



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **109739** (13) **U**
(51) МПК (2016.01)
A61D 19/00
A61D 19/02 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки:	u 2015 10748	(72) Винахідник(и):	Ткачов Олександр Володимирович (UA)
(22) Дата подання заявки:	04.11.2015	(73) Власник(и):	Ткачов Олександр Володимирович,
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	12.09.2016		пр. 50-річчя ВЛКСМ, 51-б, кв. 86, м. Харків, 61120 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	12.09.2016, Бюл.№ 17		

(54) СПОСІБ ПІДВИЩЕННЯ ЗАПЛІДНЮВАНOSTІ ССАВЦІВ, В ЯКОМУ ЇХ СПЕРМУ ВІДБИРАЮТЬ ЗА КІЛЬКІСТЮ КОЛОНІЄУТВОРЮЮЧИХ ОДИНИЦЬ БАКТЕРІЙ ГРУПИ КИШКОВОЇ ПАЛИЧКИ

(57) Реферат:

Спосіб підвищення запліднюваності ссавців, в якому їх сперму відбирають за кількістю колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички включає підвищення запліднюваності за кількістю колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички у спермі. Для підвищення запліднюваності жуйних, собак, кролів та інших видів ссавців використовують нативну, свіжорозбавлену, охолоджену або відталу сперму, у см³ якої не більше 300 колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички, при кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички від 300 до 1500, сперма вважається придатною для парування та штучного осіменіння жуйних, собак, кролів та інших видів ссавців, якщо сумарна кількість колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички та загальної бактеріальної забрудненості не перевищує 5000; при кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички 1500 і більше у см³, сперма вважається непридатною для парування та штучного осіменіння самиць жуйних, собак, кролів та інших видів ссавців; при цьому посіви проб сперми ссавців термостатують при температурі їх тіла ± 3 °C.

UA 109739 U

Корисна модель належить до галузі біології, сільського господарства, ветеринарії та зоотехнії, а саме до біотехнології відтворення ссавців, та може використовуватись для підвищення запліднюваності самиць жуйних, собак, кролів та інших видів ссавців визначенням кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички у спермі самців.

Існує дуже багато способів підвищення запліднюваності рогатої худоби, псів, кролів та самиць інших видів ссавців. Наприклад в Україні існує сім способів підвищення запліднюваності корів. Принцип дії цих способів полягає від впливу на біологічно активні точки тварин [Патент № 5154 України на корисну модель МПК А61D 19/00 (2006.01). Спосіб підвищення запліднюваності корів / В.І. Барабаш, О.І. Гармаш; завл. 12.07.2004; опубл. 15.02.2005] до наявності позитивного енергетичного балансу [Патент № 9518 України на корисну модель МПК А61D 19/00 (2006.01). Спосіб підвищення запліднюваності корів / В.І. Барабаш, О.І. Гармаш; завл. 11.08.2004; опубл. 17.10.2005], а також за рахунок використання різноманітних підходів впливу на організм самиць до та після осіменіння тощо.

Існує багато способів підвищення запліднюваності самиць ссавців проведенням ветеринарно-санітарних обробок з широким застосуванням антибіотиків, антисептиків тощо [Інструкція зі штучного осіменіння свиней № 395: затверджена наказом Міністерства аграрної політики України 13 грудня 2002 року / зареєстрована в Міністерстві Юстиції України. - 7 лютого 2003 року, № 104/7425. - Режим доступу: сайт міністерства аграрної політики України.]. У результаті таких підходів може з'явитися резистентна мікрофлора до застосовуваних антибактеріальних речовин.

Існує спосіб підвищення запліднюваності овець використанням тканинного препарату з плаценти [Патент № 89155 України на корисну модель МПК А61D 19/00 (2006.01). Спосіб підвищення запліднюваності овець / І.В. Лобачова, О.С. Жулінська; завл. 18.11.2013; опубл. 10.04.2014], головним недоліком якого є відсутність урахування обсіменіння сперми баранів, що використовується для штучного осіменіння.

Іншою групою способів підвищення запліднюваності самиць ссавців може бути розробка нових середовищ, які підвищують збереженість мембран і акросом спермій самців і за рахунок цього підвищується запліднюваність, наприклад середовище Екосперм [Патент № 29220 України на корисну модель МПК А61D 19/02 (2006.01). Середовище для розбавлення і зберігання сперми кнурів "Екосперм" / А.Р. Корбецький, М.М. Шаран, С.Б. Корнят та інші; завл. 31.07.2007; опубл. 10.01.2008]. Є й інші шляхи підвищення запліднюваності самиць ссавців, наприклад покращенням якості годівлі, вдосконаленням умов утримання, своєчасним визначенням овуляції для оптимального вибору часу осіменіння тощо. Але способи підвищення запліднюваності жуйних, псів, кролів та інших ссавців, в якому сперму самців відбирають за кількістю колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички відсутні.

Існує стандарт для нативної сперми баранів, за яким у см^3 сперми допускається не більше 5000 колонієутворюючих одиниць загальної бактеріальної забрудненості та колі-титр до 0,1 (до 1:10) [ГОСТ 26029-83 Сперма баранов неразбавленная свежеполученная. - М.: Стандартинформ, 1984. - 6 с.]. Аналогічні вимоги висуваються до сперми бугаїв, кролів, псів та інших до сперми інших видів ссавців.

Недоліками аналога є те, що він не є способом підвищення запліднюваності широкого кола самиць ссавців; 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 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; значення колі-титру не може бути оброблено статистично; при визначенні колі-титру у спермі ссавців 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 самців ссавців.

Найбільш близьким технічним рішенням до заявленої корисної моделі є спосіб підвищення запліднюваності кобил за кількістю колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички у спермі жеребців, який включає 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 № 98059 України на корисну модель МПК А61D 19/00; 19/02 (2015.01). Спосіб підвищення запліднюваності кобил за кількістю колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички / О.В. Ткачов; завл. 04.11.2014; опубл. 10.04.2015, Бюл. № 7].

Недоліками прототипу є те, що він не може бути використаний для підвищення запліднюваності жуйних, собак, кролів та інших видів ссавців оскільки розроблений для коней; не встановлює допустимий рівень кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички у нативній, свіжорозбавленій, охолодженій та відталій спермі для самців жуйних, собак, кролів та інших видів ссавців; не враховує фізіологічну температуру тіла жуйних, собак, кролів та інших видів ссавців при проведенні посівів проб сперми.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити новий спосіб підвищення запліднюваності ссавців, в якому їх сперму відбирають за кількістю колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички, який буде забезпечувати підвищення запліднюваності самиць ссавців за рахунок використання нативної, свіжорозбавленої, охолодженої та відталої сперми самців ссавців з чітким числовим значенням кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички, який буде враховувати фізіологічну температуру тіла жуйних, собак, кролів та інших видів ссавців при проведенні посівів проб сперми.

Поставлена задача вирішується тим, що при розробці способу підвищення запліднюваності ссавців, в якому їх сперму відбирають за кількістю колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички, який включає підвищення запліднюваності за кількістю колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички у спермі, і, згідно із корисною моделлю, для підвищення запліднюваності жуйних, собак, кролів та інших видів ссавців використовують нативну, свіжорозбавлену, охолоджену або відталу сперму, у см³ якої не більше 300 колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички, при кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички від 300 до 1500, сперма вважається придатною для парування та штучного осіменіння жуйних, собак, кролів та інших видів ссавців, якщо сумарна кількість колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички та загальної бактеріальної забрудненості не перевищує 5000; при кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички 1500 і більше у см³ сперма вважається непридатною для парування та штучного осіменіння самиць жуйних, собак, кролів та інших видів ссавців; при цьому посіви проб сперми ссавців термостатують при температурі їх тіла $\pm 3^{\circ}\text{C}$.

Приклад конкретного виконання.

При визначенні колі-титру сперми ссавців за діючими державними стандартами 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 було вирішено розробити спосіб, який би давав чітку відповідь на питання щодо кількості колонієутворюючих одиниць БГКП у спермі ссавців і за рахунок цього підвищував запліднюваність. Розроблений спосіб полягає у наступних етапах:

1. Відбирають пробу сперми від жуйних, псів, кролів або інших видів ссавців об'ємом 1 см³, 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 відповідного виду ссавців $\pm 3^{\circ}\text{C}$. Відомо, що фізіологічна температура тіла корів становить $37,5\text{--}39,5^{\circ}\text{C}$, тобто посів проб сперми бугая можна термостатувати при температурі від $34,5$ до $42,5^{\circ}\text{C}$.

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

$\text{КУО} = (\text{КК} \times \text{РП}) / (\text{В} \times \text{КЧ})$, 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 см³ сперми, який розбавили 1:100 (у сто разів) на 1 (одну) чашку Петрі через 24 години було підраховано 3 колонії бактерій групи кишкової палички, отримуємо $\text{КУО} = ((3 \times 100) / (1 \times 1)) = 300$.

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 жуйних, собак, кролів та інших видів ссавців використовують нативну, свіжорозбавлену, охолоджену або відталу сперму самців, у см³ якої не більше 300 колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички.

8. При кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички (БГКП) у см³ від 300 до 1500, сперма вважається придатною для штучного осіменіння самиць ссавців, якщо сумарна кількість колонієутворюючих одиниць БГКП та загальної бактеріальної забрудненості не перевищує 5000.

9. При кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички у см³ сперми більше 1500, сперма вважається непридатною і не може бути використана для парування та штучного осіменіння самиць ссавців.

У таблиці наведено порівняльні дані штучного осіменіння самиць ссавців на прикладі жуйних, псів та кролів залежно від різної кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички (БГКП).

Таблиця

Ефективність штучного осіменіння відталою спермою самиць ссавців залежно від кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички у спермі самців (М±м)

Запліднюваність самиць ссавців від осіменіння, % (кількість самиць)	Загальноприйнятий спосіб осіменіння	Розроблений спосіб (колі-титр до 0,1; КУО БГКП 300-1500 КУО/см ³)	Розроблений спосіб (колі-титр до 0,1; КУО БГКП до 300 КУО/см ³)
Запліднюваність жуйних, % (42)	72,62±1,19	77,40±1,20	82,14±1,19*
Запліднюваність собак, % (21)	54,76±2,38	61,90±0,00	69,05±2,38
Запліднюваність кролів, % (36)	51,39±1,39	56,95±1,39	62,50±1,39*

Примітка * - p < 0,05.

З даних таблиці видно, що при використанні сперми жуйних з кількістю колонієутворюючих одиниць (КУО) бактерій групи кишкової палички (БГКП) від 300 до 1500 у см³ запліднюваність самиць зросла на 4,78 %, при кількості БГКП до 300 КУО/см³ - на 9,52 % (p < 0,05).

При проведенні осіменіння при використанні сперми собак з кількістю колонієутворюючих одиниць (КУО) бактерій групи кишкової палички (БГКП) від 300 до 1500 у см³ запліднюваність самиць зросла на 7,14 %, при кількості БГКП до 300 КУО/см³ - на 14,29 %.

Результативність осіменіння кролів при використанні їх сперми з кількістю колонієутворюючих одиниць (КУО) бактерій групи кишкової палички (БГКП) від 300 до 1500 у см³ запліднюваність самиць зросла на 5,56 %, при кількості БГКП до 300 КУО/см³ - на 11,11 % (p < 0,05).

Таким чином використання розробленого нового способу підвищення запліднюваності ссавців, в якому їх сперму відбирають за кількістю колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички (БГКП) уперше дозволяє чітко встановити кількість колонієутворюючих одиниць (КУО) бактерій групи кишкової палички у спермі жуйних, псів, кролів та інших видів ссавців та підвищити запліднюваність самиць при осіменінні на 9-14 % (p < 0,05).

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб підвищення запліднюваності ссавців, в якому їх сперму відбирають за кількістю колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички, який включає підвищення запліднюваності за кількістю колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички у спермі, який **відрізняється** тим, що для підвищення запліднюваності жуйних, собак, кролів та інших видів ссавців використовують нативну, свіжорозбавлену, охолоджену або відталу сперму, у см³ якої не більше 300 колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички, при кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички від 300 до 1500, сперма вважається придатною для парування та штучного осіменіння жуйних, собак, кролів та інших видів ссавців, якщо сумарна кількість колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички та загальної бактеріальної забрудненості не перевищує 5000; при кількості колонієутворюючих одиниць бактерій групи кишкової палички 1500 і більше у см³, сперма вважається непридатною для парування та штучного осіменіння самиць жуйних, собак, кролів та інших видів ссавців; при цьому посіви проб сперми ссавців термостатують при температурі їх тіла ±3 °С.

Комп'ютерна верстка Т. Вахричева

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