



УКРАЇНА

У_А«.,_.I3138

03)

C1

(5i)s A 61 D 19/02

ДЕРЖАВНЕ
ПАТЕНТНЕ
ВІДОМСТВООПИС ДО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІД

(54) СЕРЕДОВИЩЕ ДЛЯ КОНСЕРВУВАННЯ СПЕРМИ ТА СПОСІБ ЙОГО ПРИГОТУВАННЯ

1

(20)94322092, 24.06.93

(21)4948632/SU

(22)08.04.91

(24)28.02.97

(46)28.02.97. Бюл. № 1

(56) Осташко Ф.И. Глубокое замораживание и длительное хранение спермы производи-
телей. Киев. "Урожай", 1968, с. 100-101.(72) Осташко Федір Іванович, Павленко Ми-
хайло Петрович, Павленко Людмила Мико-
лаївна(73) Міжнародна науково-виробнича
асоціація "Ембріон" (UA)(57) 1. Среда для консервирования спермы
животных, включающая раствор углеводов,
глицерин и нативный желток, о т л и ч а ю
щ а я с я тем, что среда дополнительно со-держит 33 % раствор перекиси водорода при
следующем соотношении компонентов, мл;

Раствор углеводов 63-75

Глицерин 5-7

Нативный желток 20-30

33% раствор перекиси
водорода 0,01-0,1.2. Способ приготовления среды для кон-
сервирования спермы животных включаю-
щий получение раствора путем смешивания
раствора углеводов, глицерина и нативного
желтка, о т л и ч а ю щ и й с я тем, что
полученный раствор смешивают с 33% рас-
твором перекиси водорода, затем расфасо-
вывают в ампулы, герметизируют,
прогревают по температуре 65-75°C, выдер-
живают при данной температуре в течение
20-40 минут, а затем охлаждают до комнат-
ной температуры.

C

Изобретение относится к области сель-
ского хозяйства, в частности к искусственно-
му осеменению сельскохозяйственных
животных и может быть применено в имму-
нологии, биологической промышленности и
на госплемпредприятиях.

Известна среда для консервирования
спермы животных, включающая раствор уг-
левода, глицерин и нативный желток. Гото-
вя г эту среду путем смешивания всех
компонентов - раствора углеводов, глицерина
и нативного желтка. Смесь расфасовывают
во флаконы емкостью 190-200 мл и подвер-
гают пастеризации в течение 45 мин при
температуре 60-62°C. Срок хранения среды
составляет 3-5 сут.

Недостатком известной среды является
то, что она не обеспечивает насыщения кис-
лородом половых клеток в процесса консер-
вирования спермы, что снижает сохранение
биологической активности половых клеток и
их оплодотворяющей способности.

Недостатком способа приготовления
среды является то, что наличие в составе
нативного желтка, являющегося термола-
бильным веществом, исключает использо-
вание в дешевых эффективных способов
стерилизации, что не позволяет централизо-
вано производить искусственную среду и
стандартизировать ее по биологическим и
санитарным показателям.

Задача изобретения - сохранить высо-
кую биологическую активность спермиев за

GO
CO

O

сет насыщения их кислородом в процессе консервирования, а также обеспечить условия длительного хранения среды.

Для решения задачи в среду для консервирования спермы животных, включающую 5 раствор углевода, глицерин и нативный желток согласно изобретения в среду дополнительно вводят 33%-ный раствор перекиси водорода при следующем соотношении компонентов (в мл). Раствор углевода 63-75, глицерина - 5-7, нативный желток - 20-30, 33% раствор перекиси водорода - 0,01-0,1.

Поставленная задача решена тем, что в способе приготовления среды для консервирования спермы животных, включающем 15 получение раствора путем смешивания раствора углевода, глицерина и нативного желтка, согласно изобретению, в раствор дополнительно вводят 33% раствор перекиси водорода, затем расфасовывают в ампулы, герметизируют, прогревают до температуры 65-75°C, выдерживают при данной температуре в течение 20-40 мин, а затем охлаждают до комнатной температуры.

Пример 1. Навеску лактозы 69,3 г засыпали в мерный цилиндр № 1 и растворили ее до объема 130 мл бидистиллированной водой. К полученной смеси добавили 300 мл нативного желтка, 70 мл глицерина, смешали и получили 500 мл концентрированного (маточного) раствора, из которых отобрали пробы по 50 мл и расфасовали их в 7 стеклянных ампул. Параллельно с этим в 7 аналогичных ампул расфасовали по 50 мл 35 дистиллированную воду и внесли в каждую ампулу с водой 0,001; 0,005; 0,01; 0,015; 0,1; 0,15 мл 33%-ного раствора перекиси водорода соответственно. В одну ампулу перекись не вводили.

Затем полученные растворы перекиси водорода внесли в ампулы с концентрированными (маточными) растворами испытуемых сред. Ампулы запаяли на пламени газовой горелки и выдержали при комнатной температуре в течение 24 ч. После этого из каждого флакона отобрали пробы сред для исследования на бактериальную загрязненность, оставшиеся среды использовали для замораживания спермы по Харьковской технологии, криоконсервации спермы производителей.

Результаты влияния различных концентраций перекиси водорода в искусственной среде на ее санитарные показатели и на биологические показатели спермы при ее криоконсервации сведены в табл. 1.

Установлено, что оптимальные условия для выживаемости спермиев создаются при использовании в среде 33%-ного раствора -

перекиси водорода в концентрациях 0,01-0,1 объемных процента. Однако, при концентрации препарата 0,01% при котором выявлено наибольшее стимулирующее действие на сперму не обеспечивается полная стерильность среды. В связи с этим для усиления бактерицидного действия нами был применен дополнительный нагрев среды с использованием предельно допустимых температур относительно нативного желтка, входящего в состав испытуемой среды.

Пример 2. Приготовили среды по методике, описанной выше. Стеклянные ампулы со средами запаяли на пламени газовой горелки и поместили в водяную баню, прогрели их до температуры 70°C и выдержали при этой температуре в течение 30 мин. Затем ампулы со средой охладили до комнатной температуры, выдержали при этой температуре в течение 24 ч. Затем провели испытания сред при замораживании спермы и на их бактериальную загрязненность.

Результаты испытаний приведены в табл. 2.

Анализ результатов, приведенных *в примерах, показал, что использованный комплекс синергидных факторов (способ введения в среду предложенного препарата и дополнительный прогрев среды) обеспечили достоверное улучшение сохранения биологической активности половых клеток при криоконсервации и обеспечили надежный стерилизующий эффект желтоксодержащей среды при объемных дозах антисептика 0,01-0,1 мл на 100 мл среды. Эти же результаты были подтверждены после 1 г хранения указанной среды при комнатной температуре.

Пример 3. Приготовили среду с добавлением 0,01 перекиси водорода, заполнили ее в ампулы, запаяли и поместили в водяную баню, прогретую до 60°C, 65°C, 70°C, 75°C, 80°C с выдержкой при этой температуре определенного времени. Затем ампулы со средой охладили до комнатной температуры, выдержали при этой температуре 24 ч. Затем провели испытание среды при замораживании спермы и на их бактериальную загрязненность. Результаты опытной проверки приведены в табл. 3.

Из табл. 3 видно, что оптимальными режимами прогрева, которые не отразились бы на биологической активности спермы после деконсервации, являются 65-75°C с соответствующей выдержкой 20-40 мин.

В качестве контроля использовали искусственную среду, приготовленную по общепринятой методике, без внесения

раствора перекиси водорода и прогрева среды.

Предложенная среда для консервирования спермы и способ ее приготовления обеспечивает достоверное улучшение 5 показателя абсолютной выживаемости спермиев после консервирования на 60-

80%, полную стерильность среды, увеличение срока хранения ее до 2 лет, вместо 3 суток, снижение затрат на изготовление долгохранящейся среды на 60-80%, возможность централизованного производства долгохранящихся сред без нарушения экологии окружающей среды.

Таблица 1

Показатели	Известная среда (прототип)	Конечная концентрация 33%-ного р-ра перекиси водорода в среде в мл					
		0,001	0,005	0,01	0,015	0,1	0,15
Активность спермиев после замораживания, балл Кол-во микробных тел в 1 мл среды, шт	4,0	4,2	4,2	4,5	4,3 стерильно	4,3 стерильно	3,0 стерильно
	750	280	160	10			

Таблица 2

Показатели	Конечная концентрация 33%-ного р-ра перекиси водорода в среде в сочетании с нагревом при 20°C						
	0 кон г.	0,001	0,005	0,01	0,015	0,1	0,15
Активность спермиев после замораживания, балл Кол-во микробных тел в 1 мл среды, шт	4,0	4,2	4,3	4,5	4,4	4,3	3,5
	580	60	стер.	стер.	стер.	стер.	стер.

Таблица 3

Показатели	Температура прогрева с выдержкой				
	60°C 40 мин	65°C 40 мин	70°C 30 мин	75°C 20 мин	80°C 20 мин
Активность спермиев после замораживания, балл Кол-во микробных тел в 1 мл среды, шт	4,5	4,5	4,5	4,5	свертывание (денатурация) среды
	20	стер.	стер.	стер.	стерильно

Упорядник

Техред М.Моргентал

Коректор

Н.Король

Замовлення 4100

Тираж

Підписне

Державне патентне відомство України.
254655, ГСП. Київ-53, Львівська пл., 8

Відкрите акціонерне товариство "Патент", м. Ужгород, вул.Гагаріна. 101