

第4.7章 牛、小反刍动物和猪精液的采集和处理

第4.7.1条

总则

对精液生产进行官方卫生控制的目的如下：

- 1) 维护人工授精中心动物卫生水平，从而保证精液在国际间流通时，通过精液传播病原体感染其他动物或人类的风险可忽略不计。
- 2) 保证精液采集、处理和贮存的卫生水平。

人工授精中心应遵守本法典第4.6章的建议。

诊断试验标准见《陆生手册》。

第4.7.2条

关于种公牛和试情动物检测的规定

仅在种公牛和试情动物满足以下要求时才能进入人工授精中心。

1. 进入隔离设施之前

未达到相关疫病无疫状态的国家或地区，动物在进入采精前隔离设施前应符合下列要求：

- a) 布鲁氏菌病——第8.4章。
- b) 牛结核病——第8.11章。
- c) 牛病毒性腹泻

应对动物进行下述检查：

- i) 病毒分离或抗原检查，结果阴性；且
 - ii) 血清学试验确定每头牛的血清学状况。
- d) 牛传染性鼻气管炎/传染性脓疱阴户阴道炎
如果人工授精中心被视为无牛传染性鼻气管炎/传染性脓疱阴户阴道炎，动物应：
 - i) 来自第11.8.3条规定的无牛传染性鼻气管炎/传染性脓疱阴户阴道炎畜群；或
 - ii) 血清学检查结果阴性。
 - e) 蓝舌病

根据动物来源国或地区的蓝舌病疫情状况，动物应符合本法典第8.3.7条或第8.3.8条的规定。

2. 进入采精设施前在隔离设施中的检测

进入人工授精中心的采精设施前，必须在隔离设施内观察公牛和试情动物至少28天。进入隔离室后最少应等待21天按下述要求进行检测，胎儿弯曲杆菌和毛滴虫除外，这两种病的检测可在进入采精前隔离室7天后进行。除牛病毒性腹泻抗体血清学试验 [见下述b)中ii)]外，其他所有检测结果均应为阴性。

a) 牛布鲁氏菌病

血清学检测结果应为阴性。

b) 牛病毒性腹泻

i) 动物进入采精前隔离室前均应进行病毒分离或病毒抗原检测，结果为阴性。隔离室内中所有动物检测结果均为阴性时，动物方可进入采精设施。

ii) 需对所有动物进行血清学检测，以判定是否存在牛病毒性腹泻抗体。

iii) 仅在进入隔离设施前检测阴性的动物未发生血清学转换时，隔离室中的全部动物（血清学阴性或阳性）方可进入采精设施。

iv) 如果发生血清学转换，所有血清学阴性的动物应在隔离室继续隔离观察，直至该群在3周内不再出现阳转动物。可允许血清学阳性动物进入采精设施。

c) 胎儿弯曲杆菌性病亚种

i) 小于6月龄或此后一直在单一性别群中饲养的动物，在进入采精前隔离室前应进行一次包皮采样检测，结果须为阴性。

ii) 6月龄或6月龄以上，在进入隔离室前可能接触过母畜的动物，应每间隔1周进行一次包皮采样检测，共检测3次，每次检测均须为阴性。

d) 胎儿三毛滴虫

i) 不足6月龄或此后仅在单一性别畜群中饲养的动物，在进入采精前隔离室前应作一次包皮采样检测，结果须为阴性。

ii) 6月龄或更大的有可能在进入采精前隔离室前接触过母畜的动物，应每间隔1周进行一次包皮采样检测，共检测3次，每次检测均须为阴性。

e) 牛传染性鼻气管炎/传染性脓疱阴户阴道炎

如认为人工授精中心无牛传染性鼻气管炎/传染性脓疱阴户阴道炎，则应对动物血样进行牛传染性鼻气管炎/传染性脓疱阴户阴道炎诊断检测，结果须为阴性。如检测结果阳性，应立即将这些动物从隔离室移出，同群的其他动物继续留在隔离室隔离。移出阳性动物后至少等待21天再次检测，结果须为阴性。

f) 蓝舌病

根据隔离设施所在国或地区的蓝舌病疫情状况，动物卫生状况应符合本法典第8.3.6条、第8.3.7条或第8.3.8条的规定。

3. 精液采集设施内公牛和试情动物的检测程序

如果采精设施所在国或地区不是下述疫病的无疫国或无疫区，采精设施留养的牛及试情动物至少要针对下列疫病每年进行一次检查，结果须为阴性：

- a) 布鲁氏菌病
- b) 牛结核病
- c) 牛病毒性腹泻

对之前血清学试验阴性动物进行再检测，证实无抗体。

如某动物血清学试验为阳性，应废弃其在末次阴性结果以后采集的所有精液，或进行病毒检测，结果为阴性才可保留。

- d) 胎儿弯曲杆菌性病亚种

- i) 检测包皮样本；

- ii) 仅需对生产精液或与生产精液公牛有过接触的公牛进行检测。如停用6个月以上，再次用于采精的公牛需在重新生产前30天内进行检测。

- e) 蓝舌病

动物应符合本法典第8.3.9条或第8.3.10条的规定。

- f) 胎儿三毛滴虫

- i) 培养包皮拭子样本。

- ii) 仅需对生产精液或与生产精液公牛有过接触的公牛进行检测。如停用6个月以上，再次用于采精的公牛需在重新生产前30天内进行检测。

- g) 牛传染性鼻气管炎/传染性脓疱阴户阴道炎

如认为人工授精中心无牛传染性鼻气管炎/传染性脓疱阴户阴道炎，动物应符合第11.8.3条2c)的规定。

4. 每头牛病毒性腹泻血清学阳性公牛精液首次采集前的检测

在牛病毒性腹泻血清学阳性公牛精液首次发放前，需对每头牛的精液样本进行一次牛病毒性腹泻病毒分离或抗原检测。如出现阳性结果，则应将该阳性公牛从人工授精中心移出，并销毁其全部精液。

5. 对未认定无牛传染性鼻气管炎/传染性脓疱阴户阴道炎人工授精中心所产冷冻精液进行牛传染性鼻气管炎/传染性脓疱阴户阴道炎检测

每份冷冻精液应按照本法典第11.8.7条进行检测。

第4.7.3条

关于公羊、雄鹿和试情动物检测的规定

仅达到以下要求时，公羊、雄鹿和试情动物方可进入人工授精中心。

1. 进入隔离室之前

隔离室所在国或地区未排除下列相关疫病时，动物在进入隔离室隔离前，必须满足下述要求：

- a) 布鲁氏菌病——动物应符合本法典第8.4章的规定。
- b) 绵羊附睾炎——应符合本法典第14.6.3条的规定。
- c) 接触性无乳症——应符合本法典第14.2.1条中1)和2)的规定。
- d) 小反刍兽疫——符合本法典第14.7.10条中1)、2a)或3)的规定。
- e) 山羊传染性胸膜肺炎——根据动物来源国或地区该疫病状况，动物应符合本法典第14.3.7条的规定。
- f) 副结核病——动物在过去两年内没有副结核病临床症状。
- g) 痒病——如果动物不是来自第14.8.3条所述痒病无疫国或无疫地区，动物应符合本法典第14.8.8条的规定。
- h) 梅迪-维斯纳病——动物应符合本法典第14.5.2条的规定。
- i) 山羊关节炎/脑炎——如果是山羊，应符合本法典第14.1.2条的规定。
- j) 蓝舌病——根据动物来源国或地区的蓝舌病状况，动物应符合本法典第8.3.7条或第8.3.8条的规定。
- k) 结核病——如果是山羊，应进行单一或比较性结核菌素试验，结果须为阴性。

2. 进入采精设施前在隔离室中的检测

进入人工授精中心精液采集设施之前，公羊、雄鹿和试情动物应在隔离室隔离至少28天。进入隔离室后最少21天需对动物进行下述诊断检查，结果须为阴性。

- a) 布鲁氏菌病——参见本法典第8.4章。
- b) 绵羊附睾炎——参见本法典第14.6.4条1d)点。
- c) 梅迪-维斯纳病和山羊关节炎/脑炎——应对动物进行检测。
- d) 蓝舌病——根据采精前隔离室所在国家或地区的蓝舌病状况，动物应符合本法典第8.3.6条、第8.3.7条或第8.3.8条的规定。

3. 精液采集设施内对种公羊、公鹿和试情动物的检查程序

精液采集设施所在国家或地区如不排除以下疫病，对所有饲养在精液采集设施内的种公羊、公鹿和试情动物，应每年至少检测一次下列疫病，结果需为阴性。

- a) 布鲁氏菌病；
- b) 绵羊附睾炎；
- c) 梅迪-维斯纳病和山羊关节炎/脑炎；
- d) 结核病（仅涉及山羊）；
- e) 蓝舌病。

这些动物的情况应符合本法典第8.3.9条或第8.3.10条的规定。

第4.7.4条

关于公猪检测的规定

公猪只有满足下列要求，才能进入人工授精中心。

1. 进入隔离室之前

动物应临床健康、生理学正常。如动物的来源国或地区不属于以下疫病无疫区，进入隔离室前30天内应符合下列要求：

- a) 布鲁氏菌病——参见本法典第8.4章。
- b) 口蹄疫——参见本法典第8.8.10条、第8.8.11条或第8.8.12条。
- c) 伪狂犬病——参见本法典第8.2.9条或第8.2.10条。
- d) 传染性胃肠炎——参见本法典第15.5.2条。
- e) 非洲猪瘟——参见本法典第15.1.6条或第15.1.7条。
- f) 古典猪瘟——参见本法典第15.2.7条或第15.2.8条。
- g) 猪繁殖与呼吸综合征——按《陆生手册》的标准检测。

2. 进入精液采集设施前在隔离室的检测

进入人工授精中心精液采集设施之前，公猪至少应在采精前隔离室隔离28天。进入采精前隔离室后最少21天，应进行以下诊断性检测，结果须为阴性。

- a) 布鲁氏菌病——参见本法典第8.4章。
- b) 口蹄疫——参见本法典第8.8.13条、第8.8.14条、第8.8.15条或第8.8.16条。
- c) 伪狂犬病——参见本法典第8.2.13条、第8.2.14条或第8.2.15条。
- d) 传染性胃肠炎——参见本法典第15.5.4条。
- e) 非洲猪瘟——参见本法典第15.1.9条或第15.1.10条。
- f) 古典猪瘟——参见本法典第15.2.10条或第15.2.11条。
- g) 猪繁殖与呼吸综合征——按《陆生手册》的标准检测。

3. 精液采集设施内饲养公猪的检测程序

如精液采集设施所在国家或地区不能排除存在以下疫病，应至少每年检测一次所有饲养在精液采集设施的公猪，结果须为阴性。

- a) 布鲁氏菌病——参见本法典第8.4章。
- b) 口蹄疫——参见本法典第8.8.13条、第8.8.14条、第8.8.15条或第8.8.16条。
- c) 伪狂犬病——参见本法典第8.2.13条、第8.2.14条或第8.2.15条。
- d) 传染性胃肠炎——参见本法典第15.5.4条。
- e) 非洲猪瘟——参见本法典第15.1.9条或第15.1.10条。

- f) 古典猪瘟——参见本法典第15.2.10条或第15.2.11条。
- g) 猪繁殖与呼吸综合征——按《陆生手册》的标准检测。

第4.7.5条

精液采集和处理的一般卫生要求

遵守以下所述建议可大大降低精液污染普通致病菌的可能性。

第4.7.6条

关于采精的规定

- 1) 爬跨区地面应保持清洁，避免使用易引起尘土飞扬的地面，并能保证动物不易滑倒。
- 2) 无论是动物模型或活体动物，应保持试情动物的后躯清洁，动物模型在每批采精后必须彻底清洗，每批采精前必须清洁试情动物的后躯。每次采精后对动物模型或试情动物进行清洁。可使用一次性塑料罩。
- 3) 采精人员的手不得接触公猪阴茎，应戴一次性塑料手套，每次采精需更换手套。
- 4) 每次采精后必须彻底清洗人工阴道，应将其拆开，冲洗各部件并干燥，保护不沾染灰尘。装置内侧和锥状体应消毒后再组装，消毒需使用规定的消毒技术，如酒精、环氧乙烷或蒸汽。组装后，置于定期清洁和消毒柜中。
- 5) 所用润滑油必须干净。涂油棒必须擦净，在连续采精过程中不得暴露于灰尘中。
- 6) 射精后不得摇晃人工阴道，否则，润滑油和碎屑会落入锥状体混入采精管内。
- 7) 连续采精时，每次爬跨须使用新的假阴道，即使公牛已插入阴茎但未射精也要更换。
- 8) 采精管应无菌，或是一次性的，或用高压或加热180℃至少30分钟。备用时应密封，防止暴露在环境中。
- 9) 采精后应将采精管连同管套留在锥状体内，直至送到检验室后再取出。

第4.7.7条

关于检验室精液处理和精液样本制备的规定

1. 稀释剂
 - a) 所有使用的容器均应经过灭菌。

- b) 配制稀释剂所用的缓冲液应经过过滤（0.22微米）或高压（121℃ 30分钟）灭菌，或在加入卵黄（如可行）或等效的添加剂和抗生素之前用无菌水制备。
- c) 如稀释剂成分是市售粉剂，所用水应是蒸馏水或去离子水，已灭菌（121℃ 30分钟或等效方法），保存得当，冷却备用。
- d) 如需用牛乳、卵黄或其他动物性蛋白配制精液稀释剂，配制物应无病原体或无菌。牛乳采用92℃加热3~5分钟，如可行，鸡蛋应来自SPF鸡群。应使用无菌技术从鸡蛋中分离卵黄，也可使用供人食用的商品卵黄或经消毒处理的卵黄（可用巴氏消毒法或辐射消毒法灭菌）。其他添加剂在使用前也应灭菌。
- e) 稀释剂5℃以上贮存时间不得超过72小时，-20℃保存时间可适当延长，贮存容器应加塞。
- f) 在冷冻精液中加入抗生素混合液，每毫升冷冻精液的灭菌活性至少与下列混合液相当：庆大霉素（250微克）、泰乐菌素（50微克）、林可霉素-大观霉素（150/300微克）；青霉素（500国际单位）、链霉素（500微克）、林可菌素-大观霉素（150/300微克）；或阿米卡星（75微克）、地贝卡星（25微克）。应在国际兽医证书中说明所加抗生素的名称和浓度。

2. 稀释和包装程序

- a) 装有新鲜精液的试管应在采集后尽快密封，并在处理前保持密封状态。
- b) 稀释后及冷冻期间，精液同样需保存于有塞的容器中。
- c) 将精液注入发送容器（如人工授精吸管）时，该容器和其他一次性用品应在开包后立即使用。重复使用的材料需用乙醇、环氧乙烷、蒸汽或其他批准的消毒技术进行消毒。
- d) 如使用封闭粉，应注意防止污染。

3. 适于冷冻精液贮存和标识的条件

出口精液应贮存在吸管中，出口前吸管放在装有新鲜液氮的灭菌或消毒烧瓶中贮存，并与不符合本章要求的其他遗传物质分开。

精液吸管应按国际动物记录委员会（ICAR）的标准密封和标记。

出口前应在官方兽医的监督下，对放精液的吸管施加清晰且永久性标识，并放在装有新鲜液氮的新的或灭菌的烧瓶或容器中。在出口前用官方带编号的密封条进行密封前，容器或烧瓶内的内容物应经官方兽医确认，并附带国际兽医证书，列出其内容物及官方密封条的编号。

4. 精子分选

应根据设备许可发证者的建议，每头动物的操作均应使用清洁消毒的性别分选设备。冷冻或贮存前，如需将精浆或类似成分加到分选后的精液中，该精浆应来自卫生级别相同或更高级别的动物。

性别分选精子的精液吸管应具永久性标识。