龄**进行**1次**免疫；母猪群普免**2-3次/年**、仔猪滴鼻免疫，**公母猪完全隔离饲养，配种用精液全部用靓精[®]处理，把公猪、母猪的微生物系统完全隔离**，有利于公猪、母猪群疾病简单化，有利于净化工作开展，做好定期监测——**gE-ELISA检测种猪群**；

C: 感染种猪场：**公母猪完全隔离饲养，配种用精液全部用靓精[®]处理，把公猪、母猪的微生物系统完全隔离**。在做好疫苗免疫接种的基础上，开展净化工作；加强后备种猪的监测，用阴性后备种猪逐步替换和淘汰阳性种猪，最终建立阴性种猪群，达到阴性种猪场的标准。

净化的条件：基因缺失疫苗（gE缺失）； gE-ELISA抗体检测试剂盒；

净化的基本技术：

免疫——gE基因缺失疫苗；

监测——gE-ELISA检测种猪群（gE抗体阳性种猪）；

淘汰——清除gE抗体阳性种猪；

替换——引入gE抗体阴性后备种猪；

清群——清除gE抗体阳性种猪群、PRV感染猪群

- 第一阶段：监测——种猪群感染带毒状况调查。按5%-10%进行采样，确定种猪群带毒率（gE抗体阳性率）；
- 第二阶段：强化免疫，gE基因缺失疫苗免疫，生物安全；
- 第三阶段：检测淘汰——全群检测，逐头采样，用gE-ELISA试剂盒。
- 第四阶段：部分清群，若种猪群带毒率>10%或15%，进行全群检测，记录阳性种猪；实施部分清群；淘汰高胎次阳性种猪，用阴性后备种猪替换高胎次种猪。
- 第五阶段：监测与维持，种猪群全群采样进行检测，确认全部为阴性，无阳性带毒种猪；设立哨兵猪——在种猪舍放置PRV抗体阴性仔猪，观察是否感染和发病，检测gE抗体，确认为阴性；
- 加强引种监测，坚持只引进经过靓精处理的精液，包括国外引种也只引进精液，在引种场加靓精[®]处理再拿回来；本场生产用公猪精液全部坚持用靓精[®]处理，加强生物安全措施，达到免疫无疫（猪场无PRV）以及后面的停止疫苗免疫，不免疫无疫。

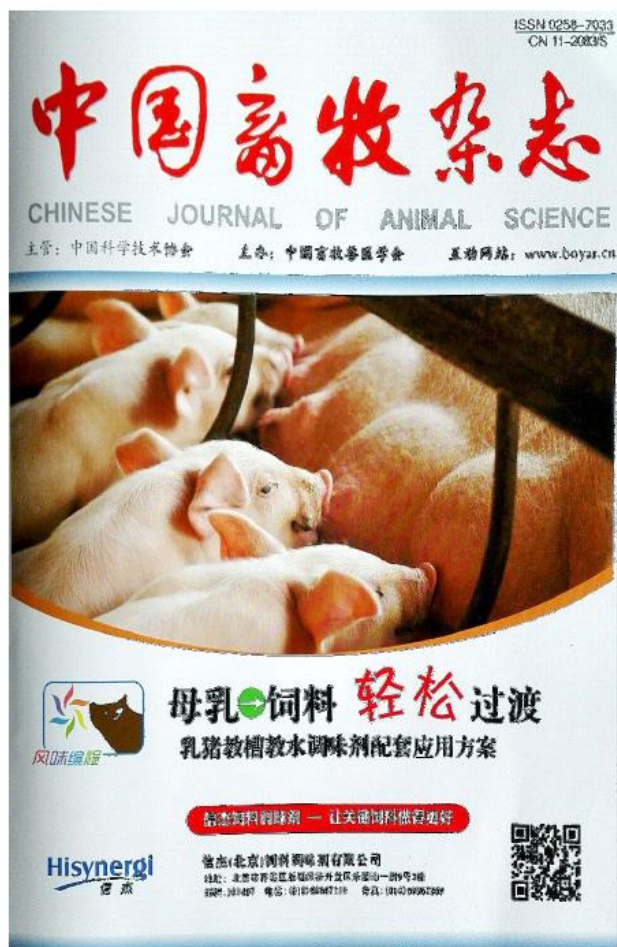


- 1、能快速杀灭精液中大多数细菌及其他微生物；
- 2、能彻底杀灭PRRSV（经典株及变异株）、PRV、PPV、PCV-2；CFSV；
- 3、对精子、受精卵、胚胎发育安全且能显著延长精液保存时间；
- 4、能显著减少母猪产道疾病，降低母猪流产率、死胎率、仔猪畸形率，提高母猪生产性能；

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
非精液中	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%
	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%
精液中	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%
	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%。



ISSN 0258-7031
CN 11-2083/S

中国畜牧杂志

CHINESE JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE

主管: 中国科学技术协会 主办: 中国畜牧兽医学会 互联网站: www.boya.cn

第51卷第7期 半月刊

2015.7

科技

中国畜牧杂志

目次

7
2015

第51卷第7期
半月刊

遗传育种

- 贵州5个地方猪品种微卫星标记的遗传多样性
..... 陈祥, 丁致, 许厚强, 尚以顺, 胡家炳, 龙成海, 冯文成
樱桃谷鸭 *MyoD1* 基因 5'-UTR 区域多态与生长和屠宰性状相关分析
..... 李万贵, 王单单, 张依娜, 潘兰兵
中国地方绵羊线粒体 DNA D-loop 区遗传多样性研究
..... 韩旭, 刘丑生, 刘刚, 赵春江, 孟飞
ASB12 和 *Tain* 基因 SNP 位点对延边黄牛肉质性状的组合效应分析
..... 田万年, 李香子, 夏广军, 金鑫, 尹昌国
露眼鹅体尺与屠宰性能测定及其相关性分析
..... 于宁, 赵辉, 郑家明

繁殖生理

- 稀释液渗透压与 pH 值对黑凤鸡精液低温保存活力的影响
..... 王晓娟, 张信志, 薛蕊, 易康乐, 王坤, 曲海勇, 王庆桥, 燕海峰
一种精液净化保护剂对公猪精子速率的影响及对精液中 5 种病毒的杀灭作用研究
..... 沈洪, 徐静, 方鹏飞, 张丽燕, 齐燕芳, 姜文波

营养饲料

- 蛋白质水平对奶山羊泌乳性能的影响
..... 于子洋, 袁翠林, 王利华, 朱风华, 程明, 李斌, 林英威
杜仲素对泌乳高峰期奶牛瘤胃发酵和血清指标的影响
..... 史仁煌, 毛江, 杜云, 王德志, 赵国琦, 王称品, 李胜利
纤维素酶和丙二醇对产后奶牛血清蛋白和牛乳体细胞数的影响
..... 陈前岭, 朱霞云, 王梦芝, 陈连民, 丁洛阳, 沈宜利

对口蹄疫OS/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 TCID ₅₀ /0.1ml）↕											
	1.25↕	0.625↕	0.313↕	0.156↕	0.078↕	0.039↕	0.019↕	病毒对照 (TCID ₅₀ /0.1ml)↕		保护剂对照 (%)↕		空白 对照↕
								原毒↕	50↕	10↕	0.625↕	
同步接种 BHK (CPE 孔数)↕												
15年12月2日 (1d)↕	2/8↕	0/8↕	0/8↕	0/8↕	2/8↕	5/8↕	4/8↕	5/5↕	5/5↕	5/5↕	0/5↕	0/5↕
15年12月3日 (2d)↕	2/8↕	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OS/99毒液可产生杀灭效果。

采用实验中口蹄疫病毒OS/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。

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	靓精®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				

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；

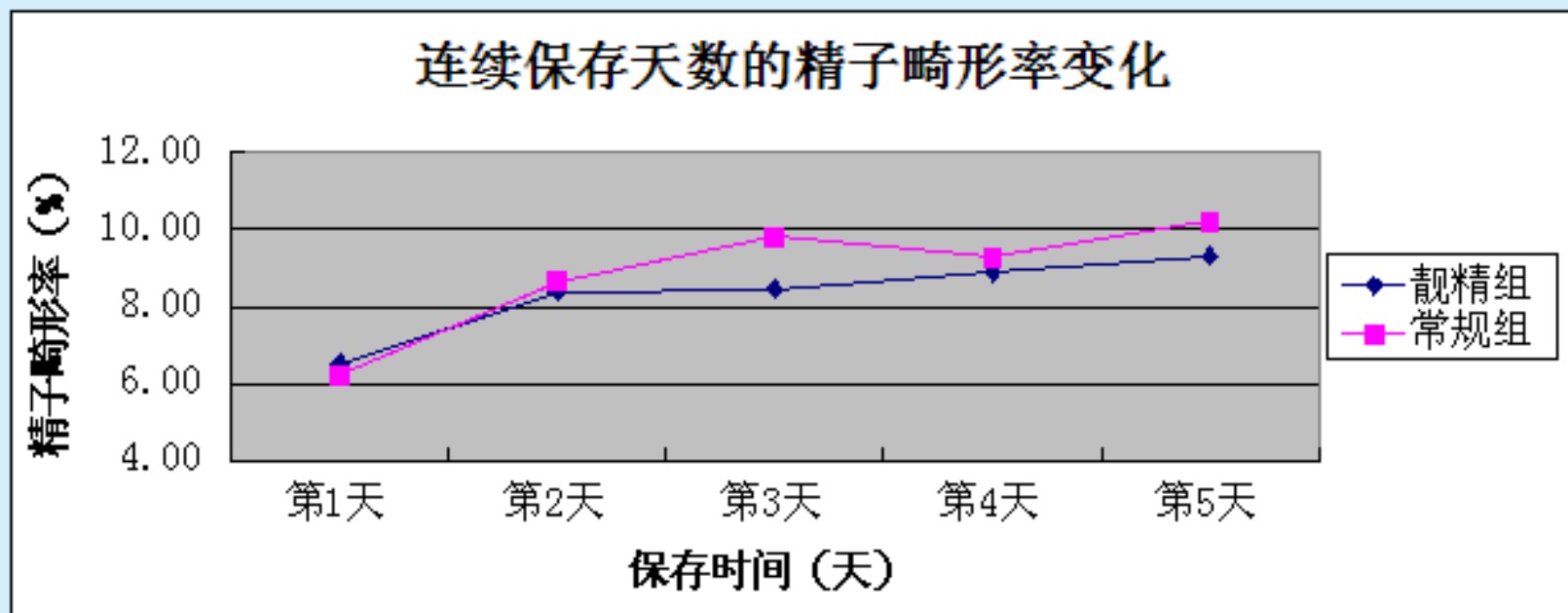
三种精子活力均百分比表示，表中数据省略%；

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%靓精®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。

	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)



ISSN 1005-2739
CN 23-1350/G

黑龙江动物繁殖

HEILONGJIANG JOURNAL OF ANIMAL REPRODUCTION



ISSN 1005-2739



9 771005 273164

- 《中国核心期刊(遴选)数据库》来源期刊
- 《中国学术期刊(光盘版)》全文收录期刊
- 全国畜牧兽医优秀期刊

2016

黑龙江动物繁殖



第24卷

2016年

第1期

(总第110期)

黑龙江动物繁殖

Heilongjiang Journal of Animal Reproduction

目次

实验研究

脱精对猪精子、卵母细胞和胚胎的影响 陈丹朔, 薛振华, 张振南, 等(3)
 氩氦 ANXA-2 基因编码序列的克隆及序列分析 赵煜臣, 梁运涛, 卢斌山, 等(8)

大通牦牛体重与体尺指标的相关回归分析 罗海青, 赵寿保(11)

繁殖管理

简述种公猪的营养需要和饲喂方法 刘冠强(13)
 母猪乏情的一些原因和解决措施 李 然(14)
 种畜精液的质量分析及使用注意事项 贾淑荣(16)
 种公猪性欲及配种障碍的处置对策 李大勇(17)
 绵羊饲养中舍内管理的方法 阿布米提塔力甫(19)

人工授精

人工采集种公猪精液的科学方法 张梦琳, 娜日娜(21)

不孕门诊

公畜龟头包皮炎的发病、诊断及防控 李久兴, 刘忠秀, 肖洪军(23)
 公牛两类繁殖疾病的检查 刘玉辉(24)
 公羊不育症的临床检查 徐晓星, 闫当萍(25)
 母猪不孕的防治方法 孙永泰(27)

特种繁殖

水貂的繁殖管理技术 同雪萍(28)
 獭兔的配种技术及注意事项 袁洪斌(29)
 种狐选配的作用和方法 王洪鑫, 薛德超(31)
 KM 小鼠吃仔原因及其预防措施 曾敏娟, 鲍 波, 李晓玲, 等(32)

临产问题

母牛妊娠诊断法 吕凤英(36)
 母牛乳房水肿和乳房炎的诊治 马国军(37)
 母牛子宫脱出的诊治 马广路(39)
 牛妊娠检测的两种实验室诊断法 田成武(40)
 分娩母牛胎儿气肿的剖宫产处置 王宇丰(42)
 母羊产前期阴道充血症发生的原因和临床症状 汪国栋, 刘 林(43)
 辽宁城山羊羔羊60日龄断奶操作方法 陈 宁, 刘兴伟, 赵艳娟(45)
 引起母羊流产的常见传染病的鉴别诊断 张 爽(46)
 怎样选好小尾寒羊 许桂华(48)
 分娩母猪的接产操作要点 马 辉(49)
 繁殖母猪及仔猪棉籽饼和棉叶中毒的诊治 李中坤(51)
 怀孕驹(马)妊娠毒血症的发生和诊治 徐晓慧(53)
 母畜难产矫正法、剖腹术及药物治疗 孟凡国(54)
 种畜胎毒的诊治 张耀梅(56)
 冬春季哺乳仔猪腹泻的防控对策 尹继贵(57)

繁殖论坛

选种和培育后备母猪中存在的问题及对策 王春勇(59)
 地方配种站存在的问题及对策 吴 静(63)

本刊基本参数: CN23-1350/G

• 1993 • B • A4 • 64 • zh • P • ¥ 8.00 • 1500 • 34 • 2016 • 01

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；

靓精®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。



中国农业大学动物医学院
College of Veterinary Medicine, China Agricultural University

北京市海淀区圆明园西路 2 号

检测报告书

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

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“+”，阴性“-”)
A	0.05%+JXwn
	PBS+JXwn
B	0.1%+JXwn
	PBS+JXwn
C	0.2%+JXwn
	PBS+JXwn
D	0.4%+JXwn
	PBS+JXwn
E	0.8%+JXwn
	PBS+JXwn
	对照组
1	PBS+靓精
2	空白对照

各稀释浓度 (0.05%-0.1%-0.2%-0.4%-0.8%) “靓精”与 2000TCID₅₀ 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 2000TCID₅₀ 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	

时期	试验后					
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
皇种猪场	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%
青种猪场	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%
同种猪一场	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: HNWS 2017

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。



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%靓精®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。



- 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。



- 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。

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

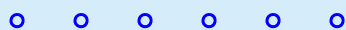
2016年初获得中国发明专利
专利号：201410628740.X



使用靓精常见问题解答

- 1、添加靓精后是否杀灭了里面所有病毒？
- 2、如何判断病毒都被杀灭了？
- 3、使用靓精是否可以不用淘汰公猪？
- 4、母猪阳性场用靓精是否有意义？
- 5、使用靓精能否提高生产成绩？

- 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





靓精——让养猪变得简单！



THANK!

谢谢