



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **110180** (13) **C2**  
(51) МПК (2015.01)  
**A61D 19/00**  
**A61B 17/425** (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

<p>(21) Номер заявки: <b>а 2014 12788</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>28.11.2014</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: <b>25.11.2015</b></p> <p>(41) Публікація відомостей про заявку: <b>25.03.2015, Бюл.№ 6</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>25.11.2015, Бюл.№ 22</b></p>	<p>(72) Винахідник(и): <b>Ткачов Олександр Володимирович (UA)</b></p> <p>(73) Власник(и): <b>Ткачов Олександр Володимирович</b>, пр. 50-річчя ВЛКСМ, 51-б, кв. 86, м. Харків, 61120 (UA)</p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: Музика В.П. Підвищення ефективності штучного осіменіння корів та свиноматок шляхом застосування декаметоксину для санації сперми плідників / В.П. Музика, І.Є. Атаманюк, О.П. Панич, О.І. Чайковська, І.М. Кушнір // Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і Державного науково-дослідного контрольного інституту ветпрепаратів та кормових добавок. – 2013. – Вип.14. - № 3-4. – С. 86-92 Гончаренко І.В. Удосконалена технологія кріоконсервації сперми жеребців / І.В. Гончаренко, Н.П. Платонова // Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва. – Біла Церква. – 2012. - Вип.7(90). – С. 8-13 Лужных Л.Ю. Влияние различных биотехнологических факторов на качество транспортированной спермы хряков: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 06.02.01/ Л.Ю. Лужных: ГНУ ВНИИЖ Россельхозакадемии. – Дубровицы, Московская обл. - 2009 Гончаренко І. В. Використання технологічних прийомів заморожування-відтаювання сперми жеребців у малих об'ємах / І.В. Гончаренко, Н.П. Платонова // Науковий вісник «Асканія-Нова». – Вип. 5(1). – С. 227-236 Павленко Б.М. Новітні методи і техніка підвищення ефективності штучного осіменіння великої рогатої худоби: автореф. дис. ...канд. с-г. наук: 06.02.01/ Б.М. Павленко: УААН Інститут тваринництва. – Харків – 2008</p>
--	--

**(54) СПОСІБ ПІДВИЩЕННЯ ЗАПЛІДНЮВАНOSTІ КОБИЛ, В ЯКОМУ СПЕРМУ ЖЕРЕБЦІВ ВІДБИРАЮТЬ ЗА КІЛЬКІСТЮ КОЛОНІЄУТВОРЮЮЧИХ ОДИНИЦЬ БАКТЕРІЙ ГРУПИ КИШКОВОЇ ПАЛИЧКИ**

UA 110180 C2

**(57) Реферат:**

Винахід належить до способу підвищення запліднюваності кобил шляхом відбору сперми жеребців та визначення кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички у спермі, причому використовують охолоджену або відталу сперму жеребців.

Винахід належить до галузі сільського господарства, біології, ветеринарії, зоотехнії, а саме до біотехнології відтворення коней, та може використовуватись для підвищення запліднюваності кобил визначенням кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички у спермі жеребців.

У практиці відтворення тварин існує багато способів підвищення запліднюваності самиць зазвичай шляхом проведення санації порожнини матки. Для цього застосовують антибактеріальні препарати. Неконтрольоване застосування антибіотиків може призвести до появи резистентної мікрофлори. За даними літератури вихід лошат у середньому по галузі конярства України не перевищує 35,0 % [Гопка Б.М. Конярство: [підручник] / Б.М. Гопка, М.П. Хоменко, П.М. Павленко. - К.: Вища освіта, 2004. - 320 с.]. А станом на 1.01.2014 року вихід лошат в Україні не перевищував 48 %.

Існують діючі в Україні стандарти за вимогами яких у  $\text{см}^3$  нативної сперми жеребців допускається не більше 5000 колонієутворюючих одиниць бактерій та колі-титр до 0,1 (до 1:10) [ГОСТ 23681-79 Сперма жеребцов неразбавленная свежеполученная. - Москва: Изд. стандартов, 1979. - 12 с.]; у  $\text{см}^3$  відталої сперми допускається не більше 500 колонієутворюючих одиниць бактерій, та колі-титр до 0,9 [ГОСТ 24168-80 Сперма жеребцов замороженная. - Москва: Изд. стандартов, 1979. - 15 с.]. Сама ж методика визначення колі-титру описана у ГОСТ 20909.2-75 Сперма быков неразбавленная. Методы микробиологических исследований; який передбачає посів проб сперми при температурі  $37,5 \pm 0,5$  °C [ГОСТ 20909.2-75 Сперма быков неразбавленная. Методы микробиологических исследований. - Москва: Изд. стандартов, 1975. - 12 с.].

Недоліками аналогів є те, що вони не є способами підвищення запліднюваності кобил; бактерії групи кишкової палички відображаються у відносних одиницях колі-титру 0,1, 0,3 або 0,9 (або 1:10, 1:100, 1:1000) і так далі, що не дає уявлення про реальну їх кількість у спермі адже колі-титр - це найменший об'єм сперми, відображений у  $\text{см}^3$ , у якому знайшли "одну" кишкову паличку; значення колі-титру залежить від кількості пробірок або чашок Петрі, на яких зросли бактерії групи кишкової палички, а не від реальної кількості підрахованих колоній; при одному значенні колі-титру (наприклад 0,1 або 1:10) реальна кількість колоній бактерій групи кишкової палички, що зросли на чашках Петрі варіює у дуже широких межах; посіви проб термостатують при температурі  $37,5 \pm 0,5$  °C, що не враховує в повній мірі фізіологічних особливостей температури тіла коней; при визначенні колі-титру у спермі плідників відсутня формула, згідно з якою можна б було підрахувати реальну кількість бактерій групи кишкової палички, а отже аналоги не здатні встановити кількість колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички у спермі жеребців.

Отже, способи підвищення запліднюваності кобил за кількістю колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички у спермі жеребців відсутні.

В основу винаходу поставлено задачу розробити новий спосіб підвищення запліднюваності кобил за кількістю колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички у спермі жеребців, який буде забезпечувати підвищення запліднюваності кобил за рахунок використання сперми жеребців з чітким числовим значенням кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички.

Поставлена задача вирішується тим, що при розробці способу підвищення запліднюваності кобил за кількістю колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички у спермі жеребців, який включає виявлення бактерій групи кишкової палички у спермі, і згідно з запропонованим винаходом для підвищення запліднюваності кобил використовують охолоджену або відталу сперму жеребців у  $\text{см}^3$  якої не більше 250 колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички, при кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички від 250 до 3500 сперма вважається придатною для штучного осіменіння кобил, якщо сумарна кількість колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички та загальної бактеріальної забрудненості не перевищує 5000; при кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички більше 3500 у  $\text{см}^3$  сперма вважається не придатною для штучного осіменіння кобил; при цьому посіви проб сперми жеребців термостатують при температурі тіла коня  $\pm 2$  °C.

Приклад конкретного виконання

При визначенні колі-титру сперми за способом аналогів ми помітили, що колі-титр залежить не від фактичної кількості колоній бактерій, що зросли на чашці Петрі, а від кількості чашок Петрі, на яких є зростання бактерій групи кишкової палички (БГКП).

Тому ми вирішили розробити спосіб, який би давав чітку відповідь на питання щодо кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички (БГКП) у спермі жеребців і за

рахунок цього підвищував запліднюваність кобил. Розроблений спосіб полягає у наступних етапах:

1. Відбирають пробу сперми від жеребців об'ємом 1 см<sup>3</sup> або інший об'єм.
2. Проводять розбавлення проби 1:100 або 1:1000, або більше.
3. Проводять посів проб сперми на заздалегідь підготовлені чашки Петрі зі спеціальним живильним середовищем для зросту колоній бактерій групи кишкової палички (наприклад середовище Буліра, Ендо або інше) з дотриманням вимог стерильності.
4. Чашки Петрі з посівами проб сперми термостатують при температурі тіла коня  $\pm 2$  °С. Відомо, що фізіологічна температура тіла коня становить 37,5-38,5 °С, тобто посів проб сперми жеребця можна термостатувати при температурі від 35,5 до 40,5 °С.
5. Через 24 години підраховують кількість колоній бактерій групи кишкової палички і вираховують кількість їх колонієутворюючих одиниць (КУО) за загальноприйнятою формулою для підрахунку КУО:  

$$КУО = (КК \cdot РП) / (В \cdot КЧ),$$

де  
 КК - кількість підрахованих колоній,  
 РП - розведення проби сперми,  
 В - об'єм проби сперми,  
 КЧ - кількість чашок Петрі, на які проводили посів.
- Наприклад, при посіві 1 см<sup>3</sup> сперми, який розбавили 1:100 (у сто разів) на 1 (одну) чашку Петрі через 24 години було підраховано 8 колоній бактерій групи кишкової палички, отримуємо:  

$$КУО = ((8 \cdot 100) / (1 \cdot 1)) = 800.$$
6. Якщо через 24 години на чашках Петрі не зросла жодна колонія, то пробу вважають вільною від бактерій групи кишкової палички.
7. Для підвищення запліднюваності кобил використовують охолоджену або відталу сперму жеребців у см<sup>3</sup> якої не більше 250 колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички.
8. При кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички (БГКП) у см<sup>3</sup> від 250 до 3500 сперма вважається придатною для штучного осіменіння кобил якщо сумарна кількість колонієутворюючих одиниць БГКП та загальної бактеріальної забрудненості не перевищує 5000.
9. При кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички у см<sup>3</sup> більше 3500 сперма вважається непридатною і не може бути використана для штучного осіменіння кобил.
- У таблиці наведено порівняльні дані штучного осіменіння кобил залежно від різної кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички (БГКП).

Таблиця

Ефективність штучного осіменіння кобил залежно від кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички у спермі жеребців ( $M \pm m$ ,  $n=51$ )

Спосіб	БГКП у спермі		Запліднюваність кобил охолодженою спермою, %	Запліднюваність кобил відталою спермою, %
	колі-титр	КУО/см <sup>3</sup>		
Спосіб аналогу	до 0,1		80,39 $\pm$ 0,39	60,77 $\pm$ 0,77
Розроблений спосіб	до 0,1	250-3500	82,31 $\pm$ 2,31	62,70 $\pm$ 2,70
Розроблений спосіб	до 0,1	не більше 250	92,16 $\pm$ 0,15**	76,45 $\pm$ 0,45**

Примітка. \*\* -  $p < 0,01$ .

З даних таблиці 1 видно, що при використанні сперми жеребців з кількістю колонієутворюючих одиниць (КУО) бактерій групи кишкової палички (БГКП) від 250 до 3500 у см<sup>3</sup> запліднюваність кобил від охолодженої сперми підвищувалась на 1,92 %, від відталої сперми - на 1,93 %.

При проведенні штучного осіменіння кобил з використанням сперми жеребців у см<sup>3</sup> якої міститься до 250 КУО бактерій групи кишкової палички запліднюваність охолодженої сперми підвищувалась на 11,77 % ( $p < 0,01$ ), відталої сперми - на 15,68 % ( $p < 0,01$ ).

Таким чином використання розробленого нового способу підвищення запліднюваності кобил за кількістю колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички (БГКП) у спермі

жеребців уперше дозволяє чітко встановити кількість колонієутворюючих одиниць (КУО) бактерій групи кишкової палички у спермі жеребців та підвищити запліднюваність кобил охолодженою спермою - на 11,77 % ( $p < 0,01$ ), відталою спермою - на 15,68 % ( $p < 0,01$ ).

5

#### ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

Спосіб підвищення запліднюваності кобил, в якому сперму жеребців відбирають за кількістю колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички, який **відрізняється** тим, що для підвищення запліднюваності кобил використовують охолоджену або відталу сперму жеребців, у см<sup>3</sup> якої не більше 250 колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички; при кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички від 250 до 3500 сперма вважається придатною для штучного осіменіння кобил, якщо сумарна кількість колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички та загальної бактеріальної забрудненості не перевищує 5000; при кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички більше 3500 у см<sup>3</sup> сперма вважається не придатною для штучного осіменіння кобил; при цьому посіви проб сперми жеребців термостатують при температурі тіла коня  $\pm 2$  °С.

---

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601