

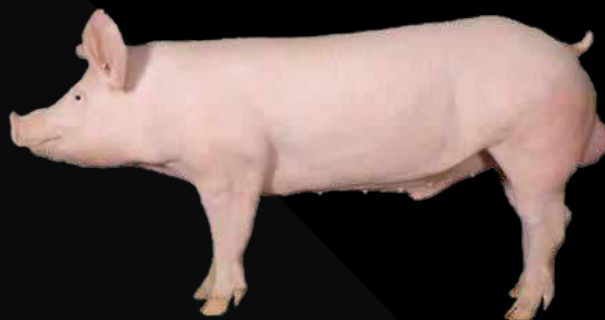
РІС® 2017

**РУКОВОДСТВО
ПО УПРАВЛЕНИЮ
ХРЯЧНИКОМ**





ДОБРО ПОЖАЛОВАТЬ В ИЗДАНИЕ 2017 ГОДА РУКОВОДСТВА PIS ПО УПРАВЛЕНИЮ ХРЯЧНИКОМ



Мы с удовольствием представляем Вам Руководство PIS по управлению хрячником 2017 года. В данном руководстве содержатся рекомендации для персонала хрячников. Издание 2017 года заменяет издание 2014 года и вообрало в себя самые современные знания и технологии.

Целью данного руководства является представление практических рекомендаций в доступном и понятном формате. Мы поделили информацию на четыре основных раздела. Каждый раздел содержит информацию по ожидаемым или целевым показателям, лучшим практикам управления и подробные инструкции по важным производственным этапам.

Отличие от издания 2014 года состоит в том, что мы добавили больше информации по обеспечению/контролю качества (ОК-КК). По нашему мнению, процессы ОК-КК являются неотъемлемой частью работы любого хрячника, поскольку качество доз семени для искусственного осеменения (ИО) может оказывать значительное влияние на производственные показатели всей производственной системы.

Данное руководство предназначено для использования по всему миру, и из него были удалены практики и правила, относящиеся к конкретным странам. Мы старались, чтобы представленная информация была полезна вне зависимости от географического положения хрячника, его размеров, типа здания или используемого оборудования. Мы понимаем, что существуют разные способы достичь таких же результатов, поэтому данное руководство не отвергает другие стратегии управления. Пожалуйста, придерживайтесь наилучших практик и стандартов в отношении благополучия и здоровья животных, предписываемых законодательными органами Вашей страны.

Мы надеемся, что с помощью данного руководства Вы сможете повысить производственные показатели Ваших хрячников.

Пожалуйста, в случае возникновения у Вас каких-либо вопросов, свяжитесь с нами.

| | |
|---|------------|
| ГЛОССАРИЙ ТЕРМИНОВ И СОКРАЩЕНИЙ..... | 1 |
| РАЗДЕЛ 1: УПРАВЛЕНИЕ ХРЯКАМИ И УСЛОВИЯМИ ИХ СОДЕРЖАНИЯ ДЛЯ НАИЛУЧШЕЙ ПРОИЗВОДИТЕЛЬНОСТИ..... | 1-1 |
| ПРОИЗВОДСТВЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ХРЯКА..... | 1-1 |
| БИОБЕЗОПАСНОСТЬ..... | 1-2 |
| ОБЩИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО УПРАВЛЕНИЮ..... | 1-2 |
| УПИТАННОСТЬ ХРЯКОВ..... | 1-5 |
| УСПЕШНОЕ ПРИУЧЕНИЕ ХРЯКА..... | 1-6 |
| СТАНДАРТНАЯ ПРОЦЕДУРА СБОРА СЕМЕНИ..... | 1-7 |
| РАБОТА С ХРЯКАМИ С ПЛОХИМ КАЧЕСТВОМ СЕМЕНИ..... | 1-8 |
| ГИГИЕНА..... | 1-8 |
| УСТРАНЕНИЕ ПРОБЛЕМ..... | 1-9 |
| РАЗДЕЛ 2: УПРАВЛЕНИЕ КАЧЕСТВОМ РАБОТЫ ЛАБОРАТОРИИ..... | 2-1 |
| ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ..... | 2-1 |
| УСТРОЙСТВО ЛАБОРАТОРИИ..... | 2-2 |
| ПОДДЕРЖАНИЕ ГИГИЕНЫ В ЛАБОРАТОРИИ..... | 2-3 |
| ОЦЕНКА СЕМЕНИ..... | 2-4 |
| ПРОЦЕСС РАЗБАВЛЕНИЯ СЕМЕНИ..... | 2-12 |
| ФАСОВКА СЕМЕНИ..... | 2-12 |
| ОХЛАЖДЕНИЕ СЕМЕНИ..... | 2-13 |
| УПАКОВКА И ДОСТАВКА СЕМЕНИ..... | 2-13 |
| ХРАНЕНИЕ СЕМЕНИ НА ФЕРМЕ..... | 2-14 |
| РАЗДЕЛ 3: ОБЕСПЕЧЕНИЕ И КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА..... | 3-1 |
| ОПРЕДЕЛЕНИЯ..... | 3-1 |
| ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ И КАЛИБРОВКА ПРИБОРОВ И ОБОРУДОВАНИЯ..... | 3-1 |
| КАЧЕСТВО ВОДЫ..... | 3-8 |
| МОЙКА И ДЕЗИНФЕКЦИЯ..... | 3-11 |
| ВНУТРЕННЕЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ И КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА..... | 3-14 |
| ВНЕШНИЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА..... | 3-16 |
| ХАССП..... | 3-17 |
| РАЗДЕЛ 4: РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ГЕНЕТИКЕ..... | 4-1 |
| ПОЧЕМУ ВАЖЕН ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ СТАДА..... | 4-1 |
| УПРАВЛЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИМ ПОТЕНЦИАЛОМ ХРЯЧНИКА..... | 4-2 |
| ОПТИМАЛЬНЫЙ СРОК СЛУЖБЫ ХРЯКА (ОССХ)..... | 4-3 |
| ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ИНСТРУМЕНТЫ..... | 4-3 |
| ПРИЛОЖЕНИЕ..... | A-1 |
| РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ВОДЕ ДЛЯ СВИНЕЙ..... | A-1 |
| УРОВЕНЬ КОРМЛЕНИЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВЕСА ХРЯКА..... | B-1 |
| ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕФРАКТОМЕТРОВ ДЛЯ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА РАЗБАВИТЕЛЯ СЕМЕНИ..... | C-1 |
| ПРИМЕРЫ УПАКОВКИ СЕМЕНИ..... | D-1 |





ГЛОССАРИЙ ТЕРМИНОВ И СОКРАЩЕНИЙ

РАЗДЕЛ 1

Уровень вмешательства

Фактическое значение производственного показателя, которое должно быть сигналом принятия конкретных действий для изменения производственной ситуации в сторону улучшения.

РРСС

РРСС означает репродуктивный и респираторный синдром свиней. Это заболевание, которое может распространяться через семя и вызывать репродуктивные проблемы у свиноматок, наряду с другими симптомами.

ppm

ppm означает миллионная доля (partspermillion или г/тонну, мг/кг). Это концентрация вещества, растворенного в жидкости или газе, выраженная через единицу вещества, растворенного в миллионе единиц раствора.

cfm

cfm означает кубических футов в минуту (cubic feet per minute). Это показатель объема воздуха, проходящего через систему вентиляции или через другое пространство.

fpm

fpm означает футов в минуту (feetperminute). Это показатель скорости воздуха, проходящего через систему вентиляции или другое пространство.

микрон (микрометр)

Микрон – это единица длины, равная одной миллионной доле метра. Обозначается (мкм)

Мкал/ОЭ

Мкал/ОЭ означает мегакалорий обменной энергии. Это показатель энергии (корма).

ПЦР

ПЦР означает полимеразная цепная реакция. Это метод исследования, позволяющий получить быстрый и высокоспецифичный диагноз инфекционного заболевания.

ИО

ИО означает искусственное осеменение.

Либи́до

Либи́до относится к половому влечению. В контексте хряков ИО оно означает желание запрыгивать на чучело для сбора семени.

Станок разогрева

Станок разогрева – это станок, в который хряка помещают перед сбором семени. За счет нахождения рядом со станком, в котором происходит сбор семени другого хряка, хряк в станке разогрева получает половую стимуляцию, что ускоряет процесс его запрыгивания на чучело, когда он попадает в станок сбора семени.

Преупций

Преупций – это защитная кожа вокруг головки пениса хряка, которая также называется преупциальный мешок.

Прочная уздечка

Уздечка – это тонкослойная мембрана между кончиком и основанием пениса. Обычно она отделяется перед рождением.

ИШМ

ИШМ означает искусственная шейка матки. В системе автоматического сбора семени она фиксирует пенис и оказывает стимулирующее давление.

Преупциальная жидкость

Преупциальная жидкость представляет собой контаминированную бактериями жидкость в преупциальном мешке, которая содержит мочу и другие выделения.

Эпидидимис

Эпидидимис представляет собой вытянутый орган на задней поверхности семенника, в котором сохраняются сперматозоиды во время созревания.

Срок хранения

В контексте ИО срок хранения относится ко времени, до которого дозы семени должны быть использованы для осеменения.

Стерильный

Стерильный означает свободный от бактерий или других живых микроорганизмов.

Контаминация (микробиологическая)

Контаминация означает непреднамеренное или случайное занесение инфекционного материала, такого как бактерии, другие токсины или побочные продукты.

Дезинфекция

Дезинфекция относится к действиям по дезинфицированию с использованием специальных очищающих методов.

РАЗДЕЛ 2

Подвижность (сперматозоидов)

Подвижность – это способность сперматозоидов к движению, обычно выражаемая в % от общего количества сперматозоидов.

Прогрессивная подвижность (сперматозоидов)

Прогрессивная подвижность – это способность сперматозоидов перемещаться в прямом направлении, обычно выражаемая в % от общего количества сперматозоидов.

Первичные дефекты сперматозоидов

Первичные дефекты сперматозоидов – это дефекты, причиной которых являются нарушение сперматогенеза (производства спермы), такие как деформации головы.

Вторичные дефекты сперматозоидов

Вторичные дефекты сперматозоидов – это дефекты, возникающие во время прохождения эпидидимиса, такие как цитоплазменные капли.

CASA

CASA означает компьютерный анализ семени (ComputerAssistedSpermAnalysis). Это система, которая, с помощью специализированного программного и инженерного обеспечения, проводит автоматическую оценку различных параметров семени, таких как подвижность сперматозоидов и морфология.

(Спектро-) Фотометр

Спектро-фотометр – это устройство, которое проводит измерение интенсивности света. Концентрация эякулята может быть измерена с помощью подобных устройств за счет измерения интенсивности света до и после прохождения его через образец семени.

NaCl

NaCl означает хлорид натрия.

Андрология

Андрология – это раздел медицины, изучающий здоровье особей мужского пола и в особенности проблемы мужской репродуктивной системы.

Точность

Точность измерений определяется как разница между измерением переменной и принятым значением этой переменной, взятого из достоверного источника, или как процент, на который различаются две эти величины.

Акросома

Акросома – это органелла, покрывающая головку сперматозоида животных и содержащая ферменты, которые переваривают внешний слой яйцеклетки, позволяя, таким образом, сперматозоидам проникнуть в яйцеклетку.

Формальдегид

Формальдегид – это химическое вещество, которое может использоваться для сохранения сперматозоидов для их анализа.

Масляная иммерсия (микроскопия)

В световой микроскопии масляная иммерсия – это метод, которые позволяет повысить разрешающую способность микроскопа. Это достигается за счет погружения (иммерсии) линз объектива и покровного стекла в прозрачное масло с высоким индексом рефракции, повышая, таким образом, числовую апертуру линз объектива.

Общее количество растворенных веществ

Общее количество растворенных веществ – это показатель общего содержания всех неорганических и органических веществ, содержащихся в какой-либо жидкости.

Изотермический

Термин изотермический относится к чему-либо, происходящему без изменения температуры. В контексте сохранения семени это означает смешивание образца семени с разбавителем, имеющим такую же температуру.

РАЗДЕЛ 3

Калибровка

Калибровка – это сравнение измеряемых значений, полученных с помощью устройства в ходе теста со стандартными калибровочными значениями известной точности.

ОК – Обеспечение Качества

ОК – это способ предотвращения ошибок или брака при производстве продуктов, в котором главное внимание уделяется уверенности в том, что качественные требования будут выполнены.

КК – Контроль Качества

КК – это процедура или набор процедур, направленных на контроль того, что производимые продукты будут соответствовать определенным критериям качества.

Погрешность

Погрешность – это степень в которой данное количество измерений одного и того же образца совпадает со средним измеренным значением.

Чувствительность

Чувствительность – это наименьшая абсолютная величина изменения, которая может быть определена с помощью измерения.

Точность

Точность измерений определяется как разница между измерением переменной и принятым значением этой переменной, взятого из достоверного источника, или как процент, на который различаются две эти величины.

Допустимое отклонение

Допустимое отклонение относится к общей допустимой погрешности в ходе измерения.

Гемоцитометр

Гемоцитометр – это прибор, используемый для ручного подсчета клеток крови и семени, состоящий из счетной камеры однородной глубины, которая покрыта линованным покровным стеклом, таким образом, что область под каждым размеченным квадратом содержит известный объем разбавленного образца.

Проточная цитометрия

Проточная цитометрия – это лазерная или импедансная технология, применяемая для подсчета или сортировки клеток за счет прохождения жидкости, в которой находятся клетки во взвешенном состоянии, через электронный детектор. Проточный цитометр позволяет проводить одновременный мультипараметрический анализ физических и химических характеристик до тысячи клеток в секунду.

Биопленка

Биопленка – это устойчивый тонкий слой микроорганизмов (таких как бактерии), который формируется на различных поверхностях, таких как водяные трубы.

УФ-стерилизация

УФ-стерилизация – это процесс стерилизации материалов, путем обработки их ультрафиолетовым излучением.

ОО – Обратный Осмос

ОО – это технология очистки воды, которая использует полупроницаемую мембрану для удаления из воды ионов, молекул и более крупных частиц.

Колиформные бактерии

Колиформные бактерии – это определенный вид бактерий, которые, обычно, используются в качестве индикатора в определении санитарного качества пищи или воды. Фекальные колиформные бактерии – это такие бактерии, которые, обычно, образуются в кишечнике теплокровных животных.

АООС

АООС означает Агентство охраны окружающей среды США.

Уровень достоверности

Уровень достоверности – это показатель надежности результата. Уровень достоверности в 95 процентов или 0,95 означает, что существует как минимум 95 процентная вероятность того, что результаты верны.

Уровень отклонения

Уровень отклонения – это показатель, который используется для определения объема вариации или дисперсии набора значения данных.

ХАССП

ХАССП означает Анализ рисков и критические контрольные точки (HazardAnalysisandCriticalControlPoints). Это система мониторинга, пришедшая из пищевой промышленности, использующаяся для идентификации и контроля угроз здоровью, связанных с пищевой промышленностью. Вместо оценки конечного продукта она направлена на предотвращение контаминации.

КОЕ

КОЕ означает колониеобразующие единицы. Это показатель бактериальной обсемененности, которая обычно выражается в мл или см².

РАЗДЕЛ 4

Терминальный хряк

Термин терминальный хряк относится к хряку, который используется для получения коммерческих или товарных животных для получения мяса.

GP хряк

Термин GP хряк относится к хряку, который используется для получения свинок, которые затем будут использоваться в качестве родительских свиноматок.

GGP хряк

Термин GGP хряк относится к хряку, который используется для получения чистопородного потомства.

Camborough® (Камборо)

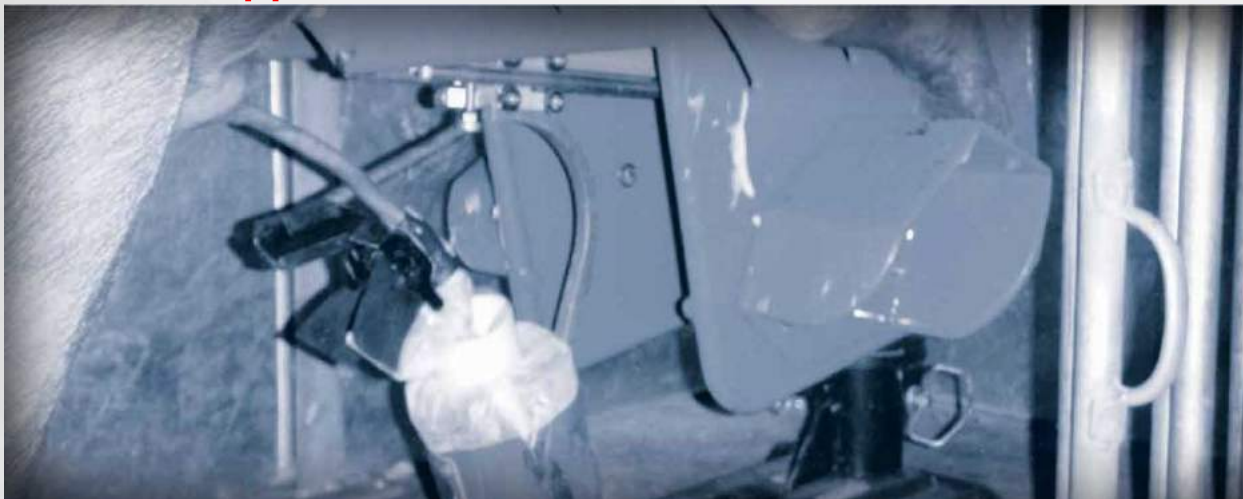
Камборо означает родительскую свинку PIC, которая представляет собой гибрид PICL02 (Ландрас) и PICL03 (Крупная Белая).

ОССХ

ОССХ означает оптимальный срок службы хряка. Это инструмент, используемый генетической службой PIC для предоставления рекомендаций по выбраковке.



УПРАВЛЕНИЕ ХРЯКАМИ И УСЛОВИЯМИ ИХ СОДЕРЖАНИЯ ДЛЯ НАИЛУЧШЕЙ ПРОИЗВОДИТЕЛЬНОСТИ



В начале данного раздела даются характеристики и целевые показатели для эффективно работающего хрячника. Дополнительно здесь описываются практики, помогающие достичь этих показателей, включая общие рекомендации по менеджменту, биобезопасности, обучению хряков и сбору семени.

ПРОИЗВОДСТВЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ХРЯКА

Хорошие показатели работы хряка ИО являются результатом хорошего управления, включающего правильное карантинирование и обучение, соблюдение высоких стандартов в кормлении, тщательное соблюдение санитарии и правил сбора семени.

| ПОКАЗАТЕЛЬ | ЦЕЛЬ | УРОВЕНЬ ВМЕШАТЕЛЬСТВА |
|---|--------------------------|--------------------------|
| Кол-во хряков, обученных через 4 недели | >90 % | <80% |
| Необучаемые хряки | ≤3% | >10% |
| Возраст получения первых доз для использования | ≥220 дней - <300 дней | <200 дней - >300 дней |
| Кол-во собранных хряков на одного оператора в час ¹ | ≥5 | ≤3 |
| Средний выход семени на хряка в неделю ² | ≥90 млрд. клеток | <75 млрд. клеток |
| Непродуктивные хряки (хромота, больные, качество семени,...) ³ | ≤5% | >10% |
| Эякулятов с плохим качеством ⁴ | 6-10% | >12% |
| Падеж хряков в год | <5% | >5% |

- 1 В зависимости от конструкции помещения: расстояние между зоной сбора и станком/клеткой, близость передаточного окна к зоне сбора семени и т.д. Полуавтоматические системы сбора семени могут дать увеличение количества собранных хряков на одного оператора до 10 в час.
- 2 В зависимости от породы и возраста хряка. Указанное количество относится к хрячнику с терминальными хряками и процентом замены равным 70%.
- 3 Данные являются среднегодовыми значениями и зависят от географического положения, а также от температуры в помещении. В летний период количество непродуктивных хряков может вырасти до >10%.
- 4 Под плохим качеством понимаются эякуляты с подвижностью <70% и/или >30% клеток с нарушениями. Представленный показатель дается как среднее за год. Процент брака в месяц, особенно в летний период, может быть выше.

БИОБЕЗОПАСНОСТЬ

Большинство хрячников обслуживают большое количество свиноматок/репродукторов, и заболевания, которые могут передаваться через семя (например, РРСС, классическая чума свиней) могут привести к огромным экономическим потерям. Поэтому, защита статуса здоровья хрячника имеет чрезвычайную важность. Правильное расположение хрячника, соблюдение карантинных процедур и надлежащее управление могут помочь снизить риск попадания патогенов на хрячник, а также на репродукторы его клиентов. В таблице 1.2 представлены наилучшие практики биобезопасности. При поддержке Вашего ветеринара Вы можете изучать и применять дополнительные практики биобезопасности.

ТАБЛИЦА 1.2: РЕКОМЕНДАЦИИ ПО БИОБЕЗОПАСНОСТИ

| ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ | ХАРАКТЕРИСТИКИ БИОБЕЗОПАСНОГО ХРЯЧНИКА |
|-----------------------|---|
| Расположение хрячника | <ul style="list-style-type: none">• Организовывайте хрячник на как можно большем удалении от других свиноферм, главных дорог и т.д.;• Обеспечьте защиту от незваных посетителей (замки, забор и т.д.) |
| Персонал | <ul style="list-style-type: none">• Соблюдайте минимальный карантин после контакта с другими свиньями в 48 часов;• Используйте дезинфекцию/бахилы для обуви;• Душ и полная смена одежды и обуви при входе на хрячник;• Одна ночь карантина при переходе из карантина в зону производства; |
| Посетители | <ul style="list-style-type: none">• Посещение хрячника только при необходимости (техническое обслуживание и т.д.);• Правила такие же, как и для персонала хрячника;• Регистрация в книге посетителей (имя, причина визита, время и место последнего контакта со свиньями, подтверждение соблюдения правил биобезопасности);• Держите внутри хрячника часто используемые инструменты (для техобслуживания);• Проводите мойку и дезинфекцию всех инструментов/ материалов, которые передаются внутрь хрячника |
| Поступающие материалы | <ul style="list-style-type: none">• Проводите мойку и дезинфекцию всех материалов перед их поступлением на хрячников; обработка с помощью генератора горячего тумана;• Рассмотрите возможность организации удаленного места доставки материалов для уменьшения подъезда внешнего транспорта близко к хрячнику;• Удаляйте внешнюю упаковку (т.е. внешние картонные коробки) для улучшения качества дезинфекции |
| Транспорт | <ul style="list-style-type: none">• Мойка, дезинфекция и сушка перед подъездом к производственному корпусу (перевозка животных);• Установите надлежащую продолжительность выстойки трейлеров между перевозками животных |
| Другое | <ul style="list-style-type: none">• Организуйте процедуры контроля грызунов и насекомых;• Установите в корпусах систему фильтрации воздуха с позитивным давлением;• Организуйте независимый карантин для всех поступающих ремонтных хрячков в течение установленного периода времени перед поступлением на хрячник |

Больше информации по стратегиям биобезопасности можно получить, обратившись в ветеринарную службу PIC.

ОБЩИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО УПРАВЛЕНИЮ

В данном разделе мы делаем обзор общих стратегий управления, которые должны одинаково хорошо работать в карантине и производственном корпусе. Ключевая информация представлена в таблице 1.3.

Отказ от ответственности: Производители должны при любых обстоятельствах соблюдать законы, действующие в их стране, регулирующие практики управления и условия содержания животных, даже если они не совпадают с представленными здесь рекомендациями.

ТАБЛИЦА 1.3: ОБЩИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО УПРАВЛЕНИЮ ХРЯКАМИ

| ФАКТОР | КАРАНТИН | ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ КОРПУС |
|--|--|--|
| УСЛОВИЯ СОДЕРЖАНИЯ | | |
| Температура ¹ | <ul style="list-style-type: none"> • <20°C | |
| Влажность | <ul style="list-style-type: none"> • >40% - <70% | |
| Содержание газов (макс. мг/м ³ воздуха) | <ul style="list-style-type: none"> • аммиак: 20 мг/м³ • углекислый газ: 3 000 мг/м³ • сероводород: 5 мг/м³ | |
| Вентиляция (в кубич. футах в минуту (CFM) на голову) | <ul style="list-style-type: none"> • Минимум (холодно): 14 CFM • Максимум: 150 CFM | |
| Скорость воздуха (в футах в минуту (FPM)) | <ul style="list-style-type: none"> • 400 – 800 FPM | |
| Содержание ² | <ul style="list-style-type: none"> • Содержите хряков в индивидуальных станках; • Обеспечивайте визуальный и/или прямой контакт с другими животными; • Содержите рядом хряков одного возраста/породы для упрощения визуального сравнения | |
| Полы ² | <ul style="list-style-type: none"> • Сплошной пол: с наклоном, чтобы не скапливались навоз и жидкость; • Зона отдыха с теплоизоляцией; • Решетчатый пол: должен быть сухим и чистым; • Солома: меняйте минимум раз в неделю. Рекомендуется проводить регулярные тесты на микотоксины. Обеспечьте поступление из безопасного источника (без свиного навоза); • Опилки: меняйте 1-3 раза в год (в зависимости от влажности); • Регулярно убирайте фекалии и содержите зону отдыха максимально сухой | |
| КОРМЛЕНИЕ | | |
| Вода | <ul style="list-style-type: none"> • У животных всегда должна быть чистая и свежая вода; • Используйте nippleные поилки (80-90 см над уровнем пола) или поилки корытного типа; • Суточная потребность составляет примерно 17 л на хряка в день; • Минимальная скорость воды из поилки равна 1л/мин. Проверяйте раз в месяц; • Проверяйте работу nippleной поилки при чистке кормушек; • Качество воды должно соответствовать Приложению А (проверяйте два раза в год) | |
| Рацион | <ul style="list-style-type: none"> • Соответствие возрасту/весу для поддержания требуемой упитанности. См. информацию по составу корма и энергетической потребности в Приложении В. Более подробную информацию можно получить, обратившись в Службу по кормлению компании PIC • Средний размер частиц 750-900 микрон; • Избегайте использования побочных или сопутствующих продуктов, где могут накапливаться микотоксины. Корм для хряков должен производиться из проверенного сырья; • Применение адсорбентов микотоксинов может быть полезным; • Проводите регулярные исследования на микотоксины; • Применение антиоксидантов может быть полезным; • Дополнительную информацию можно получить, обратившись в Службу по кормлению компании PIC | |
| Стратегия кормления | <ul style="list-style-type: none"> • Кормление 1-2 раза в день; • Чистите кормушки перед кормлением; • При использовании автоматических кормушек, проверяйте их точность, проводя взвешивания корма и корректировку кормушек 2 раза в неделю | |
| | <ul style="list-style-type: none"> • При изменении корма и условий содержания уменьшайте рацион (2/3 от обычной нормы) на 2-3 дня; После первых 2-3 дней кормите хряков с целью поддержания упитанности на уровне 2; • При поступлении хряков весом примерно 160 кг нормой будет скармливание около 2,5 кг корма с содержанием 7,9 Мкал/ОЭ в день. | <ul style="list-style-type: none"> • Корректируйте кормление индивидуально, по визуальной оценке, упитанности; • Цель - >95% хряков в нормальной упитанности³. |

| ФАКТОР | КАРАНТИН | ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ КОРПУС |
|---|--|---|
| ЗДОРОВЬЕ | | |
| Обработки | <ul style="list-style-type: none"> • Ветеринар хрячника должен следовать законодательству данного региона; • Проводите лечение в минимально возможном объеме, т.к. это может негативно сказаться на качестве семени; • По возможности следует отдавать предпочтение оральному применению, вместо инъекций. Препараты растворяйте в разбавителе или стерильной воде. Состав разбавителя может оказывать негативное влияние на производство семени и/или его качество. Обычно препараты не тестируются на такие воздействия; • Никогда не делайте инъекции животным в станке сбора семени; • Ведите учет всего проводимого лечения. | <ul style="list-style-type: none"> • Делите вакцинацию между несколькими группами, давая время на уменьшения потенциального негативного воздействия на качество семени; • Снижайте количество вакцинаций до абсолютного минимума. |
| | <ul style="list-style-type: none"> • Проведение вакцинаций не должно начинаться в течение первых 3 дней после прибытия; • Некоторые вакцины оказывают негативное воздействие на качество семени. Применяйте такие вакцины как можно раньше, чтобы дать хряку время на восстановление перед началом сбора семени. Негативное влияние может продолжаться до 8 недель после обработки. | |
| Диагностические исследования ⁴ | <ul style="list-style-type: none"> • Проведение диагностических исследований и выбор методов исследований зависит от ветеринара хрячника, при соблюдении законов действующих в данном регионе; • Отбор образцов должен быть максимально осторожным. Рассмотрите взятие проб слюны, взятие проб крови из ноги (предплюсневая вена) вместо яремной вены и т.д.; • Обратитесь к Вашему ветеринару за подробными инструкциями. | |
| | <ul style="list-style-type: none"> • Проводите первичные тесты на хряках в течение семи дней после прибытия; • Исследуйте 100% поголовья в конце периода карантина. | <ul style="list-style-type: none"> • Проводите регулярные исследования на распространенные заболевания, передающиеся через семя, а также обязательные по закону. |
| Мониторинг клинических признаков | <ul style="list-style-type: none"> • Ежедневно обходите залы содержания проводя осмотр и выявляя хряков, которые не съели весь корм или имеющих признаки заболевания; • Измеряйте и регистрируйте температуру у каждого хряка с подозрением на заболевание; • В случае жара ($\geq 39^{\circ}\text{C}$) у животного немедленно свяжитесь с Вашим ветеринаром и пропустите сбор семени данного хряка в этот день. Рекомендуется проведение диагностического исследования образцов крови, включая ВРСС в ПЦР; • Каждый день во время кормления поднимайте хряков, для проверки ног; • Если у Вас есть сомнения – обратитесь к Вашему ветеринару; • Ведите учет по каждому хряку, отказавшемуся от корма или которому проводилось лечение. | |
| Сбор семени у больных хряков | <ul style="list-style-type: none"> • Не проводите сбор семени у хромых хряков до полного выздоровления и завершения применения обезболивающих; • Не проводите сбор семени у хряков с кровью в семени в течение 2 недель. Если в семени по-прежнему появляется кровь после периода отдыха, необходимо проведение медицинского исследования и надлежащего лечения, в соответствии с рекомендациями Вашего ветеринара; • Не проводите сбор семени у животных с угнетением общего состояния до полного выздоровления. | |



| ФАКТОР | КАРАНТИН | ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ КОРПУС |
|----------------------------------|---|--|
| СБОР СЕМЕНИ | | |
| Начало сбора семени ⁵ | <ul style="list-style-type: none"> Начинайте приучение к сбору семени в возрасте не ранее 180 и не позднее 270 дней; Начинайте приучение к сбору семени не ранее, чем через 5 дней после поступления на хрячник; | <ul style="list-style-type: none"> Не начинайте сбор семени для ИО до возраста 220 дней; Прежде чем использовать дозы для ИО необходимо собрать 2 эякулята подряд, которые будут удовлетворять минимальным требованиям (2ой хороший эякулят можно использовать) |
| Частота сбора | <ul style="list-style-type: none"> Проводите обучение в течение 2 дней подряд, с последующим 1 днем отдыха и повторяйте до тех пор, пока не получите 2 успешных сбора от хряка в течение 2 дней обучения подряд; После успешного приучения собирайте хряка один раз в 7 дней. | <ul style="list-style-type: none"> Собирайте хряков младше 12 месяцев: 1раз в неделю; Собирайте хряков старше 12 месяцев: Минимум: 1раз в неделю Максимум: каждые 3 дня; Реакция на определенную частоту сбора может быть разной у разных хряков. |
| Сбор семени у больных хряков | <ul style="list-style-type: none"> Не проводите сбор семени у хромых или больных хряков до полного выздоровления; Хрякам с кровью в семени нужно давать отдых на 2 недели. | |
| График сбора семени | <ul style="list-style-type: none"> Во время обучения, сначала собирайте хряков с высоким либидо, после чего собирайте более трудных хряков. | <ul style="list-style-type: none"> Управляйте графиком сбора с помощью проактивного планирования; Определяйте очередность сбора на основе индекса и соответствия животным требованиям (в первую очередь собирайте хряков с высоким индексом, должным количеством дней отдыха и хорошим качеством семени) |

- Мы осознаем, что температура в зале ниже 20°C труднодостижима в некоторых регионах в летний период. Однако исследования показывают, что эта температура является пороговой в отношении появления негативного влияния на производство семени.
- Всегда соблюдайте региональные требования в отношении содержания и применения подстилки для хряков ИО.
- Примеры категорий упитанности хряков ИО представлены ниже.
- Необходимо определять вместе с ветеринаром хрячника.
- Различия могут появиться в зависимости от того, проводилось ли обучение хряков в карантине или на хрячнике.

УПИТАННОСТЬ ХРЯКОВ

Стратегии кормления, представленные в таблице 1.3 и Приложениях А, В и С помогут Вам поддерживать требуемую упитанность хряков. Оценка упитанности хряков, используемая PIC, показана на рисунке 1. Однако данная иллюстрация не может учесть различий, существующих между генетическими линиями. У животного с нормальной упитанностью (оценка 2) можно прощупать позвоночник с усилием надавив на спину, но он не просматривается визуально (особенно, возле хвоста).

Учитывайте, что количество корма должно корректироваться индивидуально для каждого хряка, а также, исходя из состава применяемого рациона. Автоматизированные системы кормления позволяют поддерживать более стабильный режим кормления. С целью получения достоверной информации лучше всего, если оценка упитанности животных будет проводиться одним и тем же сотрудником.

РИСУНОК 1.1: УПИТАННОСТЬ ХРЯКА



УСПЕШНОЕ ПРИУЧЕНИЕ ХРЯКА

Качественное приучение хряков к ИО является фундаментом к получению высокопродуктивного хрячника. Ошибки на этапе приучения к сбору семени могут иметь негативные последствия для «качества садки» хряков или приведет к тому, что некоторых хряков вообще невозможно будет собрать. Ключевые элементы успешного приучения хряков приводятся ниже.

ПОДГОТОВКА

- Используйте систему учета для регистрации процесса приучения каждого хряка.
- Уберите все источники отвлечения внимания хряка в зоне сбора семени.
- Конструкция станка сбора семени не должна позволять хряку слишком свободно ходить по станку.
- Располагайте станок разогрева рядом со станком сбора семени или позади него.
- Обеспечьте безопасность персонала. Убедитесь, что хряк чувствует себя комфортно при контакте с человеком.
- Допускайте к приучению хряков только опытных и терпеливых сотрудников.
- Настройте чучело в соответствии с размерами хряка (угол $\sim 120^\circ$ между задними ногами и животом)

СБОР СЕМЕНИ

- Сожмите препуций для стимуляции хряка и сделайте все, чтобы хряк обратил внимание на чучело.
- Как только хряк запрыгнет на чучело захватывайте пенис и собирайте эякулят.
- Во время сбора семени обращайте внимание на любые возможные анатомические проблемы у хряка (т.е., вялый пенис, прочная уздечка) и сообщайте о них поставщику хряков.

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ДЕЙСТВИЙ

- В то время как происходит сбор первого хряка, следующего хряка нужно разместить в станке разогрева для подготовки к приучению.
- Если хряк не запрыгивает на чучело в течение примерно 5 минут, остановите приучение и продолжите на следующий день.
- В качестве альтернативы, рассмотрите вариант с использованием натурального простагландина (если это разрешено в Вашей стране; обратитесь за консультацией к ветеринару).
- Не проводите никаких манипуляций (вакцинации, обрезка клыков и т.д.) в зоне сбора семени.
- После того, как хряк был приучен, повторяйте процесс в течение 2 дней подряд, для закрепления опыта приучения.
- После успешного завершения процесса приучения проводите сбор хряка один раз в 7 дней до достижения хряком возраста 1 года.

ПРИУЧЕНИЕ ХРЯКОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СИСТЕМЫ АВТОМАТИЧЕСКОГО СБОРА СЕМЕНИ

Здесь требуется немного другой подход. Подробности описаны ниже.

- В автоматической системе сбора семени имеется искусственная шейка матки (ИШМ), выдвигающая штанга, держатель ИШМ и чучело.
- ИШМ повторяет шейку матки свиноматки и оказывает давление для стимуляции хряка.
- Выдвигающая штанга позволяет совершать возвратно-поступательные движения во время сбора семени.
- В первый день сбора следуйте этапам ручного сбора семени (описанным выше).
- На второй день проведите сбор первой фракции эякулята вручную в течение примерно 1 минуты левой рукой.
- Через 1 минуту зафиксируйте пенис хряка в автоматической системе и дайте хряку закончить процесс сбора.
- Повторите процесс после дня отдыха на 3 день обучения.
- Каждый хряк будет привыкать к системе в своем темпе. Не каждый хряк принимает автоматический сбор. Если хряк не адаптируется к системе через 4 недели Вам следует подумать о ручном сборе для данного хряка.

Используйте QR-код ниже для получения более подробной информации по успешному приучению хряков к сбору семени (переход на презентацию «Успешное приучение хряков»)



СТАНДАРТНАЯ ПРОЦЕДУРА СБОРА СЕМЕНИ

Ниже описываются все аспекты эффективного сбора семени

ОРГАНИЗАЦИЯ ЗОНЫ СБОРА СЕМЕНИ

Правильная организация зоны сбора семени помогает сделать процесс получения семени более быстрым, безопасным, гигиеничным и продуктивным. Она дает преимущество в обеспечении гигиены процесса по сравнению со сбором семени в станке содержания. Ключевыми элементами эффективной зоны сбора семени являются:

- Отдельное расположение от зоны содержания животных.
- Как можно меньшая площадь.
- Ее должно быть легко мыть (поверхности/стены/полы/чучело).
- Полы с хорошим коэффициентом сцепления.
- Сбор семени должен проводиться снаружи зоны или должна быть возможность эвакуации для персонала.
- Сбор семени производится из ямы для сбора, чтобы снизить вероятность травм от напряжения, а также проблем с коленями и спиной у операторов.
- Чучело должно быть легко мыть (легко поднять), его высота должна регулироваться.
- Использование (полу-) автоматических систем, чтобы освободить оператора от вероятности получения травм от повторяющегося напряжения.
- Использование зоны сбора совместно с «зоной разогрева»
 - Во время сбора хряка, следующий хряк получает стимуляцию за счет того, что видит/слышит/нюхает предшественника.

ПРОЦЕДУРА СБОРА СЕМЕНИ

Процедура сбора семени является одним из ключевых компонентов производства семени высокого качества. Бактериальную контаминацию эякулята можно немного снизить, если выполнять ее правильно. Лучшие практики сбора семени представлены в Таблице 1.4.

ТАБЛИЦА 1.4: РЕКОМЕНДАЦИИ ПО СБОРУ СЕМЕНИ

| ЭТАП | РЕКОМЕНДАЦИИ |
|-----------------------|---|
| Перед сбором семени | <ul style="list-style-type: none">• Информацию по частоте/графику сбора семени можно найти в таблице по управлению (Таблица 3);• Храните все рекомендуемые расходные материалы, такие как перчатки, кружки для сбора семени, пакеты и т.д. в чистом, закрытом шкафу;• Пользуйтесь кружкой для сбора эякулята, в которую вставляется пластиковый пакет. Кружка должна быть предварительно прогрета до 37°C.• Накрывайте кружку фильтром (марля, фильтр для молока, коммерческий продукт) для отделения бульбоуретрального секрета (гелиевой фазы) от эякулята;• С целью соблюдения гигиенических требований не ставьте кружку для сбора семени на пол или другие загрязненные поверхности;• Для лучшей стимуляции рекомендуется работать в зоне разогрева. Хряки в станке разогрева будут получать стимуляцию, наблюдая за сбором другого хряка, а также за счет запаха и звука;• Старайтесь, чтобы хряк запрыгивал на чучело в пределах <5 минут после захода в зону сбора семени. |
| Во время сбора семени | <ul style="list-style-type: none">• Метод двойной перчатки позволяет повысить гигиену процесса сбора семени:<ul style="list-style-type: none">○ Внешняя перчатка снимается после очищения препуция и стимуляции хряка до появления пениса;○ Перед захватом пениса внешняя перчатка снимается. До пениса разрешается дотрагиваться только внутренней перчаткой.• Захватите пенис одной рукой, оставив кончик свободным;• Держите пенис и его кончик выше уровня живота хряка (выше), чтобы избежать попадания препуциальной жидкости в кружку сбора семени;• Не дотрагивайтесь рукой до фильтра или кончика пениса;• Не собирайте первую, прозрачную фракцию эякулята, выливайте ее на пол. Она удаляет большинство потенциальных загрязнений из эякулята;• Продолжайте сбор семени до тех пор, пока хряк не закончит эякуляцию и не втянет пенис обратно. |
| После сбора семени | <ul style="list-style-type: none">• Посещение хрячника только при необходимости (техническое обслуживание и т.д.);• Правила такие же, как и для персонала хрячника;• После сбора семени главным приоритетом является подготовка эякулята для передачи в лабораторию;• НЕ сжимайте фильтр с целью удалить жидкость из гелиевой фракции. Фильтр может содержать загрязнения и может быть поврежден, а сжатие его может привести к попаданию частичек геля в эякулят, что негативно скажется на качестве семени. |

РАБОТА С ХРЯКАМИ С ПЛОХИМ КАЧЕСТВОМ СЕМЕНИ

Правильная работа с хряками с плохим качеством семени может повысить вероятность их возвращения в производство и ускорить этот процесс. Необходимо знать, что хряки с сильными повреждениями семенников не смогут выздороветь.

- В случаях сбора двух эякулятов подряд, не отвечающих минимальным критериям качества, пометьте хряка.
Это также называется поставить хряка «на паузу» до проведения дальнейшего исследования;
- Используйте отдельную программу работы с помеченными хряками, описанную ниже;
- Проводите выбраковку хряков с очень низким индексом или тех, которые были отобраны на выбраковку и имеющих плохое качество семени;
- Проведите осмотр животного на предмет признаков, которые могли бы объяснить плохое качество семени, таких как:
 - Хромота/боль
 - Плохая упитанность
 - Ненормальные семенники/придатки семенников (большая асимметрия, воспаления, повреждения, атрофия и т.д.)
- В случае необходимости проведите лечение;
- Такие факторы как тепловой стресс, вакцинации, микотоксины и т.д., могут негативно влиять на качество семени.

ПРОГРАММА РАБОТЫ С ПОМЕЧЕННЫМИ ХРЯКАМИ:

1. Перед сбором семени измерьте температуру хряка. Повышенная температура тела может быть причиной плохого качества семени.
2. Изучите данные о здоровье и лечении хряка. Имеется ли там указание на возможную причину? Особое внимание обратите на данные за последние 3-4 недели;
3. Выведите хряка из графика сбора, но продолжайте собирать у него семя:
 - < 12 месяцев: строго 1 раз в неделю
 - > 12 месяцев: минимум 1 раз в неделюИсключение делайте для хряков с проблемами со здоровьем/хромым/с кровью в эякуляте (см. Таблицу 1.3).
Планируйте сбор помеченных хряков в наименее загруженные дни, чтобы было достаточно времени для анализа эякулята;
4. Проводите анализ подвижности и морфологии каждого эякулята, чтобы отслеживать процесс выздоровления. Проводите подробную оценку морфологии семени при высоком разрешении (см. Раздел II, Глава «Оценка семени») для определения процентного содержания каждого типа повреждений клеток. Также определяйте плотность клеток, если проблема хряка в низкой концентрации спермиев в эякуляте;
5. В случае необходимости отправьте образец эякулята в стороннюю лабораторию для микробиологического исследования;
6. В случае сбора двух эякулятов подряд с хорошим качеством семени, верните хряка обратно в график сбора;
7. Проследите, пришло ли качество семени в норму через примерно 6-8 недель после устранения причины его ухудшения.

ГИГИЕНА

Бактериальное загрязнение эякулятов отрицательно сказывается на качестве семени и на сроках годности получаемых доз семени. Несмотря на то, что трудно получить стерильный эякулят в коммерческих условиях, приоритетом является максимально возможное снижение бактериального загрязнения сырого эякулята во время сбора. Ключевые гигиенические меры приведены в Таблице 1.5.



ТАБЛИЦА 1.5: ОБЩИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ГИГИЕНЕ СБОРА СЕМЕНИ

| ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ | РЕКОМЕНДАЦИИ |
|---------------------------------|--|
| Содержание хряков | <ul style="list-style-type: none"> Обеспечьте хрякам чистую и сухую зону отдыха; Регулярно меняйте подстилку; Регулярно проводите полную мойку и дезинфекцию всего корпуса. Частота будет различаться в зависимости от типа подстилки и влажности. Минимум 1 раз в год |
| Хряк | <ul style="list-style-type: none"> Хряк должен заходить в зону сбора семени без загрязнений, таких как фекалии, подстилка и т.д.; При необходимости вымойте и высушите его живот/нижнюю часть; Регулярно остригайте препуциальную щетину. |
| Зона сбора семени/чучело | <ul style="list-style-type: none"> При возможности должна быть отделена от зоны содержания животных; Мойка, дезинфекция и сушка в конце каждого рабочего дня (мойка под давлением, моющее средство, дезинфектант); Особое внимание при мойке уделяйте нижней части чучела (переворачивайте чучело для мойки, если возможно); При появлении глубоких царапин на чучеле, замените его |
| Материалы (кружки, перчатки...) | <ul style="list-style-type: none"> Храните все материалы рядом с зоной сбора в закрытом шкафу, чтобы минимизировать их загрязнение; Готовьте кружки для сбора (пакет и марля/фильтр) в чистых условиях; При использовании пакетов для сбора семени с фильтром, можно проводить подготовку в зале с животными; Не дотрагивайтесь до фильтров и внутренней части кружки/пакета руками; Стакан/пакет вкладывайте в теплую кружку с теплоизоляцией. |
| Способ сбора семени | <ul style="list-style-type: none"> Смотрите параграф «Сбор семени» выше в данном разделе |
| Подогревательный шкаф | <ul style="list-style-type: none"> Чистка, мойка и сушка в конце каждого рабочего дня (моющее средство-сушка-спирт). |
| Кружки с теплоизоляцией | <ul style="list-style-type: none"> Чистка, мойка и сушка в конце каждого рабочего дня (моющее средство-сушка-спирт). |

УСТРАНЕНИЕ ПРОБЛЕМ

В данном разделе мы расскажем о наиболее часто встречающихся проблемах на хрячниках, а также о некоторых стратегиях их решения. Пожалуйста, имейте в виду, что данный перечень не является исчерпывающим. Для получения рекомендаций по решению других проблем или более подробной консультации, пожалуйста, обратитесь к Вашему Менеджеру по Клиентам PIC или в Техническую Службу PIC.

ПРОБЛЕМА: БОЛЬШОЕ КОЛИЧЕСТВО НЕОБУЧАЕМЫХ ХРЯКОВ

Таблица 1.6 содержит меры воздействия в случае, если через 4 недели у Вас обучены менее 80% хряков или общее количество необученных хряков >5%. Имейте в виду, что могут быть различия между разными генетическими линиями.

ТАБЛИЦА 1.6: НА ЧТО ОБРАТИТЬ ВНИМАНИЕ, И КАКИЕ МЕРЫ ПРИНИМАТЬ ПРИ БОЛЬШОМ КОЛИЧЕСТВЕ НЕОБУЧАЕМЫХ ХРЯКОВ

| ВОЗМОЖНАЯ ПРИЧИНА | ДЕЙСТВИЯ |
|--------------------------|--|
| Недостаточная стимуляция | <ul style="list-style-type: none"> Сажайте на чучело в первую очередь хряков с высоким либидо, чтобы они оставили на нем свой запах; Дайте хряку понаблюдать за сбором других хряков, перед садкой; Переносное чучело может помочь «сымитировать свиноматку» лучше и взаимодействовать с хряком |
| Дискомфорт | <ul style="list-style-type: none"> Правильно настройте высоту чучела (примерно 120° между ногами и животом); Прочно зафиксируйте чучело – оно не должно скользить; Обеспечьте хряку безопасное положение на чучеле – он не должен вращать ногами; |
| График приучения | <ul style="list-style-type: none"> Проведите несколько приучений в первую неделю. Попробуйте приучать в течение 2 дней подряд, с последующим 1 днем отдыха, затем снова 2 дня приучения. |
| Отвлекающие факторы | <ul style="list-style-type: none"> Не выполняйте других процедур (таких как кормление, мойка и др.) во время приучения. |
| Негативные ощущения | <ul style="list-style-type: none"> Не проводите лечение хряков в станке сбора и следите, чтобы полы/чучело не были скользкими, а также за отсутствием других стрессовых факторов |
| Возраст на момент сбора | <ul style="list-style-type: none"> Лучше всего хряки поддаются приучению в возрасте старше 6,5 месяцев в начале приучения; В возрасте старше 9 месяцев, приучать хряком может быть труднее. |

ПРОБЛЕМА: ПОВЫШЕННОЕ КОЛИЧЕСТВО КЛЕТОК С НАРУШЕНИЯМИ

Существует несколько причин, почему в эякулятах хряков наблюдается повышенное количество клеток с нарушениями. Возможные причины и рекомендуемые меры приведены в таблице 1.7. Во многих случаях проблема может быть вызвана несколькими, взаимосвязанными причинами, а не какой-то одной. Общее качество семени, особенно в летний период, может снижаться по причине влияния времени года и температуры. Учитывайте, что влияние таких стрессовых факторов на разные генетические линии и отдельных животных может быть различным.

ТАБЛИЦА 1.7: НА ЧТО ОБРАТИТЬ ВНИМАНИЕ, И КАКИЕ МЕРЫ ПРИНИМАТЬ ПРИ ВЫСОКОМ КОЛИЧЕСТВЕ КЛЕТОК С НАРУШЕНИЯМИ В ЭЯКУЛЯТАХ

| ВОЗМОЖНАЯ ПРИЧИНА | ДЕЙСТВИЯ |
|--|--|
| Температура в зале выше 22°C | <ul style="list-style-type: none"> Установите в зале систему охлаждения или другое оборудование для понижения температуры; Увеличьте уровень вентиляции для улучшения конвекции тепла; Размещайте более чувствительных хряков/породы хряков ближе к охладителям; Проводите сбор, приучение и кормление хряков в более прохладное утреннее время; Давайте хрякам меньшие порции корма, но чаще; Следите за наличием воды у животных; Не вакцинируйте в жаркие летние периоды; По возможности избегайте перевозки хряков в жаркие летние периоды (или делайте это ранним утром/ночью). |
| Повышенная температура тела у животных (жар) | <ul style="list-style-type: none"> Для вакцинации поделите хряков на группы и проводите вакцинации с перерывом 4-6 недель между группами; При повышении температуры тела у животных выше 39°C применяйте жаропонижающие средства (отберите образцы для проверки на инфекцию вирусом РРСС); Если также у животного наблюдается болезненное состояние/хромота, примените лечение на основании рекомендаций ветеринара. |
| Лечение/Вакцинации | <ul style="list-style-type: none"> Смотрите пункт «Повышенная температура тела». |
| Возраст хряка | <ul style="list-style-type: none"> У хряков младше 220-дневного возраста спермопроизводство по-прежнему в стадии развития, поэтому у них может наблюдаться пониженное содержание нормальных клеток. Их можно приучать/собирать, однако рекомендуется не использовать их семя до достижения хряком возраста 220 дней; У хряков старше 3 лет, обычно, наблюдается небольшое увеличение содержания клеток с нарушениями. |
| Микотоксины | <ul style="list-style-type: none"> Проверьте корма на содержание микотоксинов; Чистите кормушки перед кормлением (не допускайте появления плесени); Вводите адсорбенты микотоксинов в корма; Проконсультируйтесь с Вашим нутриционистом по поводу дополнительных действий. |
| Неправильный график сбора | <ul style="list-style-type: none"> Не рекомендуется сбор взрослых хряков <1 и >2 раз в неделю; Не рекомендуется сбор хряков возрастом <12 месяцев >1 раза в неделю; Проводите сбор хряков каждые 7 дней минимум. |
| Хромота/болезненное состояние | <ul style="list-style-type: none"> Примените лечение на основании рекомендаций ветеринара и не проводите сбор хряка до полного выздоровления. |
| Патологии семенников (травмы, повреждения, сильная асимметрия, воспаление,...) | <ul style="list-style-type: none"> Обратитесь к Вашему ветеринару по поводу лечения. Если повреждения значительные и качество семени восстановить не удастся – проводите выбраковку хряка. |

ПРОБЛЕМА: ПОВЫШЕННОЕ КОЛИЧЕСТВО ЖИВОТНЫХ С ХРОМОТОЙ ИЛИ С ТРЕЩИНАМИ В КОПЫТАХ

Хромота или трещины в копытах могут появляться по разным причинам. Наиболее частые причины их появления, а также рекомендуемы действия, приводятся в Таблице 1.8.

ТАБЛИЦА 1.8: ПРИЧИНЫ ПОЯВЛЕНИЯ ХРОМОТЫ/ТРЕЩИН В КОПЫТАХ И РЕКОМЕНДУЕМЫЕ ДЕЙСТВИЯ

| ВОЗМОЖНАЯ ПРИЧИНА | ДЕЙСТВИЯ |
|--|--|
| Суставная инфекция, физическое повреждение | <ul style="list-style-type: none"> • Примените лечение (антибиотики и противовоспалительные препараты) на основании рекомендаций Вашего ветеринара; • Не проводите сбор хряка до полного выздоровления. |
| Высокая влажность/размягчение копыта | <ul style="list-style-type: none"> • Обратите внимание на состояние пола. Увеличьте уровень вентиляции для улучшение высыхания полов. |
| Несоответствующее качество полов/острые края | <ul style="list-style-type: none"> • Проверьте зоны содержания животных по следующим пунктам: <ul style="list-style-type: none"> • Полы не должны быть слишком шершавыми/иметь острые края (особенно в новых корпусах); • Проверьте металлические кормушки на наличие острых краев; • Проверьте станки/ограждения на наличие острых краев/выступающих частей; • Проверьте соединение чучела с полом (шурупы) |

ПРОБЛЕМА: ВЫСОКИЙ УРОВЕНЬ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ОБСЕМЕНЕННОСТИ ЭЯКУЛЯТОВ

Если микробиологические исследования доз семени показывают, что потенциальным местом их контаминации является зал содержания животных, проведите тщательную проверку, используя информацию из Таблицы 1.9.

ТАБЛИЦА 1.9: ПРИЧИНЫ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ОБСЕМЕНЕННОСТИ ЭЯКУЛЯТОВ И РЕКОМЕНДУЕМЫЕ ДЕЙСТВИЯ

| ВОЗМОЖНАЯ ПРИЧИНА | ДЕЙСТВИЯ |
|---|--|
| Высокий уровень бактериального загрязнения на поверхности хряка, по причине грязи в зоне содержания | <ul style="list-style-type: none"> • В зоне содержания хряков должны поддерживаться чистота и сухость за счет более частой смены подстилки, увеличения воздухообмена на уровне пола, регулировки nipple-поилок, чтобы вода из них не брызгала на пол; • Сократите интервал между уборками в зоне содержания животных; • Перед сбором семени проводите чистку живота/препуция хряков с помощью бумажного полотенца. |
| Высокая бактериальная загрязненность зоны сбора семени | <ul style="list-style-type: none"> • Мойте и дезинфицируйте чучело и зону сбора семени в конце каждого рабочего дня, уделяя особое внимание нижней части чучела; • Используйте станок разогрева в качестве места, где хряк должен опорожниться (мочеиспускание и дефекация) перед заходом в зону сбора семени; • Очистку препуциального мешка проводите в зоне разогрева; • Удаляйте фекалии с помощью лопаты из зоны сбора семени между сборами |
| Загрязненные материалы | <ul style="list-style-type: none"> • Храните перчатки для сбора семени, кружки и фильтры в чистом и сухом месте до момента сбора; • Не ставьте кружку для сбора семени на пол; • Не дотрагивайтесь до фильтра/внутренней части пакета для семени руками |
| Контаминация по причине не соблюдения методики сбора семени | <ul style="list-style-type: none"> • Смотрите инструкции данного раздела в главе «сбор семени» и «гигиена» |
| Неправильный выбор моющего средства/дезинфектанта или неправильное его применение | <ul style="list-style-type: none"> • Выбранные средства должны быть эффективны против бактериальной флоры, являющейся причиной контаминации; • Используйте выбранные средства в соответствии с рекомендациями производителя |

УПРАВЛЕНИЕ КАЧЕСТВОМ РАБОТЫ ЛАБОРАТОРИИ



В данном разделе рассматриваются методы работы, позволяющие принимать в обработку только семя надлежащего качества, а также подробно описываются наилучшие способы обработки семени и поддержания гигиены в лаборатории.

ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Основной задачей любой лаборатории ИО является производство доз семени стабильно хорошего качества, которые будут способны осеменить свиноматку. Целью обработки эякулятов в лаборатории является эффективная их оценка для определения того, отвечают ли они установленным стандартам качества, как указано в Таблице 2.1, а также производство доз семени, отвечающих требованиям самой лаборатории, а также клиента.

ТАБЛИЦА 2.1: ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОГРАММЫ УПРАВЛЕНИЯ ЛАБОРАТОРИЕЙ

| ПАРАМЕТР | ЦЕЛЬ | УРОВЕНЬ ВМЕШАТЕЛЬСТВА |
|--|----------------------------|-------------------------|
| Стабильное количество клеток в одной дозе ИО | отклонение $\leq \pm 5\%$ | отклонение $> \pm 10\%$ |
| Стабильный объем дозы ИО | отклонение $\leq \pm 1$ мл | отклонение $> \pm 2$ мл |
| Минимальная подвижность дозы ИО на дату окончания срока годности | $\geq 70\%$ | $< 60\%$ |
| Минимальная поступательная подвижность дозы ИО на дату окончания срока годности | $\geq 60\%$ | $< 50\%$ |
| Максимальное количество клеток с нарушениями в дозе ИО (первичные и вторичные дефекты) | $\leq 30\%$ | $> 30\%$ |
| Максимальный объем только цитоплазменных капель | $\leq 20\%$ | $> 20\%$ |
| Количество бактерий в дозе ИО | < 1 КОЕ/мл | > 1 КОЕ/мл |

УСТРОЙСТВО ЛАБОРАТОРИИ

Правильная организация работы лаборатории, как описывается в Таблице 2.2, является основой эффективного производства доз семени высокого качества. От устройства лаборатории зависят гигиена производства и эффективность выстраивания производственного процесса. Обустройство конкретной лаборатории часто зависит от условий и ситуации на конкретном хрячнике (место, количество персонала и т.д.), где эта лаборатория будет работать.

ТАБЛИЦА 2.2: ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ И ЦЕЛИ ПРИ УСТРОЙСТВЕ ЛАБОРАТОРИИ ИО

| ПРИНЦИП | ОБЪЯСНЕНИЕ |
|---|--|
| <p>Разделение производственной лаборатории и:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Чистая комната (лаборатория мокрой химии) • Комната хранения расходных материалов • Комната (холодная) хранения семени • Офис • Столовая • Санузлы • Подсобно-технические помещения (водо-, электроснабжение, компрессорная и т.д.) | <p>Единственное назначение производственной лаборатории – это оценка и переработка семени. Лаборатория обустраивается таким образом, чтобы в ней легко можно было проводить мойку и дезинфекцию. Для предотвращения загрязнения разбавленного семени, все другие операции требуют наличия помещений, отдельных от производственной зоны.</p> |
| <p>Располагайте в лаборатории только принадлежности/оборудование, необходимое для производства доз семени</p> | <p>Чем меньше принадлежностей или оборудования, тем легче мыть лабораторию</p> |
| <p>Располагайте рабочие зоны рядом друг с другом</p> | <p>Позволяет ускорить процесс обработки семени</p> |
| <p>Линейная организация рабочего процесса</p> | <p>Отсутствие пересечения путей обработки между «грязной» (приемка эякулятов, оценка) и «чистой» зонами для исключения контаминации.</p> |
| <p>Регулярно меняйте фильтры кондиционера воздуха.</p> | <p>Уменьшает распространение грязи/бактерий по воздуху.</p> |
| <p>Мебель в лаборатории подвижная (на колесиках)/с открытым пространством над полом</p> | <p>Есть возможность мойки под оборудованием</p> |
| <p>Старайтесь не располагать тумбочки для хранения расходных материалов в производственной лаборатории. Используйте мобильные корзины с расходными материалами.</p> | <p>Тумбочки также нужно регулярно мыть, а это часто не делается.</p> |
| <p>Все поверхности (потолок, стены, пол, столешницы, мебель) должны быть сделаны из подходящих материалов и созданы для удобства очистки и совместимости с дезинфекцией.</p> | <p>Облегчает процесс мойки и дезинфекции</p> |
| <p>Обеспечивайте пространство между проводами/трубками и стенами/полом</p> | <p>Облегчает доступ для мойки</p> |
| <p>Отсутствие 90° углов между полом и стенами</p> | <p>Облегчает мойку</p> |
| <p>Покрытие пола без швов и водостоков</p> | <p>Облегчает мойку и позволяет избежать накопления грязи и бактерий</p> |
| <p>Располагайте электрические розетки над зоной оборудования</p> | <p>Облегчает процесс мойки за счет отсутствия проводов на полу или стенах или на горизонтальных поверхностях</p> |
| <p>Разделяйте помещения хранения готовых доз семени и расходных материалов для лаборатории.</p> | <p>Облегчает процесс мойки</p> |

ПОДДЕРЖАНИЕ ГИГИЕНЫ В ЛАБОРАТОРИИ

Кроме вышеупомянутых правил устройства лаборатории, существует много других правил, соблюдение которых помогает снизить бактериальную и перекрестную контаминацию во время обработки семени:

- Входите в лабораторию только после смены одежды (лабораторный халат, штаны и обувь, сеточка для волос/бороды).
- Примите за обязательное правило мойку и дезинфекцию рук перед входом в лабораторию (Рис. 2).
- Отсутствие еды и напитков в лаборатории (их можно употреблять в помещении столовой).
- Мойте и дезинфицируйте руки после еды и после посещения уборной.
- Если Вы используете передаточное окно для семени – никогда не открывайте его с двух сторон одновременно.
- Не храните посторонние предметы в передаточном окне.
- Из зоны с животными в лабораторию не должно попадать ничего кроме эякулятов (в пластиковых пакетах или в схожей таре).
- В случае, если сотруднику необходимо перейти из зоны содержания животных в лабораторию в пределах одного дня (нежелательно), должен быть предусмотрен обязательный прием душа со сменой одежды.
- Снимайте внешнюю упаковку с поставляемых материалов (по возможности), перед их поступлением в лабораторию.
- Не трогайте голыми руками ничего, что контактирует с семенем/разбавителем.
- Вставляйте в кружку для сбора семени одноразовый пакет, куда будет собираться эякулят/семя. Это снизит риск перекрестной контаминации и уменьшит потребность в мойке оборудования.
- Незамедлительно удаляйте разлитый эякулят/разбавитель с поверхности стола бумажным полотенцем/салфеткой и дезинфицируйте поверхность салфетками, пропитанными спиртом.
- Используйте фильтрацию подаваемого под давлением воздуха (т.е. в пневматических системах, машинах для заполнения/фасовки семени).
- Выливайте забракованное семя и остатки разбавителя после окончания производства в туалет или в место утилизации за пределами производственной лаборатории или в раковину, которая используется только для мойки.
- Проводите санитарную обработку рук между обработкой разных эякулятов или каждый раз, когда существует возможность контаминации.
- Проводите регулярную уборку в лаборатории, как описано в Разделе III, главы «Мойка и Дезинфекция».

РИСУНОК 2.1: ИНСТРУКЦИИ ДЛЯ ПРАВИЛЬНОГО МЫТЬЯ РУК



ОЦЕНКА СЕМЕНИ

Основой производства доз семени для ИО является подсчет количества клеток сперматозоидов в эякуляте, а также оценка семени по двум ключевым параметрам – подвижность семени и морфология клеток. Только эякуляты, отвечающие установленным минимальным стандартным критериям, представленным в Таблице 2.3, должны поступать в обработку. Эякуляты, не отвечающие минимальным стандартам, должны утилизироваться.

ТАБЛИЦА 2.3: ПОРОГОВЫЕ ЗНАЧЕНИЯ ОЦЕНКИ СЕМЕНИ

| ПАРАМЕТР СЕМЕНИ | НОРМАЛЬНОЕ ЗНАЧЕНИЕ | МИНИМАЛЬНОЕ ЗНАЧЕНИЕ |
|---|--------------------------|--|
| Внешний вид | Молочно-кремовый | |
| Цвет | От серо-белого до белого | |
| Объем | 100-500 мл | ≤ 50 мл |
| Общее количество спермиев | 20-120 миллиардов | > 15 миллиардов |
| Количество подвижных сперматозоидов (сырой эякулят) ¹ | 80-95% | Соответствие минимальным требованиям по подвижности на дату истечения срока годности |
| Количество сперматозоидов с прогрессивной (сырой эякулят) ¹ | 60-90% | Соответствие минимальным требованиям по подвижности на дату истечения срока годности |
| Агглютинация | 0-10% | ≤ 30% |
| Спермии с нарушениями (первичные и вторичные дефекты) | 10-15% | ≤ 30% |
| Цитоплазменные капли (как часть клеток с нарушениями) | 5-10% | ≤ 20% |
| Максимальная потеря подвижности/24 часа | 2,5 – 3,0% | ≤ 3% |
| Максимальная потеря прогрессивной подвижности/24 часа | 2,5 – 3,0% | ≤ 3% |
| Количество подвижных сперматозоидов на дату истечения срока годности | | ≥ 70% |
| Количество сперматозоидов с прогрессивной подвижностью на дату истечения срока годности | | ≥ 60% |

¹ Результаты измерений могут варьироваться в зависимости от используемой системы CASA

ТАБЛИЦА 2.4: МАКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СЕМЕНИ

| ФАКТОР | НОРМА | НАРУШЕНИЕ |
|--------------|--------------------------------|---|
| Цвет | Белый, серо-белый, желто-белый | Красный или коричневый (во всех сочетаниях) |
| Консистенция | Кремовая, молочная | Водянистая, с хлопьями |
| Примеси | Отсутствуют | Кровь, гной, моча, фекалии, другое |
| Запах | Нейтральный | Мочи, фекалий, гнилостный |

ИЗМЕРЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ СЕМЕНИ/ПОДСЧЕТ ОБЩЕГО КОЛИЧЕСТВА СПЕРМИЕВ

Для подсчета концентрации спермиев в эякуляте применяются различные методы. Требования точного измерения концентрации спермиев с помощью различных приборов перечислены в Таблице 2.5. Умножение концентрации спермиев на объем эякулята (измеренный в масштабе; 000,0 г) дает общее количество спермиев в эякуляте.

Наиболее часто используемыми устройствами для измерения концентрации на хрячниках являются приборы компьютерного анализа семени (CASA) и фотометры (т.е. спектрофотометры).

Измерения обычно проводятся на сыром или предварительно разбавленном эякуляте (в зависимости от устройства или протокола лаборатории).

ТАБЛИЦА 2.5: ТРЕБОВАНИЯ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ТОЧНЫХ ИЗМЕРЕНИЙ С ПОМОЩЬЮ УСТРОЙСТВ CASA И ФОТОМЕТРОВ

| ФОТОМЕТР | CASA |
|--|---|
| ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦА | |
| Отсутствие ненормального цвета/очистки образца | |
| Правильное и тщательное смешивание эякулята перед взятием образца | |
| Точное взятие образца пипеткой. Использование системы автоматического пипетирования в качестве альтернативы. | |
| В зависимости от системы требуется разбавление образца эякулята перед проведением измерения. Точность выполнения данного шага оказывает большое влияние на результаты измерений. | |
| Смешайте образец в кювете, аккуратно переворачивая его 5 раз (используйте колпачок или пленку парафильм для закупорки кюветы, а не палец, чтобы избежать контаминации образца) | Заполнение стандартной счетной камеры (в соответствии с инструкциями производителя). Избегайте недостаточного или чрезмерного заполнения. |
| ИЗМЕРЕНИЕ | |
| Каждая серия измерений должна начинаться с 0-вой калибровки устройства (в соответствии с указаниями производителя. Обычно это делается с использованием 0,90% раствора NaCl) | <ul style="list-style-type: none"> Правильные программные настройки (вид животных, разбавление образца, тип счетной камеры, граничные значения подвижности и т.д.) Подтверждение всех настроек перед использованием |
| Старайтесь не дотрагиваться до области/поля измерений кюветы/камеры | |
| Проверяйте настройки света и контрастности | |
| Проводите измерения сразу же после подготовки образца | |
| УЧИТЫВАЙТЕ СЛЕДУЮЩЕЕ: | |
| Пузырьки воздуха в образце или грязная/поцарапанная кювета могут привести к искажению измерений. | Измерительные камеры должны быть чистыми – не содержать пыли, грязи, влаги или плесени |
| В кюветном отделении не должно быть посторонних предметов | |
| Фотометры обычно имеют сигмоидную кривую поглощения света. Измерения являются надежными только в верхней части кривой. | Минимально должно насчитываться 400-600 клеток (в зависимости от камеры и производителя CASA). |
| Регулярное обслуживание и калибровка (минимум 2 раза в год) устройства по стандартным образцам (в соответствии с инструкциями производителя) | Регулярное обслуживание (минимум 1 раз в год) квалифицированным специалистом. |

ОЦЕНКА ПОДВИЖНОСТИ СПЕРМАТОЗОИДОВ

Оценка подвижности сперматозоидов является важным этапом контроля качества исходных эякулятов в целом. Все требования к хорошему измерению подвижности приведены в Таблице 2.6. Только эякуляты с минимальной подвижностью 70% или более рекомендуется использовать для дальнейшей оценки и обработки. Оценка подвижности осуществляется с помощью микроскопа с фазированным контрастом и подогреваемым (38°C) предметным столиком. Анализ может проводиться в ручном режиме или с помощью системы CASA.

ТАБЛИЦА 2.6: ТРЕБОВАНИЯ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ КАЧЕСТВЕННЫХ ИЗМЕРЕНИЙ ПОДВИЖНОСТИ

| ОЦЕНКА СПЕЦИАЛИСТА | ИЗМЕРЕНИЕ С ПОМОЩЬЮ ОБОРУДОВАНИЯ CASA |
|--|---|
| ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦА | |
| <ul style="list-style-type: none"> • Подогрейте все оборудование (предметные стекла и столик микроскопа и т.д.) до 38°C • Все расходные материалы (предметные и покровные стекла, наконечники пипеток, счетные камеры и т.д.) новые и не бывшие в употреблении; Не мойте и не используйте такие материалы повторно | |
| Тщательное смешивание эякулята перед подготовкой образца | |
| Используйте предварительно подогретые предметные и покровные стекла | Используйте предварительно подогретые счетные камеры/предметные стекла для микроскопа |
| <ul style="list-style-type: none"> • Наберите 5-15 мкл необработанного эякулята • Если концентрация высока (>500x10⁶ клеток/мл) можно разбавить одной каплей разбавителя или 0,9% NaCl | <ul style="list-style-type: none"> • Разбавление образца подогретым разбавителем для получения оптимальной концентрации для измерения (в соответствии с инструкцией пользователя оборудования CASA) • Разбавление проводится в подогретой пробирке. Приготовленный образец должен перемешиваться (Vortex) перед анализом. |
| | Используйте микропипетку с тонким наконечником для загрузки измерительной камеры. Объем загрузки должен быть на ± 0.5 мкл больше фактического объема измерительной камеры. Объемы измерительных камер зависят от производителя оборудования (камера MOFA®: ≈2.2 мкл; камера Leja® ≈ 3 мкл). |
| ИЗМЕРЕНИЕ | |
| Измерения проводятся сразу же после помещения с помощью пипетки на предметное стекло или в камеру CASA | |
| Анализ минимум 5 разных полей при увеличении 200-400x и фазовым контрастом. | Правильные настройки программы (вид, процент разбавления образца, тип измерительной камеры и т.д.). |
| Анализ в центральной области покровного стекла. | Проверьте настройки света и контрастности |
| Анализ нового образца, если подвижность в поле зрения имеет значительную неравномерность | Измерительные камеры должны быть чистыми – не содержать пыли, грязи, влаги или плесени |
| Анализ в масштабе 0-100% | Если измерительные поля выбираются вручную, то выбранные поля зрения должны находиться в середине камеры. |

ОЦЕНКА АГГЛЮТИНАЦИИ

Оценка агглютинации может проводиться одновременно с оценкой подвижности/морфологии. Большинство андрологических лабораторий используют категории, описанные в Таблице 2.7, где эякуляты с оценкой 3 не рекомендуются для передачи в обработку. Разбавление оцениваемого образца может помочь снизить агглютинацию.

ТАБЛИЦА 2.7: ОЦЕНКА АГГЛЮТИНАЦИИ В ЭЯКУЛЯТЕ

| ОЦЕНКА | ОПИСАНИЕ (ПРОЦЕНТ ПОКАЗЫВАЕТ ДОЛЮ АГГЛЮТИНИРОВАННЫХ КЛЕТОК В ПОЛЕ НАБЛЮДЕНИЯ) |
|--------|--|
| 0 | Отсутствует |
| 1 | Легкая (<10%) |
| 2 | Умеренная (10-30%) |
| 3 | Сильная (>30%) |

ОЦЕНКА МОРФОЛОГИИ СПЕРМАТОЗОИДОВ

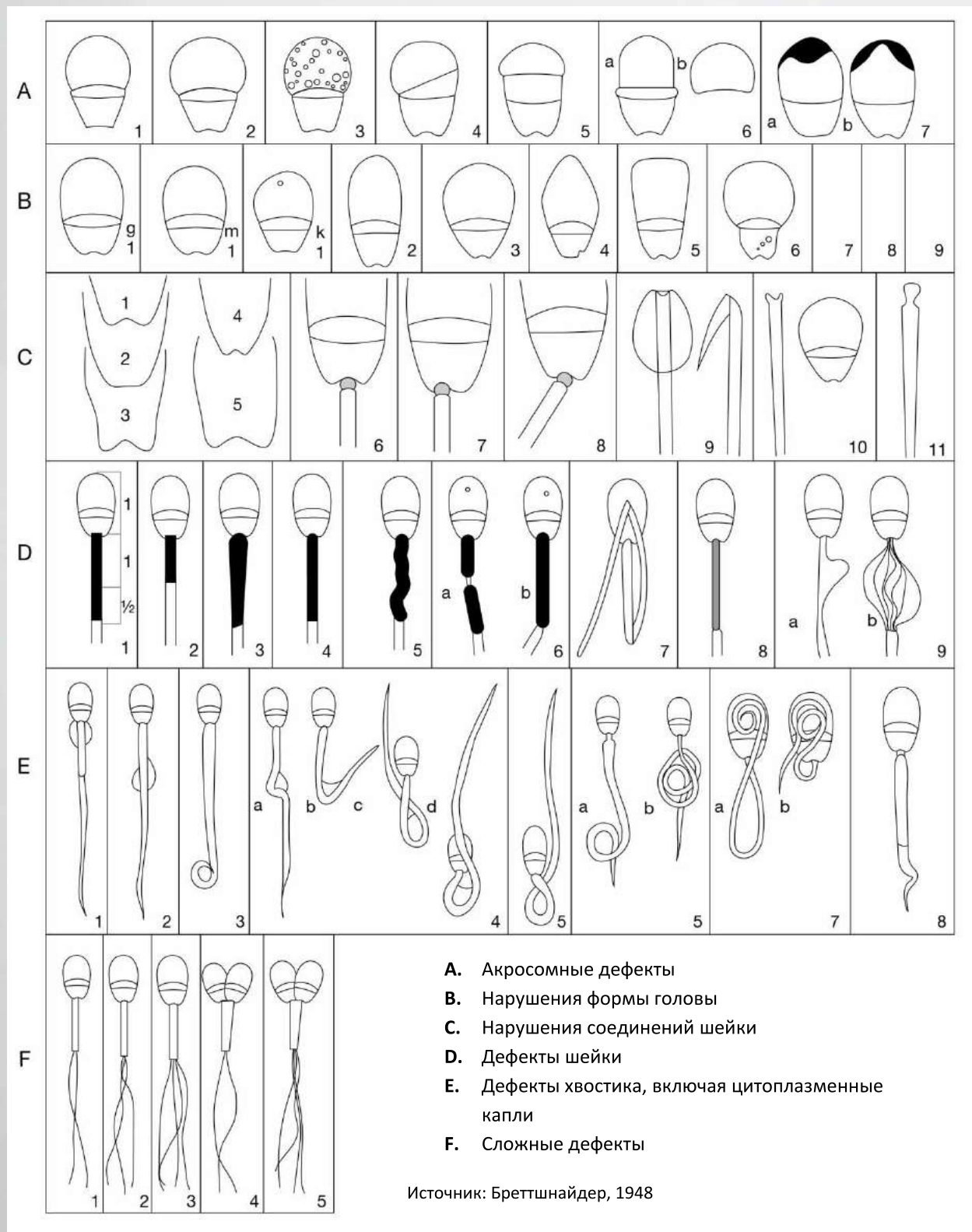
Оценка морфологии может проводиться с помощью систем CASA с автоморфологией или вручную с помощью методов микроскопии. Точность результатов зависит от количества исследуемых клеток. В примере, приведенном в Таблице 2.8, показывается как минимальное и максимальное количество подсчитанных клеток с нарушениями зависит от общего количества наблюдаемых клеток. В целом, можно сказать, что чем больше клеток можно подсчитать, тем ближе будет результат к реальному значению. Данная зависимость приобретает высокую важность по мере приближения результатов оценки к минимальным пороговым значениям (смотрите выделенную зону в таблице).

ТАБЛИЦА 2.8: ТОЧНОСТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ ОЦЕНКИ МОРФОЛОГИИ СПЕРМАТОЗОИДОВ

| ПОДСЧИТАНО КЛЕТОК % НАРУШЕНИЙ | 100 | | 200 | | 500 | |
|----------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | MIN | MAX | MIN | MAX | MIN | MAX |
| 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 |

Важно сказать, что автоматическая оценка морфологии с помощью систем CASA зависит от настроек аппарата и его способности выявлять различные аномалии. Большинство систем CASA способны выявлять цитоплазменные капли, погнутые/кольцеобразные хвостики, но не акросомные нарушения или нарушения формы головы. На рисунке 2.2 представлены различные аномалии сперматозоидов.

РИСУНОК 2.2: ВОЗМОЖНЫЕ АНОМАЛИИ СПЕРМАТОЗОИДОВ



В каждодневной работе хрячника не требуется дифференцировать все приводимые аномалии. С целью упрощения можно использовать Таблицу 2.9, для ведения примечаний по эякулятам, оценка которых проводится вручную.

ТАБЛИЦА 2.9: УПРОЩЕННАЯ ТАБЛИЦА ОЦЕНКИ МОРФОЛОГИИ

| МОРФОЛОГИЯ | КОЛИЧЕСТВО | % ОТ ОБЩЕГО КОЛИЧЕСТВА |
|-------------------------------------|------------|------------------------|
| Нормальные клетки | | |
| Дефекты головы (включая акросомы) | | |
| Цитоплазменные капли(прок. и дист.) | | |
| Дефекты хвостика | | |
| Другие дефекты | | |

ПОДГОТОВКА ФИКСИРОВАННЫХ/ОКРАШЕННЫХ ОБРАЗЦОВ

Существует два метода подготовки образцов для оценки клеток с нарушениями: неокрашенная влажная подготовка и окрашенная сухая подготовка. Оба метода имеют преимущества и недостатки, которые описаны в Таблице 2.10 ниже.

ТАБЛИЦА 2.10: СРАВНЕНИЕ НЕОКРАШЕННОЙ ВЛАЖНОЙ ПОДГОТОВКИ И ОКРАШЕННЫХ МАЗКОВ

| НЕОКРАШЕННАЯ ВЛАЖНАЯ ПОДГОТОВКА | ОКРАШЕННЫЙ МАЗОК |
|--|---|
| Быстрота и простота выполнения | Хорошая контрастность для выявления нарушений в клетках |
| Клетки находятся в плавающем состоянии → дифференциация «реальных» цитоплазматических капель и свободно плавающих капель | Немного более сложная/длительная подготовка образца |
| Клетки двигаются → проводить оценку труднее | Оценивать клетки проще, т.к. они зафиксированы |
| Нет возможности хранить стекла с зафиксированными клетками | Возможность хранить стекла с зафиксированными клетками |
| Возможность хранить образцы зафиксированного семени в пробирках | |

НЕОКРАШЕННАЯ ВЛАЖНАЯ ПОДГОТОВКА

Метод неокрашенной влажной подготовки подходит для исследования с помощью фазового контраста или дифференциально-интерференционного контраста (ДИК). Сперматозоиды можно изучать в любой прозрачной среде. Подвижность можно остановить путем добавления 10 мкл 1,5%-ного раствора формальдегида¹ в 1 мл суспензии (сырой) сперматозоидов (для разбавленных эякулятов используйте 500 мкл. Поместите маленькую каплю (например, 5 мкл) на предметное стекло и накройте ее большим покровным стеклом (например, 22x40 мм). Сформировавшийся тонкий монослой, будет означать, что сперматозоиды будут находиться в одной фокальной плоскости и меньше двигаться, чем в толстом слое. При использовании масляной иммерсии, некоторое давление передается через масло на покровное стекло при фокусировании. Если слой суспензии сперматозоидов толстый, сперматозоиды будут выталкиваться из области наблюдения.

¹Формальдегид должен использоваться только ветеринарами или после специального обучения по безопасности труда при работе с данным химикатом.

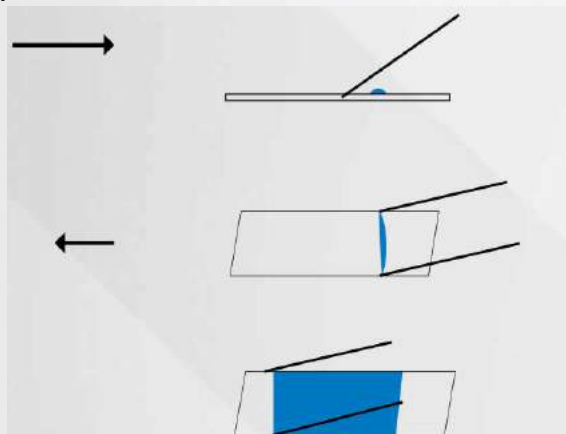
ОКРАШЕННАЯ ПОДГОТОВКА

Для метода окрашенной подготовки используются только плоские предметные стекла. Предметные стекла и красящий раствор должны быть комнатной температуры. Поместите 1 каплю неразбавленного семени и 2 капли красящего раствора (чаще всего используется эозин-нигрозин) на предметное стекло. Плавно смешайте капли краем второго предметного стекла. Краем или углом стекла переместите небольшое количество фиксированного и окрашенного семени на чистое предметное стекло и разместите его с одной стороны стекла, оставив место для маркировки.

Возьмите другое предметное стекло (распределитель), поместите его короткой стороной в направлении «вниз» от капли. Удерживайте грань в контакте с предметным стеклом и протяните грань назад до тех пор, пока она не коснется капли окрашенного семени. Подождите пока семя распространится по всей длине предметного стекла, а затем протяните распределитель под углом 45° вдоль предметного стекла для получения мазка. Мазок не должен быть очень тонким (это не мазок крови) или слишком толстым (это затруднит оценку дифференциальной окраски).

Всегда проверяйте мазок с помощью объектива малого увеличения сразу же после того, как он высохнет (без дополнительного тепла). Если сперматозоидов слишком много или слишком мало, или слишком много контраста, подготовьте новый мазок. Мазок должен выглядеть равномерным. Каждое поле зрения малого увеличения должно иметь некоторое количество сперматозоидов. Наличие полей зрения малого увеличения с нулевым количеством сперматозоидов или с одним, или двумя сперматозоидами означает, что на таком предметном стекле будет очень трудно найти сперматозоиды при использовании масляной иммерсии. С другой стороны, плотность сперматозоидов не должна быть слишком высокой, чтобы сперматозоиды не перекрывали друг друга. Это сильно затруднит исследование отдельных сперматозоидов.

РИСУНОК 2.3: ИНСТРУКЦИИ ПО ПРИГОТОВЛЕНИЮ МАЗКА



Приготовление и исследование мазков требует практики. Хороший мазок должен отвечать следующим требованиям:

- Достаточное количество клеток в одном поле обзора (миним. 5 при увеличении 1000-кратном увеличении)
- Отсутствие перекрывающихся друг друга клеток
- Достаточно контраста, чтобы можно было разглядеть все детали
- Легкость фокусировки (только один слой клеток)

РУЧНАЯ ОЦЕНКА ОБРАЗЦОВ

Ручная оценка образцов должна проводиться с помощью оптического микроскопа и подвижного столика, при 1000-кратном увеличении и с использованием масляной иммерсии. Требуется практика, чтобы «найти» клетки при таком увеличении. Начинайте фокусировку на сперматозоидах со 100- и 200-кратного увеличения. При переключении с низкого на 1000-кратное увеличение совсем небольшой корректировки достаточно, чтобы клетки попали в фокус. Для оценки процента клеток с нарушениями в эякуляте необходимо подсчитать и провести оценку минимум 100 клеток (а желательнее 2 x 100 клеток). Для начала найдите место на мазке, где клетки не перекрывают друг друга. Начните с верхнего левого угла поля, следуйте воображаемой линии вправо и изучайте каждую клетку на этой линии. Затем, перейдите на одну линию ниже и следуйте по ней справа налево, двигаясь по полю зигзагом. Затем переходите к следующему полю и продолжайте процесс до тех пор, пока не достигните требуемого количества оцененных клеток. Если у клетки имеется более одной аномалии, считайте только наиболее серьезную из них. Наибольший приоритет имеют аномалии головы и акросом, после них идут цитоплазменные капли и дефекты хвостика. При оценке морфологии во время производства семени критическую важность играет фактор времени. В данном случае оценки при увеличении 650 крат без использования масляной иммерсии будет достаточно.

ЧТО НУЖНО УЧИТЫВАТЬ ПРИ РАБОТЕ С CASA СИСТЕМАМИ АВТОМАТИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ МОРФОЛОГИИ

Системы CASA различаются по типам аномалий сперматозоидов, которые они могут выявлять. Большинство из них выявляют цитоплазменные капли (проксимальные и дистальные) и погнутые/закрученные хвостики. Они обычно не выявляют повреждения акросом и формы голов. Учитывайте это, при настройке пороговых значений максимальной доли поврежденных сперматозоидов. Свяжитесь с поставщиком системы CASA для получения более подробной информации по функции автоматической оценки морфологии. Серьезным преимуществом автоматической оценки морфологии является то, что исследование клеток занимает мало времени и расчетные оценки становятся более точными.

УВЕЛИЧЕНИЕ СРОКА ХРАНЕНИЯ СЕМЕНИ

Исходные эякуляты имеют очень ограниченный срок хранения после сбора, поэтому их способность оплодотворять ооциты нуждается в сохранении за счет добавления разбавителя. Обычно разбавители позволяют хранить семя 3-7 дней после сбора. Степень разбавления исходного эякулята (количество получаемых доз семени) зависит от целевого количества клеток в дозе семени. Разбавитель семени можно считать основой любой дозы семени, поэтому он должен приготавливаться со всей тщательностью.

Вода для разбавителя должна быть очищенной (вода ASMA тип 1 или эквивалент) и без бактерий. Ее можно либо производить на месте с помощью системы очистки воды, либо покупать у надежного поставщика. Минимальные требования к качеству воды представлены в разделе III, в таблице 3,5 – 3,6.

Основные действия по приготовлению разбавителя следующие:

- Добавьте требуемое количество очищенной воды в бак.
- После достижения водой нужной температуры (в соответствии с инструкциями производителя; обычно около 35°C), добавьте требуемое количество порошка разбавителя в воду и хорошо перемешайте. Порошок будет растворяться лучше при перемешивании воды.
- Время готовности разбавителя различается у разных продуктов (смотрите инструкции производителя).
- Перед использованием убедитесь, что весь порошок разбавителя растворился в воде.
- Перед использованием разбавителя используйте измеритель проводимости, измеритель минерализации или рефрактометр для проверки соотношения воды и разбавителя (смотрите инструкции в Приложении D).
- Используйте pH-метр для дополнительной проверки готовности разбавителя. Определите требуемое значение по спецификациям производителя.
- После разбавления первого эякулята за день, проверьте подвижность сперматозоидов, она должна находиться в допустимом диапазоне. Повторите эти процедуры через 2 часа после разбавления для повторной проверки качества разбавителя.
- Следите, чтобы все баки, пробирки и трубки, которые контактируют с разбавителем были помыты после каждого разбавления. Более подробную информацию можно найти в разделе III, главы «Мойка и Дезинфекция».

КОЛИЧЕСТВО СПЕРМАТОЗОИДОВ В ДОЗЕ

Количество клеток в дозе варьируется в разных хрячниках и зависит от многих факторов. Здесь невозможно дать общую рекомендацию. Наиболее распространенными в мире являются концентрации 1,5 и 3 миллиарда клеток в дозе 30-100 мл. Концентрация клеток в дозе не должна превышать 60 миллионов клеток на миллиметр, т.к. это может сократить срок хранения дозы.

Существуют 2 разных способа выражения концентрации клеток в дозе:

1. ОБЩЕЕ КОЛИЧЕСТВО КЛЕТОК В ДОЗЕ

Общее количество сперматозоидов в дозе легко подсчитать и проверить через несколько дней после производства дозы, т.к. количество клеток со временем не изменится. Количество доз с заданным общим количеством клеток в дозе, которое можно получить из одного эякулята, можно рассчитать следующим образом:

$$\frac{\text{Объем эякулята (мл)} * \text{Концентрация сперматозоидов (миллион/мл)}}{\text{Заданное количество клеток в дозе (миллион клеток)}}$$

Объем разбавителя (в мл) для разбавления исходного эякулята рассчитывается так:

$$(\text{Требуемое количество доз (см. выше)} * \text{объем дозы (мл)}) - \text{объем эякулята (мл)}$$

2. КОЛИЧЕСТВО ЖИЗНЕСПОСОБНЫХ¹ СПЕРМАТОЗОИДОВ В ДОЗЕ

Заданное количество жизнеспособных сперматозоидов в дозе определяет конкретное количество подвижных клеток с нормальной морфологией в дозе. Обычно существует перекрытие между неподвижными клетками и клетками с морфологическими дефектами. Расчетный комплексный показатель успешно используется для определения количества «нежизнеспособных» клеток (см. формулу ниже). Поскольку мы ожидаем, что только подвижные, нормальные клетки способны оплодотворить ооциты, в таком расчете больше смысла, чем в показателе общего количества сперматозоидов в дозе. Однако контроль количества жизнеспособных клеток в дозе семени труднее осуществлять, поскольку подвижность снижается со временем. Чем позже после производства дозы семени проводится ее проверка, тем меньше в ней будет жизнеспособных клеток. Нет способа определить, какое количество жизнеспособных клеток содержалось в дозе изначально. Количество доз, которое необходимо получить с заданной концентрацией жизнеспособных клеток, рассчитывается следующим образом:

Комплексный показатель = Подвижных клеток (%) * Клетки с нормальной морфологией (%)
Жизнеспособных клеток (в миллионах) = Комплексный показатель * Объем (мл) * Концентрация (М/мл)

Расчеты для количества производимых доз и требуемого объема разбавителя соответствуют тому, что говорилось выше в отношении расчета общего количества клеток.

¹Обратите внимание, что исходное/научное определение «жизнеспособные клетки» отличается от определения, описанного выше, которое установилось в сленге хрячников. Жизнеспособные клетки в научном контексте означает неповрежденные клетки (неповрежденные акросомы и клеточные мембраны).

ПРОЦЕСС РАЗБАВЛЕНИЯ СЕМЕНИ

Наиболее распространены два метода разбавления семени: одно- и двухэтапный. Они различаются температурами разбавителя при смешивании его с исходным семенем. Первые шаги одинаковы для обоих процессов:

- Проведите разбавление исходного эякулята как можно быстрее, но максимум через 15 минут после сбора.
- Первичное разбавление должно проводиться при одинаковой температуре; эякулят и разбавитель должны иметь одинаковую температуру.
- Для смешивания разбавителя и эякулята должна использоваться подходящая, чистая емкость. Лучше всего подходят специальные кувшины или ведерки, внутрь которых вкладывается пластиковый пакет.

1. РАЗБАВЛЕНИЕ В ОДИН ЭТАП

- Полное разбавление эякулята разбавителем при сходной температуре в течение 15 минут после сбора.
- Альтернатива, если 15 минут не представляется возможным: быстро провести предварительное разбавление эякулята разбавителем той же температуры (самое распространенное соотношение эякулят-разбавитель 1:1 – 1:3).
- Быстро провести фасовку семени.
- Охладить до температуры хранения ($17 \pm 2^\circ\text{C}$).

2. РАЗБАВЛЕНИЕ В ДВА ЭТАПА

- Проведите предварительное разбавление эякулята разбавителем той же температуры (самое распространенное соотношение эякулят-разбавитель 1:1 – 1:3).
- Подождите 15-20 минут для выравнивания температуры семени с окружающей температурой.
- Проведите финальное разбавление разбавителем с температурой не ниже комнатной (20°C)
- Быстро расфасуйте семя.
- Охладите до температуры хранения ($17 \pm 2^\circ\text{C}$).

ФАСОВКА СЕМЕНИ

Чаще всего разбавленное семя «разливается» в пластиковые тубы или пакеты с помощью упаковочных машин. Из-за высокой стоимости автоматических упаковочных машин и их низкой пропускной способности мелкие хрячники обычно используют ручную фасовку семени.

Обычно объем дозы семени составляет от 30 до 90 мл, в зависимости от применяемого типа ИО. Для традиционного ИО рекомендуемый минимальный объем дозы составляет 70 мл.

В Таблице 2.11 содержатся наиболее важные моменты, на которые необходимо обращать внимание при фасовке доз семени.

ТАБЛИЦА 2.11: КРИТИЧЕСКИЕ ВАЖНЫЕ ПУНКТЫ ПРИ ФАСОВКЕ СЕМЕНИ

ГИГИЕНА

Храните шланги/пакеты в чистоте и сухости до использования

Следите за тем, чтобы все, что контактирует с разбавленным семенем:

- Было чистым (одноразовым или прошедшим дезинфекцию)
- Не трогалось руками (исключение: руками после дезинфекции)
- Не было токсичным к семени

Шланги, наконечники для шлангов и иглы для фасовки разбавленного семени должны меняться после каждого эякулята/партии семени

Разработайте надлежащие протоколы дезинфекции и стерилизации для шлангов, наконечников и игл.

ОДНОРОДНОСТЬ

- Тщательно перемешивайте семя перед фасовкой
- Если процесс фасовки превышает 10 минут, смешайте семя еще раз, чтобы избежать его осаждения, что будет означать неравномерность количества сперматозоидов в дозах.

ОБЪЕМ УПАКОВКИ

- Проверяйте требуемый объем доз во время процесса фасовки, чтобы контролировать точность фасовки
- При отклонении $> \pm 1$ мл должны проводиться калибровка/обслуживание фасовочной машины

ОБСЛУЖИВАНИЕ

- Мойте и дезинфицируйте фасовочные машины в конце каждого рабочего дня.
- Проводите регулярное обслуживание машин в соответствии с указаниями производителя

ОХЛАЖДЕНИЕ СЕМЕНИ

Для охлаждения и хранения семени перед отправкой клиенту используются холодильные комнаты. Поддерживайте температуру в районе $17 \pm 2^\circ\text{C}$ и используйте перемешивающий вентилятор для циркуляции воздуха. Регистрируйте самую высокую и самую низкую температуру в течение дня в комнате с помощью автоматического регистрационного прибора.

Для перемещения, хранения и охлаждения семени используются полки или тележки из проволоки. Такая конструкция обеспечивает оптимальное движение охлажденного воздуха и более равномерное охлаждение доз семени после разбавления до температуры хранения.

Совместная работа системы охлаждения и правильной циркуляции воздуха внутри холодильной комнаты является ключевым фактором при снижении температуры доз семени до требуемого диапазона, а также в пределах требуемого временного диапазона.

УПАКОВКА И ДОСТАВКА СЕМЕНИ

Целью упаковки семени для транспортировки и доставки является защита доз семени от низких или высоких температур окружающего воздуха, физических воздействий, а также от солнечного света. Целью является поддержание температуры семени на уровне $17 \pm 2^\circ\text{C}$ при отклонении температуры от заданной не превышающем 1°C вплоть до его использования на ферме.

Если семя перевозится собственными курьерами хрячника, наилучшим вариантом будет оборудовать машины доставки подключаемыми климат-боксами, питающимися от автомобильной сети. Такие установки должны иметь возможность охлаждения и нагрева, а также иметь внешний дисплей для контроля внутренней температуры. Перемешивающий вентилятор способствует циркуляции кондиционированного воздуха и создает равномерную температуру внутри всего бокса. При заполнении бокса необходимо оставлять достаточное пространство внутри для циркуляции воздуха. При перевозке семени в таких климат-боксах не требуется использовать специальный изоляционный материал, такой как пенопластовые коробки. Для данного типа транспортировки достаточно будет использовать двойной пластиковый или бумажный пакет (внешний пакет снимается непосредственно перед передачей семени клиенту).

Если семя поставляется с курьерской службой (по почте, UPS®, FEDEX®, и т.д.) или по авиапочте, то обычно нет возможности использовать транспорт с контролем температуры и посылка может подвергаться воздействию сильных перепадов и/или экстремальных значений температур. Помочь уменьшить перепады температуры во время транспортировки могут следующие действия:

- Перед финальной упаковкой семени обеспечьте требуемую температуру хранения.
- Упаковывайте дозы в пенопластовый короб с одинарными толстыми стенками.
- Оборачивайте внутренний короб (при использовании 2 коробов) или сам пенопластовый короб (при использовании 1 короба) в изоляционную фольгу. Фольгу также можно использовать в качестве внутреннего слоя, в который заворачивают сами дозы семени.
- Используйте пакеты с гелем для стабилизации внутреннего пространства в коробе при перевозке, т.к. они добавляют объема и регулируют температуру, снижая ее перепады. Пакеты гелем, имеющие комнатную температуру должны размещаться в непосредственном контакте с дозами семени. Уменьшить влияние высокой окружающей температуры можно с помощью гелиевых хладоэлементов, которые размещаются в свободном пространстве между двумя пенопластовыми коробами (например, при использовании 2 коробов). И наоборот, в условиях низких температур в свободном пространстве короба размещаются теплые гелиевые пакеты.
- Для дополнительной защиты поместите внешний пенопластовый короб в картонную коробку.
- Используйте компактное электронное устройство для регистрации температуры семени при перевозке, которое поможет при устранении ошибок при его упаковке и транспортировке.
- Старайтесь сократить время транспортировки до минимума.

Смотрите более подробные инструкции в Приложении Е.

ХРАНЕНИЕ СЕМЕНИ НА ФЕРМЕ

В идеале посылка с семенем оставляется курьером или коммерческой службой доставки в удаленном от фермы месте, в целях обеспечения биобезопасности, как фермы, так и хрячника. В месте доставки может иметься место хранения, обеспечивающее температуру 17°C, где водитель оставляет короб с семенем. Персонал фермы должен знать о времени доставки семени, чтобы без промедления перевезти его в место конечного хранения, после проведения всех процедур обеззараживания для поступающих материалов (см. Раздел I, Таблица 1.2).

Ключевые пункты правильного хранения семени на ферме перечислены ниже:

- Храните семя при температуре 17±2°C. Не допускайте хранения семени при другой температуре.
- Для хранения используйте холодильник, оборудованный вентилятором и способный охлаждать и нагревать, а также оборудованный устройством защиты от перепада напряжения.
- Для эффективной работы холодильника располагайте его минимум в 2,5 см от стены.
- Используйте открытые в холодильнике полки для хорошей циркуляции воздуха.
- Распаковывайте дозы семени перед размещением в холодильнике.
- Располагайте дозы в горизонтальном положении и на расстоянии друг от друга.
- Ведите учет температуры в холодильнике, а также записывайте фамилию того, кто ежедневного проводит пересчет доз семени.
- Используйте несколько цифровых термометров с внешним дисплеем. Располагайте сенсоры в разных местах в холодильнике (вблизи от охлаждающего/нагревательного элемента, возле двери и в центре).
- По возможности, используйте семя в течение трех дней после его производства и заказывайте новые дозы, исходя из текущего наличия доз.
- Переносите семя в зал осеменения в изолированном контейнере и используйте гелиевые хладоэлементы с температурой 17±2°C.
- Приносите в зал только те дозы, которые будут использоваться в течение 1 часа. Не приносите дозы обратно из зала в холодильник.
- Последние исследования показывают, что в практике переворачивания семени, применявшейся исторически, нет необходимости.

ОБЕСПЕЧЕНИЕ И КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА



В данном разделе представлена информация о том, как использовать, калибровать и обслуживать измерительные приборы, а также их целевые показатели точности. Также здесь содержится информация о процедурах мойки, дезинфекции, а также о программах стороннего мониторинга.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Обеспечение качества (ОК) – это способ предотвращения ошибок, проблем, а также обеспечения уверенности в том, что качественные требования будут выполнены. Предотвращение проблем с качеством (т.е. проактивный процесс) несколько отличается от контроля качества (КК), где целью является выявление продуктов неудовлетворительного качества и применение изменений для улучшения (т.е. реактивный процесс). Если КК в основном предусматривает тестирование готового продукта, ОК занимается тестированием процессов, которые влияют на качество конечного продукта. Мы используем два основных принципа для ОК: «Подходит для конкретной задачи» (продукт должен подходить для выполнения конкретной задачи); и «правильно с первого раза» (ошибки должны устраняться). В данном разделе эти принципы будут обсуждаться применительно к производству доз семени.

ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ И КАЛИБРОВКА ПРИБОРОВ И ОБОРУДОВАНИЯ

На хрячниках используется множество технических приборов. Неисправное оборудование может задержать выполнение дневного производственного плана, а также повлиять на качество продукта, поскольку от работы многих приборов зависит качество эякулята.

Примером может служить использование пипеток или дозаторов для приготовления образца разбавленного эякулята для измерения концентрации сперматозоидов. Если объем отмерян неточно, разбавление будет проведено неправильно и измерение концентрации покажет либо недостаточную, либо чрезмерную концентрацию. Это может привести к производству доз, содержащих недостаточное количество сперматозоидов для оплодотворения.

Чем больше мы полагаемся на оборудование, тем важнее становится использование ежедневных, еженедельных или ежемесячных чек-листов для различного оборудования, а также создание плана проведения калибровок и технического обслуживания. В дополнение к этому важно иметь альтернативный протокол действий на случай поломки оборудования. Пример графика мойки, технического обслуживания и калибровки для ключевого оборудования лаборатории приводится в Таблице 3.1. Для ОК такой график должен быть дополнен конкретными инструкциями для оборудования/устройства о том, как проводить проверку, мойку, техническое обслуживание и когда его необходимо калибровать, а также как это делать.

ТАБЛИЦА 3.1: ГРАФИК ПРОВЕРКИ, МОЙКИ, КАЛИБРОВКИ И ТЕХНИЧЕСКОГО ОБСЛУЖИВАНИЯ

| ГРАФИК ТО/ КАЛИБРОВКИ | ПРОВЕРКА | МОЙКА ¹ | ВНУТРЕННЕЕ ТО ² | ТО и РЕМОНТ ³ | КАЛИБРОВКА ⁴ | КОММЕНТАРИИ |
|---|--------------|--------------------|----------------------------|--------------------------|-------------------------|-----------------------------------|
| Весы | 1 раз в день | 1 раз в день | | 1 раз в год | 1 раз в год | Требуются стандартные весы |
| Ручные пипетки и дозаторы | 1 раз в день | 1 раз в день | 1 раз в месяц | 2 раза в год | 2 раза в год | |
| Автоматический дозатор | 1 раз в день | 1 раз в день | 1 раз в неделю | 1 раз в год | 1 раз в год | По инструкции производителя |
| Спектрофотометр | 1 раз в день | 1 раз в день | 1 раз в квартал | 2 раза в год | | |
| Подогреваемый столик микроскопа | 1 раз в день | 1 раз в день | | | | Требуются калиброванный термометр |
| Нагревательные пластины | 1 раз в день | 1 раз в день | 1 раз в месяц | | | |
| Нагревательные устройства баков для разбавителя | 1 раз в день | 1 раз в день | 1 раз в месяц | | | |
| Нагревательные блоки | 1 раз в день | 1 раз в день | 1 раз в месяц | | | |
| Стерилизатор сухого нагрева | 1 раз в день | 1 раз в день | 1 раз в неделю | | | По инструкции производителя |
| Холодильники и блоки хранения семени | 1 раз в день | 1 раз в месяц | 4 раза в год | | | термометр min-max |
| Термометры | 1 раз в день | 1 раз в день | 1 раз в месяц | Замена | | |
| Измеритель проводимости TDS | 1 раз в день | 1 раз в день | 1 раз в месяц | 2 раза в год | | |
| pH-метр | 1 раз в день | 1 раз в день | 1 раз в месяц | 2 раза в год | | |
| Микроскопы (CASA) | 1 раз в день | 1 раз в день | 1 раз в неделю | 1 раз в год | | |
| Кондиционеры воздуха | 1 раз в день | 1 раз в месяц | 4 раза в год | 2 раза в год | | Меняйте фильтры раз в месяц |

¹Минимально требуется тщательная чистка

²Следуйте инструкциями от производителя и учитывайте интенсивность использования

^{3,4} Минимальная степень калибровки; Дополнительная калибровка требуется, когда оборудование начинает работать с отклонениями

ВЕСЫ

Точность весов относится к способности стабильно показывать результат, который приближен к фактическому значению настолько это возможно. На большинстве хрячников имеется большое количество весов, каждые из которых имеют различные характеристики и возможности для определенного диапазона измерения. Характеристики зависят от того, что нужно взвесить и насколько точные результаты необходимы. В таблице 3.2 перечислены весы, наиболее часто встречающиеся в лабораториях.

ТАБЛИЦА 3.2: ОБЗОР РАЗЛИЧНЫХ ВЕСОВ

| ОБЪЕКТ ИЗМЕРЕНИЯ | ДИАПАЗОН ИЗМЕРЕНИЯ | ТОЧНОСТЬ |
|--|--|-------------------|
| Точность пипеток/дозаторов и техническая воспроизводимость | 0-50 г (аналитические весы/высокоточные весы) ¹ | 0,0001 г / 0,1 мг |
| Вес порошка разбавителя | 0-5 000 г; | 1 г / 1 000 мг |
| Объем эякулята | 0-1 000 г | 1 г |
| Дозирование разбавителя в эякулят | 0-5 000 г; | 1 г / 1 000 мг |
| Объем тубы/пакета | 0-100 г | 0,1 г / 100 мг |
| Вес упаковки | 0-20 кг/0-20 000 г | 0,1 кг / 100 г |

¹Это весы, используемые для проверки точности и воспроизводимости пипеток/дозаторов

Проверяйте все весы перед использованием каждый рабочий день с помощью эталонных грузов. Поместите один или более эталонных грузов, равных весу (диапазону веса) на весах, снимите показания и уберите груз с весов. Проверьте точность. Эту операцию необходимо повторить несколько раз, прежде чем производить производственные измерения. После включения и «прогрева» весов будет достигаться более высокая воспроизводимость.

Весы могут быть очень точными даже при использовании без предварительных тестовых взвешиваний, но за счет процедуры «прогрева» можно получать более точные результаты. Точность можно рассчитать путем проведения 5 – 10 измерений и расчета среднего значения. Относительная (%) разница между средним и стандартным значением веса является точностью.

ПРИМЕР РАСЧЕТА ТОЧНОСТИ ДЛЯ АНАЛИТИЧЕСКИХ/ВЫСОКОТОЧНЫХ ВЕСОВ:

Точность (%) = 100 x ((средний вес – целевой вес)/целевой вес))

Стандартный вес = 2,00 г

Средний вес = 2,02 г

Точность (%) = 100x ((2,02 – 2,00)/2,00)) (%) = 100x ((0,02/2,00)) (%) = 100x ((0,01)) (%) = 1%

В Таблице 3.3 показаны допустимые погрешности для стандартных весов (допустимые отклонения показаний взвешиваний от стандартных весов). Если среднее значение выходит за пределы допустимого отклонения – весы нуждаются в калибровке. В нашем примере весы дают погрешность 1%, тогда как допустимая погрешность (максимальная) составляет 0,06% (см. Таблицу 3.3). Следовательно, весы нуждаются в повторной калибровке. Решение о повторной калибровке принимается в зависимости от того, насколько погрешность весов влияет на конечный продукт.

Например, если проверяете весы (5 кг) для взвешивания разбавителя, допустимая погрешность равняется 0,01%. Т.е., если неточность составляет 0,1% (5 г), то влияние на конечный продукт слишком мало, чтобы принимать его во внимание. Оно будет находиться в пределах допустимого отклонения объема фасовочной машины.

ТАБЛИЦА 3.3: ДОПУСТИМЫЕ ПОГРЕШНОСТИ ПРИ ИЗМЕРЕНИИ ЗНАЧЕНИЙ СТАНДАРТНЫХ ГРУЗОВ

| ВЕС | ПОГРЕШНОСТЬ | ПОГРЕШНОСТЬ (%) | ВЕС | ПОГРЕШНОСТЬ | ПОГРЕШНОСТЬ (%) |
|-------|-------------|-----------------|--------|-------------|-----------------|
| 5 кг | 0,5 г | 0,01% | 2 г | 1,1 мг | 0,06% |
| 3 кг | 0,3 г | 0,01% | 1г | 0,9 мг | 0,09% |
| 2 кг | 0,2 г | 0,01% | 500 мг | 0,72 мг | 0,14% |
| 1 кг | 0,1 г | 0,01% | 300 мг | 0,61 мг | 0,20% |
| 500 г | 70 мг | 0,01% | 200 мг | 0,54 мг | 0,27 % |
| 300 г | 60 мг | 0,02% | 100 мг | 0,43 мг | 0,43% |
| 200 г | 40 мг | 0,02% | 50 мг | 0,35 мг | 0,70% |
| 100 г | 20 мг | 0,02% | 30 мг | 0,3 мг | 1,00% |
| 50 г | 10 мг | 0,02% | 20 мг | 0,26 мг | 1,30% |
| 30 г | 6 мг | 0,02% | 10 мг | 0,21 мг | 2,10% |
| 20 г | 4 мг | 0,02% | 5 мг | 0,17 мг | 3,40% |
| 10 г | 2 мг | 0,02% | 3 мг | 0,14 мг | 4,67% |
| 5 г | 1,5 мг | 0,03% | 2 мг | 0,12 мг | 6,00% |
| 3 г | 1,3 мг | 0,04% | 1 мг | 0,1 мг | 10,00% |

Источник: Государственный институт стандартов и технологии (NIST); Руководство NIST 2003 105-8

КАЛИБРОВКА

Калибровка – это сравнение между результатом весов или балансом и стандартным значением. Для калибровки требуются стандартные грузы и баланс, выставленный в «режим калибровки». В зависимости от весов, вы можете выполнить калибровку самостоятельно (следуя инструкциями в руководстве) или обратиться в специализированную компанию (рекомендуется).

ДОЗИРОВКА С ПОМОЩЬЮ ПИПЕТОК ИЛИ (АВТО) ДОЗАТОРОВ

В большинстве случаев исходное семя требует разбавления перед измерением концентрации или анализом подвижности и морфологии. Ошибка при разбавлении может сильно повлиять на количество клеток в дозе. Используйте вы автодозатор, флакон с верхним дозатором или пипетки, важно проверять точность устройства, прежде чем приступать к ежедневному производству, проверять воспроизводимость конкретного лаборанта, а также проводить сравнительную проверку воспроизводимости между лаборантами на регулярной основе (рекомендуется минимум 1 раз в месяц). Пункты ниже описывают проверку точности дозирования и воспроизводимости:

- Используйте высокоточные/аналитические весы (поверенные стандартными грузами) и проведите 5-10 измерений, прежде чем начинать процедуру.
- Отмерьте требуемый объем (воды) 10 раз пипеткой, меняйте наконечник (если необходимо) перед каждым забором жидкости.
- Регистрируйте результаты в электронной таблице.
- Рассчитайте среднее значение и стандартное отклонение для 10 измерений.
 - Точность (% систематических ошибок) = $100 \times ((\text{средний вес} - \text{целевой вес}) / \text{целевой вес})$.
 - Отклонение (случайная ошибка) выражается как коэффициент вариативности (КВ %) = $100 \times (\text{Измерение стандартного отклонения} / \text{средние измерения})$.
- При интерпретации результатов учитывайте следующее
 - Чем меньше дозируемый объем, тем выше будут ожидаемые систематические и случайные ошибки.
 - Точность будет зависеть от качества, правильного использования и обслуживания пипеток/дозаторов.
 - Воспроизводимость будет зависеть от методов дозирования, качества пипеток/дозаторов и наконечников пипеток (если используются). В Таблице 3.4 показаны максимально допустимые ошибки для точности (систематические ошибки) и для воспроизводимости (случайные ошибки).

ТАБЛИЦА 3.4: ДОПУСТИМЫЕ СИСТЕМАТИЧЕСКИЕ И СЛУЧАЙНЫЕ ОШИБКИ ДЛЯ ДОЗАТОРОВ И ПИПЕТОК

| МАКСИМАЛЬНО ДОПУСТИМЫЕ | | СИСТЕМАТИЧЕСКИЕ ОШИБКИ | | СЛУЧАЙНЫЕ ОШИБКИ | |
|------------------------|------------|------------------------|-------|------------------|-------|
| ОБЪЕМ (мкл) | ОБЪЕМ (мл) | ± % | ± мкл | ± % | ± мкл |
| 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 |
| 20 | 0,02 | 1,0% | 0,2 | 0,5% | 0,1 |
| 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 |
| 10 000 | 10 | 0,6% | 60 | 0,3% | 30 |

Источник: ИСО 8655:2002

СПЕКТРОФОТОМЕТР

Многие хрячники используют спектрофотометр для измерения концентрации сперматозоидов, также известную как плотность эякулята. Концентрация измеряется на основе прохождения света через семя, относительно поглощения света семенем. Поскольку это не прямой метод измерения, точность оборудования необходимо измерить с помощью эталонного оборудования/образцов с проверенной точностью, находящейся в допустимых пределах. Обычно спектрофотометр калибруется с использованием образцов, имеющих разную концентрацию, которые были проверены с использованием эталонного оборудования и эталонных методов.

Обычно спектрофотометр показывает сигмовидную кривую, и проведенные измерения обладают надежностью только на линейной области кривой. Важно знать какие минимальные и максимальные концентрации конкретный спектрофотометр может надежно измерить.

Для ежедневной проверки надежности работы спектрофотометра используйте фиксированные в формалине¹ образцы (как с низкой, так и с высокой плотностью) в качестве эталона. Концентрация сперматозоидов в фиксированном в формалине¹ семени (разбавленном 1:1) остается стабильной при концентрациях от 0,1 М/мл до 100 М/мл на протяжении минимум 5 недель при 4°C (температура в холодильнике).

Отберите образцы из образцов семени, фиксированного в формалине¹, с низкой и с высокой плотностью, измерьте концентрацию с помощью спектрометра и определите точность работы спектрофотометра.

¹Формальдегид должен использоваться только ветеринарами или после специального обучения по безопасности труда при работе с данным химикатом.

Каждый день мойте спектрофотометр и проверяйте как минимум раз в неделю (но, желательно, каждый день). Проводите его техническое обслуживание и ремонт в соответствии с рекомендациями производителя минимум 2 раза в год (предпочтительно раз в квартал). Мы рекомендуем проверять концентрацию нескольких образцов семени раз в месяц в эталонной лаборатории для уверенности в том, что спектрофотометр работает точно.

В эталонных лабораториях обычно используют четыре метода для проверки концентрации образцов семени, произведенных с помощью спектрофотометра (или другого оборудования) на вашем хрячнике:

1. Подсчет клеток с помощью гемоцитометра

Образец загружается в камеру подсчета клеток. Шкала в камере показывает определенный объем. Количество клеток в стандартном количестве линий шкалы подсчитывается, а затем рассчитывается количество клеток в одном мл. Если, например, образец разбавлен в соотношении 1:10 (11х; 1 часть семени + 10 частей разбавителя) и было насчитано 325 клеток в 5 квадратах, то общее количество клеток/мл рассчитывается так:

Общее количество клеток/мл = $(325 \times 11 \times 10\ 000)/5 = 7,15$ миллионов клеток/мл

2. Использование проточного цитометра
Образец подвергается инкубации с флуоресцентной ДНК-пробой млекопитающего, которая связывается с ДНК свиньи. Клетки будут излучать флуоресцентный сигнал, как только ДНК, связанная с пробой, пройдет через машину и будет измерена. Исходя из общей мощности сигнала, подсчитывается количество клеток в образце. Затем рассчитывается концентрация исходного образца с помощью соответствующего фактора разбавления, использованного для приготовления образца для цитометрии. Обычно этот метод очень точен, поскольку это прямое измерение и ведется подсчет большого количества клеток (>50 000). Проточные цитометры не входят в список базового оборудования лабораторий ИО, но их можно найти в профессиональных сторонних андрологических центрах.
3. Использование анализатора Nucleocounter®
Nucleocounter® использует тот же принцип, что и проточный цитометр. Nucleocounter® не так точен, как проточный цитометр, поскольку он подсчитывает меньшее количество клеток (2 000-5 000). Однако поскольку стоимость анализатора Nucleocounter® значительно ниже стоимости проточного цитометра, такие аппараты часто можно найти на хрячниках, где их используют в качестве «внутреннего» эталона для плотности доз.
4. Использование CASA и счетных камер.
Счетные камеры и системы CASA являются стандартным оборудованием для эталонных лабораторий и используются для определения концентрации доз, поступающих с хрячника. Более подробную информацию об использовании систем CASA и счетных камер ищите в разделе II, глава «Оценка семени».

НАГРЕВАТЕЛЬНЫЕ УСТРОЙСТВА И ТЕРМОМЕТРЫ

В производстве семени используется множество устройств, для которых требуется подогрев или нагрев. Это осуществляется с помощью электрических нагревательных элементов в оборудовании, таком как столики микроскопов, баки для разбавителя и подогревательные платформы/блоки. Нагревательный элемент выставляется на определенную температуру, но это не гарантирует того, что достигнутая температура будет равняться установленной. Тепло будет уходить в окружающую среду, если нагревается большая поверхность, а, следовательно, для компенсации может потребоваться корректировка настройки температуры. Также настройка температуры на оборудовании может быть не точной. Следовательно, важно проверять фактическую температуру каждый день с помощью калиброванного термометра.

Многие хрячники используют инфракрасные (т.е. лазерные) термометры, поскольку они быстро работают, практичны в использовании и снижают риск контаминации, в сравнении с традиционными термометрами, которым требуется прямой контакт с объектом или жидкостью для измерения. Однако инфракрасные термометры могут быть менее точными и обладать меньшей воспроизводимостью, чем традиционные термометры – контактные или погружные. Точность и воспроизводимость инфракрасного метода в большой степени зависит от того, как используется устройство, дистанции до объекта/жидкости, угла наклона и окружающей температуры. На хрячнике, где используется инфракрасный термометр необходимо следовать методу использования прибора, описанному в стандартных производственных процедурах. Его работа также должна проверяться с помощью калиброванного термометра.

ИЗМЕРИТЕЛЬ ПРОВОДИМОСТИ/ОБЩЕЙ МИНЕРАЛИЗАЦИИ (TDS) ВОДЫ

Для приготовления разбавителя должна использоваться очищенная вода (вода типа I). Неотъемлемой частью программы ОК хрячника является проверка соотношения объема порошка разбавителя и воды в начале каждого рабочего дня путем измерения проводимости или минерализации. Проведите измерение воды прежде, чем всыпать в нее порошок разбавителя. После этого, тщательно перемешайте и проверьте готовый разбавитель. Поскольку проводимость зависит от температуры, большинство измерителей имеют автоматическую корректировку по этому параметру. Несмотря на это, будет полезно проверить правильную работу измерителя на стандартном растворе, прежде чем выполнять измерение воды и образцов разбавителя.

КАЛИБРОВКА ИЗМЕРИТЕЛЕЙ ПРОВОДИМОСТИ/МИНЕРАЛИЗАЦИИ:

1. Стандартный калибровочный раствор должен иметь одинаковую температуру с раствором, который необходимо измерить, чтобы уменьшить влияние температуры на точность измерения.
2. Налейте достаточное ($\geq 2,5$ см уровня заполнения) количество стандартного калибровочного раствора в чистую и сухую емкость.
3. Снимите защитную крышку с измерителя, под которой находятся электроды из нержавеющей стали.
4. Включите измеритель и опустите электроды в стандартный калибровочный раствор таким образом, чтобы они были полностью погружены в раствор. Чтобы избежать искажения измерений между электродами не должно быть пузырьков воздуха.
5. Не вынимайте электроды из раствора до стабилизации результата измерения.

6. С помощью калибровочных кнопок установите на цифровом табло такое же значение, как и на стандартном калибровочном растворе.
7. Промойте измерительные электроды с помощью раствора, который планируете измерять. Не используйте промывочную часть раствора в качестве тестового образца для снижения контаминации калибровочным раствором. Этот процесс устраняет необходимость сушки электродов. Если Вы находите это непрактичным – промойте электроды дистиллированной водой и промокните насухо чистой салфеткой.

Теперь измеритель откалиброван и готов к измерению минерализации образцов воды и разбавителя. Разные измерители могут иметь разные методы эксплуатации. Тщательно изучите инструкцию производителя перед использованием измерителя.

PH-МЕТР

У каждого измерителя есть свой допустимый диапазон pH. Тщательность смешивания/качество разбавителя должно измеряться калиброванным pH-метром. Обычно калибровка проводится путем измерения набора эталонных образцов, так называемых pH буферов, обладающих точными известными параметрами при разных температурах.

Тестирование может проводиться следующим образом:

ПЕРЕД КАЛИБРОВКОЙ:

Тщательно промойте электроды перед калибровкой. Если электроды были на хранении, убедитесь, что они чистые и готовы к использованию в соответствии с рекомендациями производителя.

ОСНОВНЫЕ ЭТАПЫ ОБЩЕЙ ПРОЦЕДУРЫ КАЛИБРОВКИ PH

1. Включите pH-метр и подождите достаточное время, пока он прогреется (смотрите инструкцию).
2. Выберите два pH буфера, в диапазон которых будет укладываться ожидаемое значение pH Вашего образца (для разбавителей семени хряков pH находится в диапазоне 6,8 – 7,2). Первый образец буфер должен иметь pH 7.00 (установка нуля). Второй буфер должен быть ближе к ожидаемому значению pH.
3. Убедитесь, что сенсор и буферный раствор имеют одинаковую температуру. Если это не так, подождите, пока она выровняется.
4. Налейте требуемое количество буферного раствора в отдельные стеклянные пробирки или мерные стаканы. Буферный раствор будет сохранять стабильность в мерном стакане в течение максимум 2 часов. Не калибруйте электрод непосредственно в контейнере хранения буфера, чтобы уменьшить контаминацию. Держите контейнеры для буфера закрытыми, чтобы избежать абсорбции CO₂. Не выливайте использованный буфер обратно в бутылку, где он хранится.
5. Поместите электрод в первый буфер. Когда показания стабилизируются установите pH-метр на значение pH первого буфера для измеренной температуры. Большинство современных pH-метров имеют функцию «авто-измерение» для быстрого вывода стабильного показания.
6. Между измерениями разных буферов промывайте электрод дистиллированной водой, после чего используйте второй буфер. Либо промывайте электрод дистиллированной водой и аккуратно промокните его безворсовой салфеткой. Старайтесь не тереть и протирать лампу электрода.
7. Повторите шаг 5 для второго буферного раствора.
8. Когда калибровка pH-метра завершена, промойте электрод жидкостью образца, а затем поместите его в образец и проведите измерение pH.

Советы

- Когда pH-метр не используется, храните его электроды в консервирующем растворе; храните зонды измерителя минерализации и проводимости в безопасном упаковочном материале в соответствии с руководством пользователя.
- Используйте руководства ко всем вашим техническим устройствам в качестве справочных материалов.
- Имейте в наличии запасные части для каждой единицы критически важного оборудования.
- Один раз в месяц практикуйте альтернативные методы работы в отношении критически важного оборудования и процедур, чтобы иметь запасной вариант на случай непредвиденных обстоятельств.

КАЧЕСТВО ВОДЫ

Для производства разбавителя семени требуется вода качества тип IA (стандарты ASTM – американское общество по испытанию материалов). В таблице 3.5 представлены химические и микробиологические требования для воды тип IA.

ТАБЛИЦА 3.5: ТРЕБОВАНИЯ ПО КАЧЕСТВУ ВОДЫ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА РАЗБАВИТЕЛЯ:

| ХИМИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ | ТИП I |
|---|--------------|
| Сопротивление (МОм-см) при 25°C | >18 |
| Электропроводность (мкСм/см) | <0,056 |
| Общее содержание органического углерода (мкг/л) | <50 |
| Натрий (мкг/л) | <1 |
| Хлорид (мкг/л) | <1 |
| Общее содержание окиси кремния (мкг/л) | <3 |
| МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ | ТИП A |
| Содержание гетеротрофных бактерий (КОЕ/мл) | <1 |
| Эндотоксин (единиц в мл) | <0,03 |

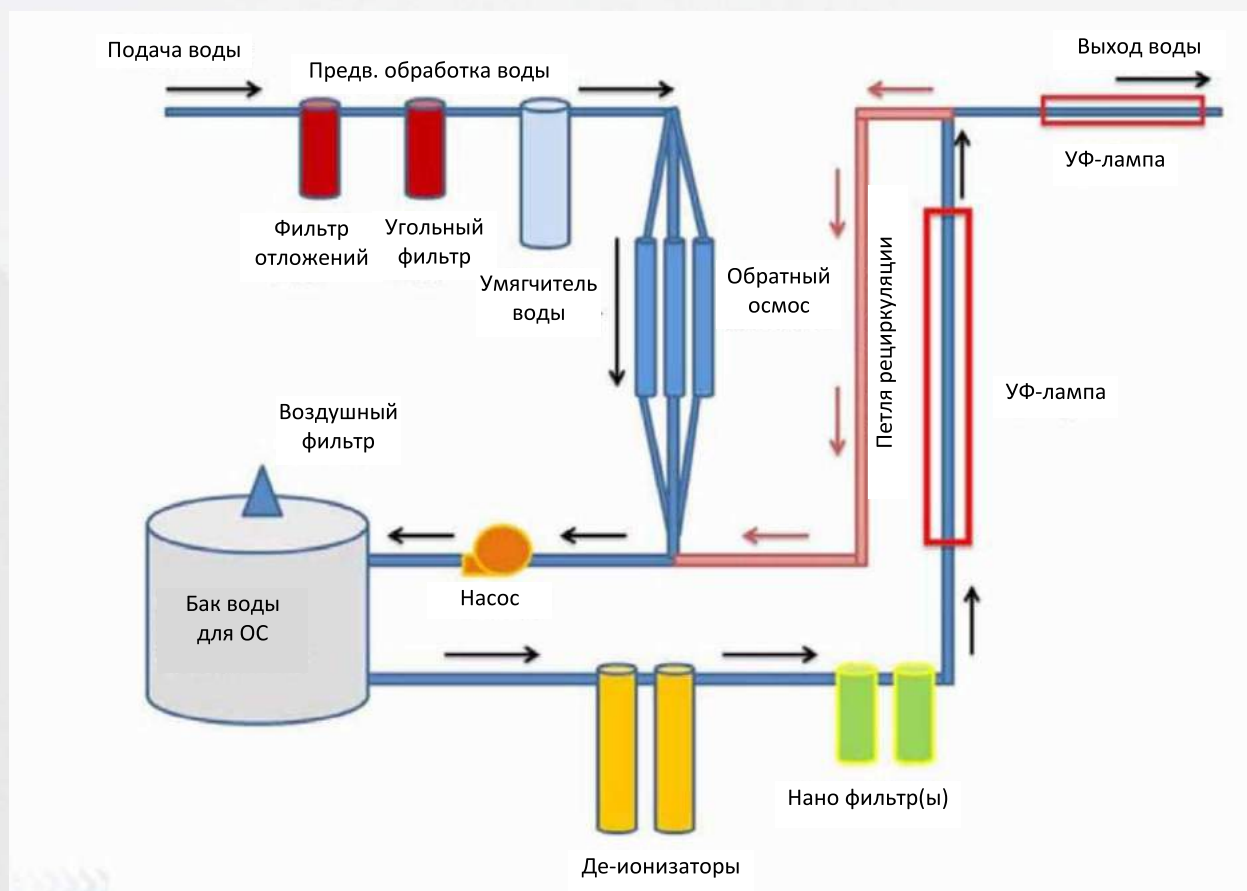
СИСТЕМА ОЧИСТКИ ВОДЫ

Выбор системы очистки воды часто определяется такими факторами, как возврат инвестиций, качество местной воды, оценки риска, наличие поставщиков и доступность обслуживания/запчастей.

В целом, выбор должен делаться исходя из качества системы, доступности обслуживания, требуемой мощности (производительность литров воды в час) и простоте использования, включая простоту дезинфекции. При установке системы очистки воды необходимо соблюдать несколько принципов:

- Предотвращение формирования биопленки:
 - Избегайте мертвых зон. Установите петлю рециркуляции для непрерывного движения воды
 - Используйте гибкие шланги/трубы для уменьшения количества углов
 - Ограничьте количество соединителей и клапанов
 - Установите конический бак для воды
- Дистанция от системы очистки до наливного крана должна быть как можно меньше
- Располагайте УФ-обеззараживание и 0,2 микронный (а лучше 0,1 микрон) фильтр (для ликвидации роста микроорганизмов) как можно ближе к наливному крану, перед баком для воды и после него
- Установите специальные краны для рециркуляции внутри рециркуляционной петли (краны имеются в продаже)
- Используйте конический бак для хранения воды, который можно легко и быстро помыть
- Соблюдайте процедуры мойки и дезинфекции
 - Периодичность мойки и дезинфекции обычно зависит от микробиологического статуса, но должна проводиться не меньше 4 раз в год (включая бак для воды и мембрану обратного осмоса)
 - Разработайте систему полной дезинфекции совместно с производителем или поставщиком системы, или привлекайте для проведения дезинфекции местного специалиста
 - Используйте специальные продукты для очистки и дезинфекции мембран обратного осмоса (продукт должен быть совместим с мембранами обратного осмоса)
 - Используйте специальный бак для безопасного ввода моющих и дезинфицирующих веществ в систему
 - Промывайте систему после дезинфекции для предотвращения остаточного содержания моющих веществ и используйте тест-полоски для проверки безопасности данной процедуры
- Проводите микробиологический мониторинг с помощью сторонней компании
- После дезинфекции производите замену фильтра
- После дезинфекции производите замену де-ионизирующего агента
- Если в месте налива воды требуется шланг, используйте силиконовый шланг, который легко стерилизовать после использования
- Прежде чем наполнять бак для разбавителя, слейте некоторое количество воды из крана, чтобы промыть его от бактерий, которые могли там скопиться

РИСУНОК 3.1: ПРИНЦИП ОРГАНИЗАЦИИ СИСТЕМЫ ОЧИСТКИ ВОДЫ С РЕЦИРКУЛЯЦИЕЙ



ЗАПАСНОЙ ИЛИ АВАРИЙНЫЙ ИСТОЧНИК ВОДЫ

На хрячнике должен иметься запасной источник воды качества типа IA, на случай отказа основной системы. Размер запасного объема воды определяется руководством и должен учитывать мощность производства, количество рабочих дней в неделю (т.е. соотношение выходных и рабочих дней и количество идущих подряд рабочих дней), доступность запасных частей и сервиса для имеющейся системы очистки воды, способность быстро пополнить аварийный запас воды, в случае если основная система остается неработоспособной в течение длительного времени и предположительное время простоя основной системы до ее ремонта (т.е. «наихудший вариант»).

Аварийный запас воды можно приобрести в сторонней компании и хранить на площадке до истечения ее срока годности, после чего заменить ее. Другим вариантом будет использование двух независимых систем очистки воды на площадке, каждая из которых используется для получения воды одинакового качества. Даже если вторая система будет иметь меньшую производительность в час она сможет заменить основную систему в течение нескольких дней производства, при необходимости.

КАЧЕСТВО ИСТОЧНИКА ВОДЫ

Качество источника воды, также называемого «исходной воды» (воды, из которой получают очищенную воду), является еще одним важным фактором, который определяет нужно ли Вам покупать воду или использовать собственную систему очистки воды. Мы рекомендуем проводить частые исследования воды для определения и контроля ее качества. Несмотря на то, что многие минералы и вещества могут быть отфильтрованы из воды, плохое качество исходной воды может ухудшить качество получаемой воды, а, следовательно, разбавителя. Это отрицательно повлияет на качество семени. Если качество исходной воды отвечает требованиям для питьевой воды, то она подходит для использования в системах очистки воды для хрячников. В интернете имеются качественные параметры с таблицами и максимально допустимым содержанием загрязнений для питьевой воды. Часто поставщики предоставляют результаты исследований водопроводной питьевой воды. В случае использования собственной скважины в качестве источника воды, необходимо регулярно проводить исследования ее качества.

Существуют три основных индикатора качества источника воды:

- **Общее количество колиформных бактерий**
Если общее количество колиформных бактерий высоко, вероятно, что в воде также можно обнаружить вредоносные вирусы, бактерии и паразиты.
- **Наличие фекальных колиформных бактерий или Escherichia coli (E. coli)**
Фекальные колиформные бактерии – это специфичный вид общих колиформных бактерий. Фекалии (или стул) и пищеварительная система человека и теплокровных животных содержат миллионы фекальных колиформных бактерий. E.coli входит в группу фекальных колиформных бактерий и может быть исследована самостоятельно. Фекальные колиформные бактерии и E.coli обычно безвредны. Однако положительный тест на эти бактерии может означать, что в воду попали фекалии и вредоносные микроорганизмы.
- **Уровень pH**
Уровень pH описывает кислотность исходной воды. pH воды может влиять на внешний вид и вкус воды. Если pH слишком низкий или слишком высокий вода может повреждать трубы или приводить к тому, что тяжелые металлы, такие как свинец, будут попадать из труб в воду.

Пример требований к качеству воды (EPA – агентство по защите окружающей среды) приводится в Таблице 3.6. Уточните в вашей организации по защите здоровья/окружающей среды, на какие загрязнители необходимо проводить исследования воды.

ТАБЛИЦА 3.6: ПЕРЕЧЕНЬ ДОПОЛНИТЕЛЬНЫХ ГОСУДАРСТВЕННЫХ ТРЕБОВАНИЙ К КАЧЕСТВУ ПИТЬЕВОЙ ВОДЫ (США-EPA)

| НЕОРГАНИЧЕСКИЕ ВЕЩЕСТВА | КОЛИЧЕСТВО |
|---|--------------------------|
| Алюминий | >0,05 – 0,2 мг/л |
| Хлорид | <250 мг/л |
| Цвет | <15 (единиц цветности) |
| Медь | <1,0 мг/л |
| Коррозионность | <некоррозийна |
| Фториды | <2,0 мг/л |
| Пенообразующие агенты | <0,5 мг/л |
| Железо | <0,3 мг/л |
| Марганец | <0,05 мг/л |
| Запах | <3 пороговое число запах |
| pH | <6,5-8,5 |
| Серебро | <0,10 мг/л |
| Сульфат | <250 мг/л |
| Общая минерализация | <500 мг/л |
| Цинк | <5 мг/л |
| ОРГАНИЧЕСКИЕ ВЕЩЕСТВА (ПОБОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ ДЕЗИНФЕКЦИИ/ПЕСТИЦИДЫ) | СОДЕРЖАНИЕ |
| Общее содержание тригалометана ТТНМ | <80 мг/л |
| Общее содержание галогензамещенной уксусной кислоты ННА5 | <60 мг/л |
| Хлоруксусная кислота | <1 мг/л |
| Бромуксусная кислота | <0,01 мг/л |

МОЙКА И ДЕЗИНФЕКЦИЯ

Схема мойки и дезинфекции содержит информацию о периодичности и способе мойки и дезинфекции. Существуют общие процедуры мойки и дезинфекции для корпуса содержания животных, лаборатории (включая потолки, стены, полы, рабочие поверхности столов и тумбочки) и станков с животными. Есть более специфичные процедуры мойки и дезинфекции для станков сбора семени и чучел в зоне с животными, а также для материалов и оборудования в лаборатории. Все процедуры мойки и дезинфекции состоят из простых, но важных шагов:

1. Удаление органических загрязнений
2. Мойка с использованием моющего средства (замачивание)
3. Мойка с помощью щетки, губки или ткани для отделения органических загрязнений и растворения биопленки
4. Ополаскивание с целью разбавить и удалить моющее средство, жир и протеины
5. Сушка
6. Дезинфекция или стерилизация с целью нейтрализации оставшихся микроорганизмов
7. Мойка/дезинфекция или замена моющих материалов (щетка/губка/ткань) после каждого использования

Из всех описанных выше процедур самой важной является тщательная мойка. Дезинфекция поверхности без качественной мойки не убивает микроорганизмы, поскольку органические вещества будут защищать их от дезинфектанта.

Использование моющих средств и дезинфектантов требует соблюдения правильной концентрации, температуры воды и времени экспозиции для достижения эффективности. Строго соблюдайте инструкции производителя и тщательно промывайте обрабатываемые поверхности для удаления остатков моющих средств и дезинфектантов. Кроме того, важно использовать дезинфектанты, которые эффективны против бактерий, обнаруживаемых в Ваших производственных условиях. Помните, что со временем бактерии могут приобретать устойчивость к дезинфектантам, поэтому рекомендуется использовать несколько коммерческих продуктов с равной эффективностью.

Мойка и дезинфекция материалов не такое простое дело, как кажется. При неправильном выполнении этих процедур существует риск контаминации материалов или появлении остатков моющего средства/дезинфектантов на материалах. Если материал с такими остатками вступает в контакт с семенем, то качество семени ухудшается. Это критически важная точка, однако, контролировать ее трудно, поэтому многие хрячники принимают решение использовать одноразовые материалы вместо многоразовых.

Как указывалось в разделе II, в главе «Устройство лаборатории» процесс мойки и дезинфекции должен быть максимально упрощен за счет правильной конструкции и материалов стен, потолков, рабочих поверхностей столов и другой мебели. Везде, где возможно, используйте сплошные и не коррозионные материалы для стен (т.е. наливные настилы на основе эпоксидного состава, нержавеющую сталь, сплошные композитные материалы на основе нефтепродуктов и другие), полов и рабочих поверхностей столов. В зонах, требующих ежедневной мойки (производственная лаборатория, зона сбора семени и чучело), должны находиться только принадлежности, необходимые для производства. Например: храните запас расходных материалов на складе, а не в лаборатории, тем самым устраняя необходимость наличия тумбочек в лаборатории. Заполняйте бумаги в отдельной комнате. Используйте тележку и привозите в лабораторию только такое количество расходных материалов, которые будут использованы в течение одного производственного дня. Используйте столы из нержавеющей стали, оборудованные колесиками, которые легко передвигать по лаборатории и можно полностью убрать из помещения для проведения полной мойки стен и полов.

МОЮЩИЕ СРЕДСТВА

Существует большой выбор моющих средств. Моющее средство должно эффективно удалять органические загрязнения, полностью удаляться при споласкивании и быть нетоксичным. В качестве безопасных вариантов можно использовать моющие средства, специально предназначенные для лабораторий, моющие средства для пищевой промышленности или даже жидкие средства для ручной мойки посуды. Хорошо известным средством для мойки лабораторных принадлежностей и поверхностей является Decon 90®. Тщательно промывайте все поверхности и материалы после применения моющего средства. Для потолка, стен и полов можно использовать сильно действующие моющие средства, такие как Simple Green®. Следуйте инструкции на этикетке. Не используйте флаконы с пульверизатором, т.к. распыленный продукт может легко попасть в места, которые нельзя промыть. Мы рекомендуем приготовить чистящий раствор, который можно наносить на поверхность губкой, либо с помощью ткани.

ДЕЗИНФЕКТАНТЫ

Дезинфекция требуется, если невозможно применение стерилизации для материалов многоразового использования. Также, оборудование и рабочие поверхности столов должны дезинфицироваться после мойки в конце каждого рабочего дня. В Таблице 3.7 приводится список активных ингредиентов для дезинфектантов.

ТАБЛИЦА 3.7: АКТИВНОСТЬ ОТДЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЦИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ

| ПРОЦЕДУРА/ПРОДУКТ | КОНЦЕНТРАЦИЯ ВОДНОГО РАСТВОРА | АКТИВНОСТЬ |
|--|---|-------------------|
| ДЕЗИНФЕКЦИЯ | | |
| Глутаровый альдегид | Может быть разной | высокая– средняя |
| Ортофталевый альдегид (ОФА) | 0,50% | высокая |
| Перекись водорода | 3-6% | высокая – средняя |
| Формальдегид | 1-8% | высокая – средняя |
| Диоксид хлора | Может быть разной | высокая |
| Перуксусная кислота | Может быть разной | высокая |
| Соединения хлора | 500-5000 мл/л свободного активного хлора | средняя |
| Спирт (этил, изопропил) | 70% | средняя |
| Фенольные соединения | 0,5-3% | средняя – низкая |
| Йодофорные соединения | 30-50 мг/л свободного йода – 10 000 мг/л доступного йода 0,1-0,2% | средняя – низкая |
| Четвертичные соединения аммония (QUADAS) | | низкая |

Источник: Центр контроля и профилактики заболеваний (CDC)

Существуют несколько дезинфектантов, которые хорошо работают на хрячниках:

- 70% изопропиловый спирт (предпочтительно)
- Бактерицидный дезинфицирующий раствор

Мойте и дезинфицируйте все оборудование, используемое во время производства семени, после каждого использования. К такому оборудованию относятся системы CASA, компьютеры, клавиатуры, дозаторы, микроскопы, телефоны, пипетки и т.д. Не забывайте проводить дезинфекцию стен на высоту 35 см от рабочей поверхности столов в конце каждого рабочего дня. Разбирайте оборудования, насколько это возможно, перед мойкой. Легкость мойки должна быть важным фактором при выборе оборудования для закупки.

При мойке поверхностей двигайтесь в направлении сверху вниз, используйте одноразовые материалы. Мы рекомендуем использовать специальные уборочные тележки для лаборатории, поскольку, они служат в качестве мобильной платформы, на которую можно ставить ведра для мойки. Это позволяет не ставить ведра на лабораторные столы. На нижней части ведра загрязнения могут попасть из грязной зоны в чистую. Также, тележку вместе с ее содержимым можно полностью убрать из лаборатории после мойки.

Составьте график мойки на день, неделю и месяц. В Таблице 3.8 показан пример такого графика. Рассмотрите вариант найма профессиональных специалистов по уборке для общих помещений, таких как душевые, столовая, коридоры, туалеты, офис и другие общие зоны, чтобы персонал хрячника мог сосредоточиться на уборке и дезинфекции производственных помещений.

ТАБЛИЦА 3.8: ПРИМЕР ГРАФИКА МОЙКИ ЛАБОРАТОРИИ И ОБЩИХ ПОМЕЩЕНИЙ

| № | Что | Частота | | | | | Процедура № | Моющее средство | Кто |
|------------------|--|--------------|-----------------|----------------|---------------|-----------------|-------------|-----------------|----------------------------|
| | | 1 раз в день | 2 раза в неделю | 1 раз в неделю | 1 раз в месяц | 1 раз в квартал | | | |
| Лаборатория | Швабра для пола | | | X | | | | | профессионал |
| Лаборатория | Коврики против усталости | | | X | | | | | профессионал |
| Лаборатория | Потолок-Стены поочередно (1 часть каждую неделю)-вентиляторы-дверь | | | | X | | | | профессионал |
| Лаборатория | Передаточные окна: потолок, стены, дно и окна (за исключением со стороны хряков) | | | X | | | | | профессионал |
| Лаборатория | Приемное окно | X | | | | | | | Операторы |
| Лаборатория | Рабочие поверхности столов + проход | X | | | | | | | Лаборанты |
| Лаборатория | Дверцы тумбочек и лицевые части ящиков | | | X | | | | | профессионал |
| Лаборатория | Внутренние части тумбочек | | | | | X | | | Лаборанты |
| Лаборатория | Лабораторное оборудование-приборы-материалы | X | | | | | | | Лаборанты |
| - | Автозабавитель | X | | | | | | | Лаборанты |
| - | Микроскоп | X | | | | | | | Лаборанты |
| - | Весы | X | | | | | | | Лаборанты |
| - | Автодозаторы | X | | | | | | | Лаборанты |
| - | SPS-11 | X | | | | | | | Лаборанты |
| - | Измеритель проводимости | X | | | | | | | Лаборанты |
| - | Тепловой стерилизатор | | | | X | | | | Лаборанты |
| - | Бачи для разбавителя на 100л | X | | | | | | | Лаборанты |
| - | Весы бачок для разбавителя/под ними | | | | | 2X | | | Лаборанты |
| - | Ручная запечатывающая машина | X | | | | | | | Лаборанты |
| - | Посудомоечная машина | | | | X | | | | Лаборанты |
| - | Тумбочка для MOGA | | | | X | | | | Лаборанты |
| - | Холодильник | | | | X | | | | Лаборанты |
| Лаборатория | Под оборудованием и аппаратами (описать процедуру) | | | | X | | | | Лаборанты |
| Лаборатория | Офисное оборудование (компьютеры/клавиатуры/телефоны/копиры) | | | X | | | | | профессионал |
| Лаборатория | Стулья/кресла | | | X | | | | | профессионал |
| Лаборатория | Стекло и пластиковые принадлежности/кружки/крышки (многоразовые) | X | | | | | | | Лаборанты |
| Лаборатория | Моечные раковины | X | | | | | | | Лаборанты |
| Лаборатория | Мусорные корзины (малые) | X | X | | | | | | Лаборанты |
| Лаборатория | Мойка и дезинфекция полок | | X | | | X | | | Лаборанты |
| Лаборатория | Мойка и дезинфекция тележек | | | X | | X | | | профессионал |
| Другие помещения | Холодильная комната | | | X | | | | | профессионал |
| Другие помещения | Комната отгрузки | | | X | | | | | профессионал |
| Другие помещения | Комната очистки воды с помощью ОС (пол и все, что возможно помыть) | | | X | | | | | профессионал |
| Другие помещения | Проход из лаборатории в столовую | | | X | | | | | профессионал |
| Другие помещения | Душевые | | | | X | | | | профессионал |
| Другие помещения | Туалеты | | | | X | | | | профессионал |
| Другие помещения | Столовая | | | | | 3X | | | профессионал |
| Другие помещения | Скамейка в тамбуре на входе (грязная сторона) | | | | | X | | | персонал хрячника |
| Другие помещения | Холодильник в чистой столовой | | | | | X | | | персонал хрячника |
| Другие помещения | Система очистки воды с помощью ОС | | | | | X | | | Специалист по очистке воды |

Обязательно напишите процедуры мойки и дезинфекции/стерилизации для помещений, оборудования и приборов. Изучите инструкции производителей на предмет того, какие моющие средства и дезинфектанты могут быть использованы. Если требуется стерилизация предметов, которые непосредственно контактируют с семенем (например, шланги фасовочной машины), мы рекомендуем использовать автоклав или сушильные печи высокой температуры. Существуют специальные индикаторные ленты или полоски, которые можно приобрести, показывающие были ли достигнуты требуемая температура и время экспозиции для нейтрализации микроорганизмов. В Таблице 3.9 приведены примеры различных методов стерилизации, температур и продолжительности экспозиции.

ТАБЛИЦА 3.9: ПРИМЕРЫ ОБОРУДОВАНИЯ ДЛЯ СТЕРИЛИЗАЦИИ, ТЕМПЕРАТУР И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЭКСПОЗИЦИИ

| ТИП СТЕРИЛИЗАТОРА | ТЕМПЕРАТУРА | ВРЕМЯ ЭКСПОЗИЦИИ | ВРЕМЯ СУШКИ |
|---|-------------|------------------|-------------|
| Паровой стерилизатор гравитационного типа | 121°C | 30 мин | 15-30 мин |
| Паровой стерилизатор гравитационного типа | 132°C | 15 мин | 15-30 мин |
| Форвакумный паровой стерилизатор | 132°C | | 15-30 мин |
| Паровой стерилизатор с промывкой паром и импульсным давлением | 132°C | | 15-30 мин |
| Сухожаровый стерилизатор | 170°C | 60 мин | |
| Сухожаровый стерилизатор | 160°C | 120 мин | |
| Сухожаровый стерилизатор | 150°C | 150 мин | |
| Кипячение в воде | 100°C | 20 мин | 15-30 мин |

Больше информации о методах мойки и дезинфекции, моющих средствах и дезинфектантах можно найти на сайте Центра контроля и профилактики заболеваний (CDC):

<https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/Disinfection/index.html>

ВНУТРЕННЕЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ И КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Мониторинг контроля качества жизненно необходим для поддержания высоких стандартов производства семени на хрячнике. Проверка доз семени (конечного продукта) должна вестись постоянно, по утвержденному графику и проводиться по таким параметрам, как количество сперматозоидов в дозе, подвижность готового семени и температура. Важными аспектами программы мониторинга КК являются лабораторные процессы и их составляющие, которые влияют на качество конечного продукта. Данная программа должна включать проверку готового разбавителя на подвижность после разбавления в начале рабочего дня. В целом, целью внутреннего или внешнего мониторинга является соответствие 95% или более исследованных образцов конечного продукта критериям качества для доз семени.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА РАЗБАВИТЕЛЯ

Для каждого разбавителя (после приготовления) есть спецификации по pH и проводимости. Как описывалось выше, оба параметра можно измерить специальными приборами, для подтверждения правильности приготовления разбавителя. Эти измерения должны проводиться после тщательного перемешивания приготовленного разбавителя и его стабилизации. Время стабилизации для разных разбавителей будет разным. Ведите журнал учета калибровок прибора и результатов измерений для использования в качестве справочной информации.

ОЦЕНКА ПОДВИЖНОСТИ ПОСЛЕ РАЗБАВЛЕНИЯ

Оценка подвижности после разбавления проводится для каждого бака готового разбавителя непосредственно после разбавления (2-3 образца) и через 2 часа после разбавления этих же образцов. Если наблюдаются проблемы с качеством разбавителя, то они будут выявлены вовремя и можно будет приготовить новый разбавитель без больших потерь для производства. Если используется более одного бака для разбавителя, проводите проверку каждого из них перед началом производства. Ранее выявление проблем обеспечит Вам достаточно времени для приготовления свежего разбавителя для последующего использования.

ПРОВЕРКА ПОДВИЖНОСТИ ГОТОВОГО СЕМЕНИ

Проверка подвижности готового семени может быть использована для оценки подвижности семени на протяжении нескольких дней после его производства. Снижение подвижности за сутки является хорошим индикатором корректности производства семени. Оно также показывает, что качество сперматозоидов, вероятно, будет оставаться достаточно хорошим до окончания срока годности. Целевым показателем общей подвижности является уровень в 70% от общего числа сперматозоидов к моменту окончания срока годности. Хряки с проблемным семенем должны выявляться до разбавления (т.е. отбраковываются исходные эякуляты; хряков выводят из использования, с возможной последующей выбраковкой, если проблема не уходит) или за счет частой проверки подвижности готовых доз семени, полученных от конкретных эякулятов (т.е. история продолжающихся проблем с выживаемостью семени). Периодичность исследования отдельных хряков должна определяться оценкой риска. Для выявления каких-либо проблем с подвижностью у готового семени необходимо проверять как минимум каждый четвертый эякулят хряка. Количество исследуемых результатов зависит от общего количества доз, производимых за один день (см. Таблицу 3.10). Оценка репрезентативного количества образцов необходима для мониторинга качества производственного процесса для поддержания внутреннего стандарта и должна использоваться для выявления и решения проблем, и предотвращения их появления в будущем. Наконец, система должна обеспечивать соответствие произведенных доз семени минимальным параметрам подвижности к окончанию срока годности.

ТАБЛИЦА 3.10: КОЛИЧЕСТВО ОБРАЗЦОВ ДЛЯ РАЗЛИЧНЫХ УРОВНЕЙ ДОСТОВЕРНОСТИ И КОЭФФИЦИЕНТОВ ОШИБОК

| КОЛ-ВО ДОЗ | 95% | 99% | 95% | 99% | 95% | 99% | ←УРОВЕНЬ ДОСТОВЕРНОСТИ |
|---------------|-------|-------|------|------|------|------|------------------------|
| | 10,0% | 10,0% | 5,0% | 5,0% | 2,0% | 2,0% | ←УРОВЕНЬ ОТКЛОНЕНИЯ |
| 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 | |
| 1000 | 28 | 43 | 57 | 86 | 138 | 204 | |
| 1500 | 28 | 43 | 57 | 87 | 142 | 212 | |
| 2000 | 28 | 43 | 58 | 88 | 143 | 215 | |
| 3000 | 28 | 43 | 58 | 88 | 145 | 219 | |
| 4000 | 28 | 44 | 58 | 89 | 146 | 222 | |
| 5000 | 28 | 44 | 58 | 89 | 146 | 223 | |
| 6000 | 28 | 44 | 58 | 89 | 146 | 224 | |
| 8000 | 28 | 44 | 58 | 89 | 147 | 225 | |
| 10000 | 28 | 44 | 58 | 89 | 147 | 225 | |

ПРОЦЕДУРА:

- Сохраните репрезентативное количество образцов (см. Таблицу 3.10) из каждой партии или от отдельных эякулятов хряков в пробирках по 5 мл (1 пробирка на каждый день исследования). Также сохраните образец в тубе (последний из партии/эякулята) или пакете, используемым для фасовки семени.
- Проведите реактивацию образцов перед оценкой в соответствии с инструкциями производителя разбавителя.
Шаги по реактивации:
 - Переворачивайте тубу с образцом до тех пор, пока все клетки не окажутся в однородно взвешенном состоянии.
 - Проведите инкубацию образцов в термостате при 38°C
- Обратите внимание, что время инкубации зависит от типа разбавителя и должно соответствовать времени, указанному на этикетке/в инструкции к разбавителю или рекомендованном производителем напрямую. Проведите проверку подвижности как минимум в день истечения срока годности и в один день между днем производства (день 0) и днем истечением срока годности. Наиболее распространенной является проверка в день 1.
- Если оценка подвижности меньше порогового значения годен/не годен в день исследования, проведите повторное исследование для подтверждения результата.
- Если разница в подвижности между данным анализом и предыдущим (обычно, день 0 или день 1) анализом составляет более 3% за 24 часа, проведите повторный анализ для подтверждения результата.

Минимальные критерии приведены в Таблице 3.11.

МОНИТОРИНГ КОЛИЧЕСТВА КЛЕТОК В ДОЗЕ

Мониторинг количества сперматозоидов необходим для того, чтобы убедиться в выполнении требования по минимально допустимому количеству сперматозоидов в дозе и для определения отклонения между дозами. Мониторинг должен проводиться на репрезентативном количестве образцов. Предпочтительно использовать для этого точное оборудование, такое как Nucleocounter® или проточный цитометр. Это дорогостоящее оборудование и оно не используется широко в коммерческих лабораториях ИО. Если у Вас нет такого оборудования, то для подобных исследований можно прибегнуть к услугам сторонней лаборатории.

Как обсуждалось ранее, еще одним способом точного подсчета клеток является использование счетной камеры (гемоцитометр) и микроскопа. Однако для данного способа необходим опытный специалист, а также он является затратным по времени.

УПРАВЛЕНИЕ ТЕМПЕРАТУРОЙ

Некоторые разбавители могут обеспечить защиту сперматозоидов от колебаний температуры. Однако управление температурой во время процессов сбора, оценки, обработки, хранения и доставки семени остается важным. Температурный стресс должен быть минимальным во время производства, хранения и доставки доз семени. К важным аспектам управления температурой во время производства семени относятся следующее:

- Контролируйте температуру эякулята во время сбора и в период от сбора до разбавления. Замеряйте температуру семени в разных точках от сбора до разбавления. Это дает понимание требуемой температуры для материалов и разбавителя.
- Помните, что температура эякулятов может быть разной на разных хрячниках и в зависимости от времени года. Поэтому важно проводить регулярные измерения температуры, чтобы скорректировать температуру материалов и разбавителя.
- Температура материалов и разбавителя не должна отличаться от температуры семени более чем на $\pm 2^{\circ}\text{C}$.
- Используйте калиброванный термометр или сверяйте используемый термометр с показаниями калиброванного термометра, чтобы обеспечить точность измерений.
- Проверяйте настройку температуры на нагревательном устройстве (если используется). Обратите внимание, что настройки температуры не всегда точны и должны регулярно проверяться с помощью термометра.
- Микроскопы для оценки подвижности должны иметь подогреваемый столик с температурой (точность которой проверена/подтверждена), выставленной на 38°C для получения оптимальной подвижности семени.
- После разбавления постепенно охладите семя до температуры $17 \pm 2^{\circ}\text{C}$ перед отправкой. Несмотря на то, что в продаже имеются разбавители с защитой от колебаний температуры, мы рекомендуем поддерживать заданную температуру при хранении и транспортировке, пока не появится достаточно научно обоснованных подтверждений того, что это делать не обязательно.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обычно микробиологические исследования выполняются в специализированной сторонней лаборатории, но могут выполняться и в собственной лаборатории. Отберите образцы конечного продукта, воды, разбавителя и производственной среды – с чучела, а также с рабочих поверхностей столов и из раковины/канализации. Более подробную информацию ищите в Разделе 3, параграфе «Внешний контроль качества» или обратитесь в Техническую службу компании PIC.

ВНЕШНИЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Внешний контроль качества конечного продукта необходим по нескольким причинам. Он обеспечивает корректность калибровки оборудования, и соответствие качества доз семени приемлемому диапазону качества. Использование постоянного внешнего мониторинга для оценки количества сперматозоидов, подвижности и морфологии в независимой, сертифицированной андрологической лаборатории является ключевым фактором программы КК. Предпочтительно, чтобы в такой лаборатории использовалась система CASA для оценки подвижности, а также точный и проверенный метод определения концентрации, например, с помощью Nucleocounter® или проточного цитометра. Оценку морфологии желательно проводить с использованием фиксирования или окрашивания сперматозоидов и оценкой вручную при 1000x кратном увеличении с предоставлением отчета о классификации всех специфичных отклонений. В Таблице 3.11 можно найти минимальные критерии для дозы семени хорошего качества.

ТАБЛИЦА 3.11: МИНИМАЛЬНЫЕ КРИТЕРИИ ДЛЯ ДОЗЫ СЕМЕНИ НА ДАТУ ОКОНЧАНИЯ СРОКА ГОДНОСТИ

| ПАРАМЕТР СЕМЕНИ | МИНИМАЛЬНЫЙ КРИТЕРИЙ |
|---|-----------------------------------|
| Объем | $< \pm 1$ мл от целевого значения |
| Количество сперматозоидов/дозе | $< \pm 5\%$ от целевого значения |
| Подвижных сперматозоидов | $> 60\%$ |
| Прогрессивно подвижных сперматозоидов | $> 50\%$ |
| Снижение подвижности (прогрессивной) за 24 часа | $< 3\%$ |
| Агглютинация | $< 30\%$ |
| Сперматозоидов с отклонениями | $< 30\%$ |
| Цитоплазменные капли (входят в сперматозоиды с нарушениями) | $< 20\%$ |
| Бактериальная контаминация* | < 1 КОЕ/мл |

*Измерено через 48 часов анаэробной инкубации при 37°C

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Бактерии в дозах семени могут привести к ухудшению качества семени. В разбавителях семени содержатся антибиотики, которые должны инактивировать бактерии в эякуляте. Однако при высокой степени загрязнения концентрация антибиотика может оказаться недостаточной для инактивации всех бактерий. Устойчивость бактерий к антимикробным препаратам является еще одной причиной бактериальной контаминации доз семени. Микробиологическое исследование доз семени дает представление об уровне гигиены при производстве семени. Разбавитель, для приготовления которого используют очищенную воду, составляет, по меньшей мере, 75% от объема дозы семени. Поэтому необходимо проводить регулярные исследования воды и разбавителя. Большинство бактерий в семени происходят от животных, человека или из окружающей среды и лучше всего размножаются при умеренных температурах между 20°C и 45°C в аэробных условиях. Следовательно, лучше всего проводить микробиологические исследования в аэробных условиях при температуре 37°C.

- Микробиологические исследования должны проводиться минимум через 24 часа после разбавления семени, чтобы дать антибиотику время на инактивацию бактерий.
- Из-за конкуренции, определенные бактерии размножаются медленнее и только, когда другие бактерии инактивированы. Поэтому, исследование части образцов через более позднее время может показать рост бактерий, несмотря на то, что в образцах, исследованных ранее, он не наблюдался.
- Если бактерии обнаруживаются регулярно:
 - Бактерии необходимо идентифицировать для определения источника контаминации
 - Сравнительное исследование восприимчивости к разным антибиотикам, включая антибиотик в разбавителе, позволит получить информацию о развитии резистентности у бактерий

ХАССП

ХАССП означает Анализ Рисков и Критические Контрольные Точки (Hazard Analysis Critical Control Point - HACCP). ХАССП – это системный профилактический подход, используемый в пищевой промышленности для обеспечения безопасности продуктов с биологической, химической и физической точек зрения. С его помощью проводится анализ рисков в производственном процессе, которые могут нарушить безопасность готового продукта, а также разрабатываются параметры для измерения, с целью снижения уровня риска. Данная методология очень хорошо подходит для использования в производстве семени. Ниже представлены 7 принципов ХАССП:

1. Проведите анализ рисков:
Найдите риски, приводящие к ухудшению качества семени. Рассматривайте такие факторы, как шок от переохлаждения, бактериальная контаминация, ошибки в приготовлении разбавителя, качество воды, перекрестная контаминация, колебание температуры, токсичные материалы и т.д.
2. Определите критические контрольные точки:
Проанализируйте каждый шаг и все используемые материалы на этапах от сбора до фасовки семени, а также его хранения и транспортировки. В качестве примера контрольных точек при производстве семени можно привести следующие: Качество воды (химическое и микробиологическое), качество разбавителя (рН и проводимость), эффективность антибиотика, точки контаминации, а также случайные опасные вещества в материалах, которые контактируют с семенем, таких как латекс или перчатки с присыпкой, отбеленная марля, остатки моющих средств в шлангах и т.д.

3. Установите предельные значения:
Установите предельные значения для каждой контрольной точки. Например:
- a. Микробиологический статус:
 - i. Доза семени: <1 КОЕ/мл
 - ii. Рабочая поверхность стола после мойки: <3 КОЕ/см²
 - iii. Разбавитель:<1 КОЕ/мл
 - iv. Очищенная вода (для приготовления разбавителя): <1 КОЕ/мл
 - v. Исходная вода: колиформных бактерий <1 КОЕ/100 мл
 - vi. Поверхность чучела после мойки:<10 КОЕ/см
 - b. Температура:
 - i. Кружка для сбора семени: 38°C ± 2°C
 - ii. Нагревательная пластина и термостат для предметных стекол, покровные стекла и пробирки для образцов: 38°C ± 1°C
 - iii. Нагреваемый предметный столик микроскопа: 38°C ± 1°C
 - iv. Пластиковые мешки для кружек для сбора семени, тубы и пакеты: обеспечьте достаточное время выдержки перед применением, чтобы их температура достигла как минимум комнатной температуры (20°C) и не была выше температуры разбавленного эякулята
 - v. Разбавитель: температура эякулята перед разбавлением ± 2°C
 - vi. Холодильная комната: 17°C ± 2°C

4. Проводите мониторинг ККТ:
Как только вы определили ККТ и установили предельные значения, проведите соответствующие тесты с использованием репрезентативного количества образцов.
- a. Для воды, используемой для приготовления разбавителя, измерьте проводимость. Для разбавителя, измерьте проводимость и pH.
 - b. Измерьте температуру эякулята при поступлении в лабораторию и проверьте температуру разбавителя.
 - c. Регулярно (раз в квартал) проводите исследование источника воды (из входной трубы) на содержание тяжелых металлов и органических веществ.
 - d. Проводите исследование воды, разбавителя и доз семени на микробиологические загрязнения.
 - e. Проводите исследование поверхностей на загрязнения после мойки для проверки эффективности санитарных процедур.
 - f. Проверяйте используемые в лаборатории весы с помощью стандартных грузов перед использованием.
 - g. Каждый раз перед началом работы проверяйте температуру нагревательных приборов.

5. Разработайте корректирующие действия:
При выявлении отклонения от установленных предельных значений необходимы корректирующие действия.
Важной задачей корректирующих действий является предотвращение продажи доз семени ненадлежащего качества, которые могут негативно сказаться на проценте осеменения.
Корректирующие действия должны включать следующие элементы:

- Определение и корректировка причины отклонения
- Выявление и утилизация продукта ненадлежащего качества
- Регистрация проведенных корректирующих действий

Примеры:

- Очищенная вода с бактериальными загрязнениями:
 - Провести санитарную обработку системы очистки воды
 - Заменить смолы/фильтры
 - Провести чистку бака для воды
 - Проверить УФ-фильтры и заменить при необходимости
 - Использовать покупную воды для приготовления разбавителя или рассмотреть вариант кипячения воды (в зависимости от требуемого объема)
 - Если загрязнения появляются вновь, Вы можете рассмотреть возможность изменения конструкции системы очистки воды за счет использования рециркуляции воды, замены бака для хранения воды или изменения/повышения мощности УФ лампы

После завершения изменений запишите в реестр/журнал выявленные отклонения, проведенные корректирующие действия и результаты исследований.

6. Разработайте процедуры обеспечения правильного применения методов ХАССП и проведите их верификацию:
Процедуры верификации могут включать обзор планов ХАССП, учет ККТ, предельных значений (на основе результатов мониторинга), количество для микробиологических исследований и периодичность исследований.
7. Ведите учет
Ведение учета очень важно. Результаты исследований должны регистрироваться, результаты должны анализироваться, а полученная информация должна использоваться для улучшения процедур. Результатом этого процесса должна быть корректировка минимальных критериев с целью улучшения контроля производства и снижения рисков.

РИСУНОК 3.2: ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ ХАССП



РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ГЕНЕТИКЕ



В данном разделе дается общая информация о важности генетического аспекта в управлении хрячником. Здесь также содержатся некоторые рекомендации и описываются инструменты, разработанные компанией PIC, которые помогут управляющим хрячниками в принятии решений.

ПОЧЕМУ ВАЖЕН ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ СТАДА

Каждая доза семени, поставляемая хрячником, оказывает огромное влияние на потенциальные производственные показатели (а, следовательно, прибыль) животных, получаемых от нее. Если учесть, что в среднем от одного сбора семени получается 30 доз, то потенциальное влияние может затронуть ~50 000 товарных свиней (Таблица 4.1).

ТАБЛИЦА 4.1: ПОТЕНЦИАЛЬНОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ/КОЛИЧЕСТВО РОДИВШИХСЯ ТОВАРНЫХ СВИНЕЙ ОТ ОДНОГО СБОРА СЕМЕНИ

| ТЕРМИНАЛЬНЫЙ ХРЯК | 196 ТОВАРНЫХ СВИНЕЙ |
|-------------------|---|
| Хряк GP | 4 отобранных свинок Камборо из помета → 60 товарных свиней за жизненный цикл Камборо → 3 360 товарных свиней от одного сбора семени |
| Хряк GGP | 4 отобранных чистопородных свинок Камборо из помета → 15 свинок Камборо на одну свинку чистопородной линии за жизненный цикл → 60 товарных свиней за жизненный цикл Камборо → 50 400 товарных свиней от одного сбора семени |

Хряки PIC отбираются, исходя из потенциала производительности их потомства в условиях коммерческого производства. Программа селекции направлена на получение максимальной прибыли в хозяйствах наших клиентов от потенциала, заложенного в генетике PIC, а индекс PIC отображает генетический потенциал животных по всем факторам, влияющим на прибыль.

Индекс PIC показывает, что каждый дополнительный индексный балл у терминального хряка означает примерно \$ 0,10 потенциальной прибыли на полученного поросенка. Для материнской линии, каждый индексный балл означает примерно \$ 0,05 дополнительной потенциальной прибыли на полученного поросенка. Это означает, что генетический индекс является одним из ключевых аспектов в управлении составом стада хрячника. В продолжение приведенного выше примера, прирост индекса одного сбора семени на 15 баллов даст увеличение прибыли для производственной системы до \$ 3 000 от одного сбора семени (Таблица 4.2).

ТАБЛИЦА 4.2: ПРИМЕР ДОПОЛНИТЕЛЬНОЙ ПРИБЫЛИ ЗА СЧЕТ РОСТА ИНДЕКСА НА 15 БАЛЛОВ

| ХРЯК | ПРИБЫЛЬ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ СИСТЕМЫ |
|-------------------|---|
| Терминальный хряк | \$ 9,60 от одного сбора семени! |
| Хряк GP | \$ 187 от одного сбора семени! |
| Хряк GGP | \$ 2 808 от одного сбора семени! |

УПРАВЛЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИМ ПОТЕНЦИАЛОМ ХРЯЧНИКА

По мере увеличения генетического потенциала хрячника увеличивается и ценность товарных свиней, получаемых в коммерческих хозяйствах. На практике это реализуется за счет ввода хряков с высокими индексами для замены хряков с более низкими индексами. Существуют две стратегии оптимизации влияния хрячников на эффективность работы свиноводческих хозяйств:

1. Проактивное размещение заказов на поставку хряков, исходя из оптимального прогноза замены хряков
2. Активный подход к выбраковке хряков, исходя из их генетической ценности (после проведения необходимых выбраровок по производственным показателям)

В то время как генетический потенциал является основным фактором, определяющим вклад хрячника в экономическую эффективность производства свиней, производственные затраты хрячника также важны. Рекомендуемые проценты замены хряков учитывают баланс между генетической выгодой, которую коммерческие хозяйства получают через молодых хряков, и снижением себестоимости производства дозы семени по мере увеличения возраста хряка. Обычно используются примерно следующие целевые проценты замены хряков:

- 130% для хряков GGP
- 100% для хряков GP
- до 95% хряков CBV+/Profit+, Max (терминальные хряки с самыми высокими терминальными индексами)
- 70% для стандартных терминальных хряков ИО

ОПТИМАЛЬНЫЙ СРОК СЛУЖБЫ ХРЯКА (ОССХ)

Инструмент по ОССХ от PIC помогает управляющим хрячниками принимать решения по выбраковке хряков, исходя из ценности каждого терминального хряка для производственной системы. В основном, данный расчет учитывает текущие генетические показатели хряка и его возраст (используется для оценки оставшегося срока службы хряка и оценку выхода семени). На протяжении всего срока службы хряка на хрячнике, его ценность оценивается как комбинация этих двух факторов, однако относительный вклад каждого из них в общую прибыльность всей системы меняется по мере увеличения возраста хряка:

- Ввод хряка в стадо хрячника:
 - Генетическая ценность: В хряке заложен новый/высокий генетический потенциал и полученные от его семени товарные животные будут обладать более высокой производительностью-потенциалом на доращивании/откорме, по сравнению с более старыми хряками в хрячнике. Это основной фактор, определяющий ценность молодых хряков с высокими индексами.
 - Выход семени: В первые несколько недель пребывания хряка на хрячнике выход семени у него самый низкий. В результате себестоимость дозы семени при вводе хряка в стадо самая высокая.
- Через несколько месяцев пребывания на хрячнике:
 - Генетическая ценность: Индекс хряка начинает снижаться. Поскольку генетическая ценность активного хряка сравнивается с заменой его более молодым хряком с генетических ферм PIC, сравнение показывает, что новые хряки, вводимые в стадо, будут производить товарных свиней с более высоким производственным потенциалом, относительно стареющего хряка.
 - Выход семени: Хряк достигает пика производства семени, и его ценность для производственной системы увеличивается за счет снижения производственной себестоимости дозы семени. На данном этапе преимущество в себестоимости компенсирует его снижающуюся генетическую ценность.
- В конце оптимального срока службы хряка:
 - Генетическая ценность: Индекс хряка продолжил снижаться, показывая, что прирост производственного потенциала, который можно будет получить у товарных свиней, если для их производства использовать нового, более молодого хряка, продолжает увеличиваться.
 - Выход семени: Хряк достиг пика своей кривой производства семени и продолжает оставаться на этом уровне. Снижение себестоимости производства семени этого более старого хряка уже не компенсирует разницу в генетическом потенциале между ним и более молодым хряком. В данный момент производственная система выиграла бы за счет замены старого хряка более молодым, с высоким индексом.

Использование Оптимального Срока Службы Хряка обеспечивает дифференциацию продуктов в коммерческих хозяйствах за счет непрерывного генетического улучшения на генетических фермах PIC.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ИНСТРУМЕНТЫ

Компания PIC постоянно ищет возможности использования наилучшей доступной информации для повышения уровня поставляемых продуктов и услуг, касающихся хрячников. Информация по качеству семени регулярно поступает с разных хрячников наших клиентов, которая затем используется как часть общего расчета индекса, с целью непрерывного повышения качества семени. Более того, разные инструменты анализа для хрячников доступны в PICtraq®. Для получения дополнительной информации, пожалуйста, обратитесь к Вашему представителю Генетической Службы PIC.



РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ВОДЕ ДЛЯ СВИНЕЙ

| НАИМЕНОВАНИЕ | НОРМА В м.д. (миллионная доля = мг/л) |
|--|--|
| Кальций | <1000 |
| Хлорид | <400 |
| Медь | <5 |
| Фторид | <2-3 |
| Жесткость (карбонат кальция) | < 60 мягкая > 200 жесткая |
| Железо | <0,5 |
| Свинец | <0,1 |
| Магний | <400 |
| Марганец | <0,1 |
| Ртуть | <0,003 |
| Нитриты | <10 |
| Нитраты | <100 |
| Фосфор | <7,8 |
| Калий | <3 |
| Натрий | <150 |
| Селен | <0,05 |
| Растворенные вещества | <1000 |
| Сульфат | <1000 |
| Цинк | <40 |
| Общее количество жизнеспособных бактерий (TVC) в 1 мл 37°C | Низкое, но более важно – отсутствие расхождения между образцами <200TVC/мл |
| 22°C | <10 000TVC/мл |
| Общие колиформы /100 мл | Отсутствие |

^aПо материалам NRC (2012) и Рабочей группы по рекомендациям о качестве воды, 1987.
Канадские рекомендации по качеству воды, Директорат по внутренним водам, Оттава, Онтарио.

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ВОДЫ НА ОСНОВЕ ОБЩЕГО КОЛИЧЕСТВА РАСТВОРЕННЫХ ВЕЩЕСТВ (NRC, 2012).

| ОБЩЕЕ КОЛИЧЕСТВО РАСТВОРЕННЫХ ВЕЩЕСТВ (мг/л) | РЕЙТИНГ | КОММЕНТАРИИ |
|--|-------------------|--|
| <1 000 | Безопасно | Нет риска для свиней. |
| 1 000 – 2 999 | Удовлетворительно | Небольшая диарея у не адаптировавшихся свиней. |
| 3 000 – 4 999 | Удовлетворительно | Может привести к временному отказу от воды. |
| 5 000 – 6 999 | Приемлемо | Следует избегать более высоких концентраций для племенных животных. |
| > 7 000 | Неприемлемо | Риск для племенных животных и животных в состоянии теплового стресса |





УРОВЕНЬ КОРМЛЕНИЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВЕСА ХРЯКА¹

| ВЕС ХРЯКА, КГ | МКАЛ ОЭ/ДЕНЬ | МКАЛ ЧЭ/ДЕНЬ | ОБЪЕМ КОРМА, КГ/ДЕНЬ |
|---------------|--------------|--------------|----------------------|
| <159 | 7,2 | 5,3 | 2,3 |
| 159 | 7,9 | 5,9 | 2,5 |
| 205 | 8,6 | 6,4 | 2,7 |
| 250 | 9,5 | 7,0 | 3,0 |
| 295 | 10,4 | 7,7 | 3,3 |
| 341 | 11,2 | 8,3 | 3,5 |

По материалам технического комментария PIC 142, с учетом окружающей температуры 17-18°C, исходя из энергетической ценности корма равной 2350 ккал ЧЭ/кг по NRC.



ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕФРАКТОМЕТРОВ ДЛЯ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА РАЗБАВИТЕЛЯ СЕМЕНИ

С точки зрения точности выполнения одним из наиболее важных моментов в производстве семени является приготовление жидкого разбавителя семени. Неправильное соотношение воды и разбавителя может отрицательно сказаться на жизнеспособности сохраняемых сперматозоидов. В зависимости от того, насколько сильно нарушена пропорция при смешивании, негативное воздействие может быть различным - от минимального, до 100% потери функциональности сперматозоидов в дозе. В качестве быстрого и дешевого способа проверки правильности приготовления разбавителя можно использовать рефрактометрию.

РЕФРАКТОМЕТР

Лучшим вариантом для использования является рефрактометр Брикса 18.У него имеется шкала от 1 до 18% Брикс, размеченная по 1%. Калибровка – проводите калибровку рефрактометра каждую неделю в соответствии с инструкцией пользователя. В большинстве случаев для установки 0% Брикса используется очищенная вода.

УСТАНОВКА ЭТАЛОННОГО ЗНАЧЕНИЯ

Разные разбавители будут иметь разное значение Брикса, в зависимости от используемых в них ингредиентов. Также на этот показатель влияет вода. Для определения целевого значения Вам необходимо знать Ваше собственное значение, которое в большинстве случаев находится в диапазоне 4 – 5% Брикс. Измерьте Ваше значение Брикса в течение пяти производственных дней подряд для определения приемлемого для Вас диапазона. Данную процедуру необходимо повторять каждый раз при смене разбавителя или изменении ингредиентов в разбавителе.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕФРАКТОМЕТРА

Убедитесь, что Ваше устройство откалибровано. С помощью пипетки возьмите каплю разбавителя и поместите в синюю измерительную зону. Важно, чтобы вся зона была покрыта жидкостью. Посмотрите в окуляр и определите значение Брикса. Если значение выходит за пределы диапазона (более чем $\pm 0,5$) убедитесь, что рефрактометр откалиброван и используется правильно, затем повторите измерение. Если измерение по-прежнему находится за пределами диапазона, не используйте разбавитель для приготовления семени и приготовьте новый разбавитель.

ВАЖНО:

- Калибровка рефрактометра должна проводиться регулярно
- Значение Брикса может измениться, если поменялся разбавитель или были добавлены другие ингредиенты
- Значение Брикса может измениться при изменении качества воды
- Измерение каждый раз должно проводиться при схожих температурах разбавителя
- Вся синяя измерительная зона должна быть покрыта жидкостью



▶▶▶▶▶ ПРИМЕРЫ УПАКОВКИ СЕМЕНИ



1. Подготовьте термопакеты и хладогенты.



2. Уложите дозы внутрь термопакета и поместите его во внутренний бокс.



3. Добавьте гелиевые хладогенты, имеющие комнатную температуру.



4. Оденьте крышку и запечатайте коробку клейкой лентой.



5. Оберните внутренний бокс в термопакет.



6. Поместите внутренний бокс во внешний бокс и добавьте гелиевые хладогенты (теплые или холодные, в зависимости от времени года).



7. Оденьте крышку и запечатайте клейкой лентой.



8. Поместите в коробку для отправки.

ООО «Генетика ПИК»

Белгород, 308000, г. Белгород, б-р Народный , дом 79

Тел: +7-7422-20-20-58

<http://ru.pic.com/>