



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **112498** (13) **C2**  
(51) МПК (2016.01)  
**A61D 19/00**  
**A61D 19/02** (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

<b>(21)</b> Номер заявки: <b>а 2015 06938</b>	<b>(72)</b> Винахідник(и): <b>Ткачов Олександр Володимирович (UA)</b>
<b>(22)</b> Дата подання заявки: <b>13.07.2015</b>	<b>(73)</b> Власник(и): <b>Ткачов Олександр Володимирович,</b> пр. 50-річчя ВЛКСМ, 51-б, кв. 86, м. Харків, 61120 (UA)
<b>(24)</b> Дата, з якої є чинними права на винахід: <b>12.09.2016</b>	<b>(56)</b> Перелік документів, взятих до уваги експертизою: UA 98059 U, 10.04.2015 Лужных Л. Ю. Влияние различных биотехнологических факторов на качество транспортированной спермы хряков: автореф. дис... канд. биол. наук : 06.02.01 / Л. Ю. Лужных. –Дубровицы, 2009. – 18 с. Меликова Ю. Н. Повышение эффективности искусственного осеменения свиней с использованием биологически активных веществ : автореферат дис... канд. ветеринар. наук : 06.02.06 / Ю. Н. Меликова. – Краснодар, 2010. – 18 с. Музыка В.П. Підвищення ефективності штучного осіменіння корів та свиноматок шляхом застосування декаметоксину для санації сперми плідників / В.П. Музыка, 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 Федотов С. В., Борунова С. М., Ромидонов А. Б. Эффективность санирующих препаратов, применяемых в биотехнике репродукции животных // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2014. – №. 6. – С. 116-119
<b>(41)</b> Публікація відомостей про заявку: <b>12.01.2016, Бюл.№ 1</b>	
<b>(46)</b> Публікація відомостей про видачу патенту: <b>12.09.2016, Бюл.№ 17</b>	

**(54) СПОСІБ ПІДВИЩЕННЯ ЗАПЛІДНЮВАНOSTІ СВИНОМАТОК, В ЯКОМУ СПЕРМУ КНУРІВ ВІДБИРАЮТЬ ЗА КІЛЬКІСТЮ КОЛОНІЄУТВОРЮЮЧИХ ОДИНИЦЬ БАКТЕРІЙ ГРУПИ КИШКОВОЇ ПАЛИЧКИ У СПЕРМІ КНУРІВ****(57) Реферат:**

Винахід належить до способу підвищення запліднюваності свиноматок, в якому сперму кнурів відбирають за кількістю колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички у спермі кнурів. Для підвищення запліднюваності свиноматок використовують нативну, свіжорозбавлену, охолоджену або відталу сперму кнурів, у см<sup>3</sup> якої не більше 150 колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички. При кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички від 150 до 1000 сперма вважається придатною для парування та штучного

**UA 112498 C2**

осіменіння свиноматок, якщо сумарна кількість колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички та загальної бактеріальної забрудненості не перевищує 1000. При кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички 1000 і більше у см<sup>3</sup> сперма вважається непридатною для парування та штучного осіменіння свиноматок. Посіви проб сперми кнурів термостатують при температурі тіла свиней  $\pm 2$  °C.

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

5 В Україні в останні роки у практиці відтворення свиней все ширше застосовується штучне осіменіння свиноматок. Проте більшість свиноматок осіменяють свіжорозбавленою або охолодженою спермою кнурів. Застосування заморожено-відталої сперми кнурів обмежено низькою кріорезистентністю їх сперми [Насибов М.Н. Эффективность сочетанного применения стимуляторов потенции и повышение качества спермы у хряков-производителей / М.Н. Насибов, В.С. Авдеенко, Д.В. Кривенко // Сельскохозяйственная биология. - 2008. - № 6. - С. 82-86], що може бути пов'язано з недостатньо дослідженим питанням впливу мікроорганізмів на запліднюючу здатність і біотехнологічну придатність до кріоконсервування.

10 Існує багато способів підвищення запліднюваності самиць зазвичай шляхом проведення ветеринарно-санітарних заходів з широким застосуванням антибіотиків, антисептиків тощо [Інструкція зі штучного осіменіння свиней, затверджена наказом Міністерства аграрної політики України 13 грудня 2002 року сперміях; №395 і зареєстрована в Міністерстві Юстиції України 7 лютого 2003 року за №104/7425 (Сайт міністерства аграрної політики України)]. У результаті чого з'являється резистентна мікрофлора до застосовуваних антибактеріальних речовин. Іншим шляхом підвищення запліднюваності свиноматок може бути розробка нових середовищ, які  
20 підвищують збереженість мембран і акросом спермій кнурів і за рахунок цього підвищується запліднюваність, наприклад середовище Екосперм [Патент України на корисну модель № 29220 Середовище для розбавлення і зберігання сперми кнурів "Екосперм" / А.Р. Корбецький, М.М. Шаран, С.Б. Корняк та інші - А61D 19/02 (2006.01); завл. 31.07.2007; опубл. 10.01.2008]. Є й інші шляхи підвищення запліднюваності свиноматок від сперми кнурів, наприклад покращення  
25 раціонів годівлі, умов утримання, визначення овуляції для оптимального часу осіменіння тощо. Але, способи підвищення запліднюваності свиноматок за кількістю колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички у спермі кнурів відсутні.

Існує стандарт для нативної сперми кнурів, за яким у см<sup>3</sup> сперми допускається не більше 1000 колонієутворюючих одиниць загальної бактеріальної забрудненості та колі-титр до 0,1 (до 1:10) [ГОСТ Р 54638-2011 Сперма хряков свежеполученная разбавленная. - Москва: Стандартиформ, 2013. - 12 с.].

Недоліками аналога є те, що він не є способом підвищення запліднюваності свиноматок; 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  
35 адже колі-титр - це найменший об'єм сперми, відображений у см<sup>3</sup>, 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; значення колі-  
40 титру не може бути оброблено статистично; при визначенні колі-титру у спермі плідників відсутня формула, згідно з якою можна б було підрахувати реальну кількість бактерій групи кишкової палички, а отже аналог не здатні встановити кількість колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички у спермі кнурів.

Найбільш близьким технічним рішенням до заявленого винаходу є спосіб підвищення  
45 запліднюваності кобил за кількістю колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички у спермі жеребців, який передбачає підвищення запліднюваності кобил використанням охолодженої або відталої сперми жеребця, у якій до 250, або від 250 до 3500 колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички [Патент України на корисну модель № 98059 Спосіб підвищення запліднюваності кобил за кількістю колонієутворюючих  
50 одиниць бактерій групи кишкової палички / О.В. Ткачов. - МПК А61D 19/00; 19/02 (2015.01); завл.04.11.2014; опубл. 10.04.2015, Бюл. № 7].

Недоліками прототипу є те, що він не може бути використаний на свиноматках, оскільки розроблений для коней; не може бути використаний для підвищення запліднюваності свиноматок оскільки допустимий рівень кількості колонієутворюючих одиниць загальної  
55 бактеріальної забрудненості для сперми кнурів не перевищує 1000 проти 5000 для сперми жеребців; не встановлює допустимий рівень кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички у нативній, свіжорозбавленій, охолодженій та відталій спермі кнурів, який буде підвищувати запліднюваність свиноматок; не враховує фізіологічну температуру тіла свиней при проведенні посівів проб сперми.

В основу винаходу поставлено задачу розробити новий спосіб підвищення запліднюваності свиноматок за кількістю колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички у спермі кнурів, який буде забезпечувати підвищення запліднюваності свиноматок за рахунок використання нативної, свіжорозбавленої, охолодженої та відталої сперми кнурів з чітким

числовим значенням кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички, який буде враховувати фізіологічну температуру тіла свиней при проведенні посівів проб сперми.

Поставлена задача вирішується тим, що при розробці способу підвищення запліднюваності свиноматок за кількістю колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички у спермі кнурів, який включає підвищення запліднюваності за кількістю колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички у спермі, згідно із запропонованим винаходом, для підвищення запліднюваності свиноматок використовують нативну, свіжорозбавлену, охолоджену або відталу сперму кнурів, у  $\text{см}^3$  якої не більше 150 колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички, при кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички від 150 до 1000 сперма вважається придатною для парування та штучного осіменіння свиноматок, якщо сумарна кількість колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички та загальної бактеріальної забрудненості не перевищує 1000; при кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички 1000 і більше у  $\text{см}^3$  сперма вважається непридатною для парування та штучного осіменіння свиноматок; при цьому посіви проб сперми кнурів термостатують при температурі тіла свиней  $\pm 2^\circ\text{C}$ .

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 кнурів і за рахунок цього підвищував запліднюваність свиноматок. Розроблений спосіб полягає у наступних етапах:

1. Відбирають пробу сперми від кнурів об'ємом  $1\text{ см}^3$ , або інший об'єм.

2. Проводять розбавлення проби 1:100 або 1:1000 або більше.

3. Виконують 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 свиней  $\pm 2^\circ\text{C}$ . Відомо, що фізіологічна температура тіла свиней становить  $37,0\text{--}40,0^\circ\text{C}$ , тобто посів проб сперми кнура можна термостатувати при температурі від  $35,0$  до  $42,0^\circ\text{C}$ .

5. Через 24 години підраховують кількість колоній бактерій групи кишкової палички і вираховують кількість їх колонієутворюючих одиниць (КУО) за загальноприйнятою формулою для підрахунку КУО:

$\text{КУО} = (\text{КК} \cdot \text{РП}) / (\text{В} \cdot \text{КЧ})$ , 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  $1\text{ см}^3$  сперми, який розбавили 1:100 (у сто разів) на 1 (одну) чашку Петрі через 24 години було підраховано 5 колоній бактерій групи кишкової палички, отримуємо  $\text{КУО} = ((5 \cdot 100) / (1 \cdot 1)) = 500$ .

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 свиноматок використовують нативну, свіжорозбавлену, охолоджену або відталу сперму кнурів, у  $\text{см}^3$  якої не більше 150 колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички.

8. При кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички (БГКП) у  $\text{см}^3$  від 150 до 1000 сперма вважається придатною для штучного осіменіння свиноматок, якщо сумарна кількість колонієутворюючих одиниць БГКП та загальної бактеріальної забрудненості не перевищує 1000.

9. При кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички у  $\text{см}^3$  сперми більше 1000 сперма вважається непридатною і не може бути використана для парування та штучного осіменіння свиноматок.

У таблиці 1 наведено порівняльні дані парування, штучного осіменіння свиноматок залежно від різної кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички (БГКП).

Таблиця

Ефективність парування та штучного осіменіння свиноматок залежно від кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички у спермі кнурів ( $M \pm m$ ,  $n=32$ )

Спосіб	БГКП у спермі		Запліднюваність свиноматок від парування, %	Запліднюваність свиноматок свіжорозбавленою та охолодженою спермою, %	Запліднюваність свиноматок відталою спермою, %
	колі-титр	КУО/см <sup>3</sup>			
Спосіб аналога	до 0,1		69,38±0,63	74,17±0,84	41,88±1,88
Розроблений спосіб	до 0,1	150-1000	71,04±2,29	77,50±2,50	48,34±1,67
Розроблений спосіб	до 0,1	не більше 150	75,94±4,06	80,63±0,63*	54,79±1,46*

Примітка. \* -  $p < 0,05$

З даних таблиці видно, що при використанні сперми кнурів з кількістю колонієутворюючих одиниць (КУО) бактерій групи кишкової палички (БГКП) від 150 до 1000 у см запліднюваність свиноматок від парування зросла на 1,66 %, від свіжорозбавленої та охолодженої сперми підвищилась на 3,33 %, від відталої сперми - на 6,46 %.

При проведенні парування та штучного осіменіння свиноматок з використанням сперми кнурів, у см<sup>3</sup> якої міститься до 150 КУО бактерій групи кишкової палички, запліднюваність від парування зросла на 6,56 %, від розбавленої та охолодженої сперми підвищувалась на 6,46 % ( $p < 0,05$ ), від відталої сперми - на 12,91 % ( $p < 0,05$ ).

Таким чином використання розробленого нового способу підвищення запліднюваності свиноматок за кількістю колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички (БГКП) у спермі кнурів уперше дозволяє чітко встановити кількість колонієутворюючих одиниць (КУО) бактерій групи кишкової палички у спермі кнурів та підвищити запліднюваність свиноматок при паруванні - на 6,56 %, від свіжорозбавленої та охолодженої сперми - на 6,46 % ( $p < 0,05$ ), від відталої сперми - на 12,91 % ( $p < 0,05$ ).

#### ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

Спосіб підвищення запліднюваності свиноматок, в якому сперму кнурів відбирають за кількістю колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички у спермі кнурів, який **відрізняється** тим, що використовують нативну, свіжорозбавлену, охолоджену або відталу сперму кнурів, у см<sup>3</sup> якої не більше 150 колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички, при кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички від 150 до 1000 сперму вважають придатною для парування та штучного осіменіння свиноматок, якщо сумарна кількість колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички та загальної бактеріальної забрудненості не перевищує 1000, при кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички 1000 і більше у см<sup>3</sup> сперму вважають непридатною для парування та штучного осіменіння свиноматок, при цьому посіви проб сперми кнурів термостатують при температурі тіла свиней  $\pm 2$  °C.

Комп'ютерна верстка І. Скворцова

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

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