



УКРАЇНА

(19) UA (11) 25823 (13) U
(51) МПК (2006)
A61D 19/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ПРИСТРІЙ ДЛЯ КРІОКОНСЕРВАЦІЇ СПЕРМИ ЖЕРЕБЦІВ

1

(21) u200703567
(22) 02.04.2007
(24) 27.08.2007
(46) 27.08.2007, Бюл. № 13, 2007 р.
(72) Сушко Олексій Борисович
(73) ІНСТИТУТ ТВАРИННИЦТВА УКРАЇНСЬКОЇ
АКАДЕМІЇ АГРАРНИХ НАУК
(57) Пристрій для кріоконсервації сперми жеребців, що складається із посудини Дюара з термоізолюючою кришкою, заповненої рідким азотом, який **відрізняється** тим, що в термоізолюючу кришку вмонтовано термоблоки, причому так, що їх верхній край знаходиться над рівнем термоізолюючої

2

кришки, а нижній край можна занурювати безпосередньо у порожнину посудини Дюара у рідкий азот на певну глибину, при цьому кожний термоблок являє собою металеву циліндричну герметично закрити знизу і відкрити зверху камеру, з вбудованою коаксіально розташованою трубкою з відкритими верхнім і нижнім кінцями для забезпечення можливості фонтанного викиду через неї дрібно-розпиленого азоту всередину камери, кожна камера оснащена кришкою з центральним отвором для забезпечення можливості її закриття на певному етапі процесу кріоконсервації і підйомником для опускання-виймання спермодоз.

Корисна модель відноситься до галузі сільськогосподарства, зокрема до кріоконсервації сперми плідників, переважно жеребців.

Відоме обладнання для класичної технології кріоконсервації сперми жеребців у формі відкритих гранул, вперше застосоване Nagaze, H. et al. (1966), що являє собою блоки сухого льоду або охолоджені фторопластові пластини, з лунками в які вноситься сперма. Але таке обладнання не забезпечує високих санітарно-технологічних якостей сперми, що заготовляється, і тому при відтворенні коней в теперішній час широко не застосовується.

Відоме обладнання для заморожування сперми жеребців в камерах з активною подачею холодного газообразного азоту [Catalogue Minitub Equine. Insemination Artificielle, 2002]. Сперма розфасована у пайєти (полімерні трубки) розміщується на спеціальних штапиках у середині камер куди періодично вприскується порція парів азоту. Недоліком такого технологічного підходу є необхідність постійного автоматичного контролю температури в камері для заморожування, потреба її періодичного підтримання шляхом порційної подачі носія холоду та постійна примусова конвенція парів азоту для їх рівномірного розподілу між спермодозами.

Найбільш близьким є пристрій для заморожування сперми безпосередньо у порожнині посудини Дюара в парах над поверхнею зрідженого азоту, розроблений Всеросійським науково-дослідним

інститутом конярства [Рекомендации по замораживанию и длительному хранению в жидком азоте спермы жеребцов-производителей, Всесоюзный научно-исследовательский институт коневодства, 1978].

Пристрій, використовується при кріоконсервації сперми жеребців розфасованої у алюмінієві пакети (плоскі алюмінієві труби). Він вибраний нами в якості прототипу. Пристрій складається із пінопластового поплавка, утримувача (металевого сита), металевого кільця - випарювана та посудини Дюара з зрідженим азотом. Алюмінієві пакети зі спермою розміщують на металевому ситі, яке в свою чергу розміщується на пінопластовому поплавку. Поплавки з металевим ситом і розфасованою у пакети спермою переносять на поверхню зрідженого азоту. Кільце-випарювач опускають у зріджений азот для збільшення інтенсивності випарювання останнього. Після цього закривають посудину Дюара кришкою. Для заморожування використовують посудини Дюара 50, 30, 20 літрового об'єму. Конструкція дозволяє автоматично підтримувати сперму у парах на відстані 20 мм від поверхні зрідженого азоту незалежно від його рівня у посудині. Час витримки сперми у парах азоту складає не менше 5 хвилин, після чого сперму переносять у кріосховище безпосередньо у зріджений азот для зберігання.

Достоїнством пристрою є простота застосування, можливість використання в умовах пунктів

(13) U
(11) 25823
(19) UA

штучного осіменіння в кінних заводах. Недоліком обладнання є пристосованість для заморожування сперми тільки у алюмінієвих пакетах. Крім того у парах азоту температура може суттєво варіювати, що частково пояснює різноякісність спермодоз та не завжди стабільні результати заморожування. Для реалізації методу необхідно мати кріогенні посудини достатньо великого об'єму, потребує значних витрат зрідженого азоту, що може створювати додаткові складнощі при експедиційному характері виконання робіт.

В основу корисної моделі положено завдання підвищення ефективності методу кріоконсервації сперми жеребців.

Поставлена завдання вирішується шляхом застосування заморожувача для сперми жеребців, який складається із посудини Д'юару з термоізолюючою кришкою, заповненої рідким азотом і відрізняється тим, що в термоізолюючу кришку вмонтовано термоблоки, при чому так, що їх верхній край знаходиться над рівнем термоізолюючої кришки, а нижній край можливо занурювати безпосередньо у порожнину посудини Д'юару у рідкий азот на певну глибину, при цьому кожний термоблок являє собою металеву циліндричну герметично закрити знизу і відкриті зверху камеру, з вбудованою коаксіально розташованою трубкою з відкритими верхнім і нижнім кінцями для можливості фонтанного викиду через неї дрібно розпиленого азоту в середину камери, кожна камера знаряджена кришкою з центральним отвором для можливості її закриття на певному етапі процесу кріоконсервації і підйомником для опускання-виймання спермодоз.

Даний пристрій апробовано в 2003-2006 роках на спермі жеребців заводських порід Харківського, Лозівського (Харківська область), Дібрівського (Полтавська область) кінних заводів та на спермі жеребців поні Харківського державного зоологічного парку (м. Харків).

Принципово можливо створення різних модифікацій пристрою, що відрізняються одна від однієї кількістю термоблоків (камер), та відповідно діаметром горловини і об'ємом посудини з якою вони використовуються. Нами випробувано модифікацію з трьома камерами на базі посудини Д'юару об'ємом 3 л з горловиною діаметром 100мм (фіг.). Такий пристрій являє собою портативний варіант заморожування для кріоконсервації спермодоз в формі шприц-тюб або інших закритих упаковках. Модифікація розрахована на одночасне заморожування одного технологічно-підготовленого еякуляту жеребця.

Як зазначалось вище, термоблоки являють собою металеві циліндричні камери 1, герметично закриті знизу і відкриті зверху для розміщення шприц-тюб 2. В центрі кожної камери коаксіально розташована трубка 3, через канал якої забезпечується фонтанна подача розпиленого азоту на початку процесу заморожування. Термоблоки змонтовані у термоізоляційній пробці 4, яка забезпечує занурення їх у порожнину посудини Д'юару 5 на певну глибину. Шприц-тюби 2 зі спермою жеребця (спермодози) розташовуються на дні камер по периферії в вертикальному положенні. Таким чи-

ном, спермодози при заморожуванні знаходяться між стінкою камери 1 і стінкою трубки 3. Для доставки їх на дно камери та видалення звідти в порожнині камер встановлені підйомники 6, на ручки яких насаджено кришки 7 для закриття камер. Кришки 7 мають центральні відтвори по діаметру трубок 3 для можливості закривання камери на певному етапі заморожування. Контроль температури здійснюється за допомогою електронного приладу з рідкокристалічним екраном 8 і термопарою 9, який фіксується на стійці 10.

Безпосередньо робота з приладом складається з наступних операцій. Посудина Д'юару 5 заливается на 2/3 свого об'єму зрідженим азотом. Термоблоки охолоджуються до температури +2...+4°C. Після чого, використовуючи підйомники 6 у нижню частину камері плавно закладають шприц-тюби 2. Термоблоки зі спермодозами вносять у порожнину посудини Д'юару 5 та занурюють у зріджений азот. Термоізоляційна кришка 4 при цьому закриває горловину посудини Д'юару 5. Завдяки різниці температури певна кількість розпиленого азоту в фонтаноподібно викидається через канали трубок 3 в середину камери та попадає безпосередньо на зовнішню оболонку шприц-тюб 2. По закінченню викиду азоту, через 1-2 хвилини, камери 1 закривають кришками 7. Після цього доступ холоду до шприц-тюб (теплообмін) забезпечується з периферії через стінки камер 1 та з центру через стінки трубок 3.

Процес заморожування до температури мінус 70°C триває 15 хвилин. Після 15-25 хвилин шприц-тюби 2 з замороженою спермою виймають за допомогою підйомників 6 та переносять у безпосередньо у зріджений азот (кріосховище).

Позитивний ефект досягається за рахунок рівномірного доступу холоду при заморожуванні спермодоз, шляхом розташування термоблоків безпосередньо у рідкій фазі азоту, де розбіг температур мінімальний (на різницю від парів азоту), та за рахунок зрошування оболонок спермодоз при фонтанному викиді дрібно-розпиленого азоту в камери термоблоків.

Динаміка зниження температури спермодоз у формі шприц-тюб об'єм 5мл при застосуванні запропонованого пристрою для заморожування представлена нижче (графік 1). Заморожування сперми жеребця до температури мінус 10°C проходить в повільному режимі 2,0°C/хв., що забезпечує поступовий процес деїдратації та попереджає внутрішньоклітинну кристалізацію. Від температури мінус 10°C до мінус 70°C заморожування відбувається в прискореному режимі 7,0-10,0°C/хв., що зменшує час негативного впливу високої концентрації солей, яка виникає по мірі кристалізації води, на спермії.

Приклад 1. Ефективність роботи пристрою показано випробуванням на спермі жеребців заводських порід та жеребців поні. Результати випробувань заморожування сперми жеребців наведені у таблиці. При застосуванні розробленого пристрою досягнуто відносно високих результатів: середня рухливість сперміїв після деконсервації, склала $3,45 \pm 0,22$ бали (або 34,5% з прямолінійно-поступовим рухом) для спермопродукції, що на-

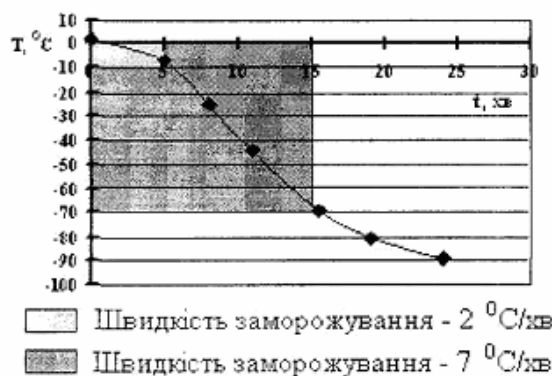
правлена в кріобанк для тривалого зберігання (при відборі нативної сперми для заморожування з мінімальним показником рухливості 5 балів (або 50%). Цей показник значно перевершує мінімальні вимоги до замороженої сперми, якими передбачено мінімальний рівень рухливості деконсервованої

сперми - 2,5 бали (або 25%). Кріорезистентність або збереженість статевих клітин після кріоконсервації (співвідношення кількості спермій з прямо-лінійно-поступовим рухом після заморожування і до заморожування виражене у відсотках) при використанні розробленого пристрою склала 56,1%.

Таблиця

Результати випробувань розробленого пристрою для кріоконсервації сперми жеребців.

Місце та рік випробувань	Кількість жеребців, задіяних у випробуваннях, голів	Процент еякулятів, що витримали заморожування шт., (%)	Показники (сперми в нативному еякуляті)			Показники замороженої сперми, після деконсервації				Збереженість спермій після кріоконсервації (кріорезистентність), %
			Об'єм еякуляту	Концентрація, млн./мл	Рухливість, бали (%)	Рухливість в розрахунку по всім еякулятам, бали (%)	Рухливість в розрахунку по еякулятам, які витримали заморожування, бали (%)	Вживаність, год., при 37°C в розрахунку по всім еякулятам	Вживаність, год., при 37°C в розрахунку по еякулятам, які витримали заморожування, бали (%)	
1	2		4	5	6	7		8		9
Лозівський кінний завод (2005 рік)	5	75	41,25±4,56	110±21,54	5,88±0,30	2,63±0,41	3,17±0,25	4,13±0,48	4,42±0,51	44,7
Харківський кінний завод (2006 рік)	3	100	92,20±11,50	176±17±24	6,40±0,29	3,80±0,34	3,80±0,34	2,40±0,19	2,40±0,19	59,3
Взагалі та середньому по жеребцям заводських порід	8	69	0,85±8,70	132±15,52	6,15±0,2	3,08±0,32	3,45±0,22	3,46±0,40	3,50±0,44	56,1
Харківський зоопарк (поні 2004 рік)	1	100	11,67±4,18	117±16,67	7,33±0,3	3,17±0,44	3,17±0,44	2,50±0,50	2,50±0,50	43,2



Графік 1. Динаміка зниження температури при заморожуванні сперми жеребців в шприц-тубах в установці, розробленої конструкції

