



УКРАЇНА

(19) UA (11) 78045 (13) C2  
(51) МПК  
A61D 19/02 (2007.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

### (54) СПОСІБ ШТУЧНОГО ОСІМЕНІННЯ ТВАРИН ТА ПРИСТРІЙ ДЛЯ ЙОГО ЗДІЙСНЕННЯ

1

2

(21) 20041109765

(22) 29.11.2004

(24) 15.02.2007

(46) 15.02.2007, Бюл. № 2, 2007 р.

(72) Павленко Михайло Петрович, Рубан Сергій Юрійович, Павленко Людмила Миколаївна, Павленко Богдан Михайлович

(73) Інститут тваринництва Української Академії Аграрних Наук

(56) UA A61291, 17.11.2003

US 5899848, 04.05.1999

(57) 1. Спосіб штучного осіменіння тварин, що включає розморожування дози сперми, розміщення її в інструменті і введення в статеві шляхи самиці, який **відрізняється** тим, що перед осіменінням дозу сперми, заморожену в гранулі або паєті, розріджують безпосередньо в еластичній пластиковій ампулі, яка містить сольовий ізотонічний розчин, і вводять із неї розконсервовану сперму в статеві органи самиці без доступу мікроорганізмів

маноцервікально, ректоцервікально, візоцервікально або епіцервікально.

2. Інструмент для здійснення способу за п.1, який включає еластичну пластикову ампулу у формі конуса із запаяним дном і шийкою з каналом, звуженим в її вершині, а також вставний катетер, який **відрізняється** тим, що ампула містить ізотонічний сольовий розріджувач для розморожування сперми і додатково обладнана жорсткою вставною опорною муфтою, виконаною у формі циліндра з патрубком, зовнішній діаметр патрубка відповідає внутрішньому діаметру каналу шийки ампули, забезпечуючи їх герметичне з'єднання, а внутрішній канал муфти виконано у вигляді каскаду обойм із різними внутрішніми діаметрами під гранулу замороженої сперми, під катетер і під паєті різних діаметрів, а вставний катетер захищено від контамінації мікрофлорою еластичним чохлом, який на відкритому кінці має петлеподібний отвір під палець руки оператора.

Винахід відноситься до сільського господарства, насамперед до штучного осіменіння корів і може бути використаним на племінних підприємствах, пунктах штучного осіменіння і в біологічній промисловості.

В практиці штучного осіменіння великої рогатої худоби використовують глибоко заморожену сперму у формі паєт (соломинок) та у відкритих і закритих гранулах, яку постачають господарствам племпідприємства або ж Центри по селекційно-племінній роботі.

Сперму вводять у статеві шляхи самиць спеціальними інструментами маноцервікальним, ректоцервікальним, візоцервікальним або епіцервікальними способами.

Відомий інструмент (паєтовід) призначений для ректоцервікального осіменіння корів спермою, законсервованою в пластикових паєтах різних діаметрів, який складається із циліндра, поршня, муфти, фіксуючого кільця, одноразового жорсткого полімерного чохла і паєти, заповненої спермою і герметизованої з одного кінця вставною пробкою, а з протилежного - заварним швом [Інструкція зі

штучного осіменіння корів і телиць. - Київ, 2001. - С.15].

При використанні паєтовводу оператор розморожує дозу сперми, насаджує паєту зі сторони пробки на кінець поршня і подає її у циліндр інструмента. Протилежний, загерметизований кінець паєти відрізає до одного сантиметра стерильними ножицями і зачохлює циліндр зі спермодозою жорстким одноразовим полімерним чохлом. Розширений кінець чохла фіксує на протилежному кінці циліндра фіксуючим кільцем, нагвинчуванням, або ж за допомогою спеціального затискача.

Після комплектування інструмента і санітарної обробки корови, її осіменяють ректоцервікальним способом.

Недоліком відомого технічного рішення є недосконалість конструкції інструмента, його багатодетальність, складність у виготовленні і використанні, дорожкозатратність і обмеженість у застосуванні. Паєтовід не придатний для введення сперми в статеві шляхи корів і телиць маноцервікальним і епіцервікальними методами, які широко використовуються на практиці, а застосування

(13) C2

(11) 78045

(19) UA

його за прямим призначенням потребує високої кваліфікації операторів і їх спеціальної підготовки. До того ж паєтовід не забезпечує збереження санітарної якості сперми і асептичного введення її у статеві шляхи самиць у зв'язку з необхідністю попередньої розгерметизації паєсти зі спермою перед осіменінням. Це призводить до контакту сперми і окремих деталей інструмента із зовнішнім середовищем, забрудненим мікрофлорою (не стерильним повітрям лабораторії і манежу, пункту штучного осіменіння, мікрофлорою піхвового слизу і т. п.), яка потім разом з інструментом і спермою вноситься у матку, інфікує її, що є однією з головних причин розповсюдження захворювань статевих органів самиць і зниження заплідненості. Суттєвим недоліком інструмента і способу використання сперми в паєтах є те, що вони не забезпечують визначення оцінки якості сперми у кожній дозі перед введенням її у статеві шляхи самиць і не дають можливості прогнозувати результативність запліднення. Безконтрольне ж використання неякісної сперми в свою чергу може призвести до масового непліддя і значним збиткам. До недоліків паєтовводу слід додати неможливість його використання для введення в статеві шляхи самиць сперми, замороженої у відкритих, або облицьованих гранулах, що знижує його практичну цінність. Крім того він призначений для багаторазового використання, що потребує його миття і стерилізації перед кожним осіменінням тварин і пов'язано з додатковими трудовими і матеріальними затратами. А, згідно технологічного регламенту, при тривалому (понад 5 років) зберіганні сперми у пластикових паєтах у рідкому азоті її необхідно перед осіменінням тварин розморожувати у 3%-ному розчині натрію цитрату, що повністю виключає можливість використання для осіменіння самиць паєтовводу і пластикової паєсти, із-за необхідності додаткового розрідження і збільшення об'єму дози сперми від 0,25 до 1 мл. [Інструкція зі штучного осіменіння корів і телиць. - Київ, 2001. - С.11].

Відомий також інструмент для штучного осіменіння включає еластичну пластикову ампулу в формі конусу із запаямим дном і шийкою із каналом, звуженим в її вершині, а також вставний катетер, які з'єднують при використанні. Спосіб використання інструмента заключається в заповненні ампули спермою об'ємом 1 мл і введенні її через катетер у шийку матки. [Чирков В. А. Обоснование и производственное испытание маночервикального метода искусственного осеменения коров. / Молоочно-мясное скотоводство. 1965.3.С.4-11. Інструкція зі штучного осіменіння корів і телиць. - Київ, 2001. - С.14-15].

Для осіменіння самиць використовують сперму, заморожену у відкритих гранулах, об'ємом 0,25 мл і додатково розріджувач для сперми (2,9%-ний розчин натрію цитрату), розфасований по 1 мл. і герметизований у скляних ампулах, які постачаються біологічною промисловістю. [Інструкція зі штучного осіменіння корів і телиць. - Київ, 2001. - С.14-15].

При розморожуванні сперми від скляної ампули відбивають запаюну горловину і переливають із ампули у флакон розчин натрію цитрату, об'ємом

1 мл, який термостатують у біотермостаті при +40°C. Після досягнення розчином цієї температури концентровану гранулу сперми за допомогою пінцета переносять із рідкого азоту в теплий розчин і витримують гам до перетворення її із твердого у рідкий стан. Експозиція розморожування сперми становить 30-40 сек. Потім розморожену сперму переливають із флакона в ампулу, яку з'єднують з катетером і проводять штучне осіменіння корови.

Недоліками конструкції інструмента і способу його використання є складність процесу розморожування сперми, бактеріальне забруднення і неможливість пристосування санітарного чохла для асептичного введення сперми в статеві шляхи, додаткові матеріальні затрати на придбання скляних ампул і флаконів та їх стерилізацію. При маніпуляціях зі спермою вона підлягає багаторазовим контактам із зовнішнім середовищем, що призводить до її мікробного забруднення, а також до ускладнень і незручності в роботі при осіменінні самиць із-за ненадійності фіксації катетера в каналі ампули, які часто роз'єднуються, або ж навпаки кінець катетера просовується в ампулу і не дає можливості повністю витіснити сперму із ампули у статеві шляхи самиці. Суттєвим недоліком також є те, що при розгерметизації скляних ампул в розчин потрапляють мілкі осколки скла, які неможливо відокремити від сперми після її розморожування. При осіменінні самиць інструментом осколки скла потрапляють разом зі спермою у статеві шляхи, травмують їх і викликають симптоматичне непліддя [Устенский А.Н., Морозов Н.Л. и др. Оттаивание спермы провоцирующее симптоматическое бесплодие коров. // С.-х. наука Сев.-Вост. европ. части России Т.3 / НИИ с.х. Сев.-Вост. - 1995. - С.87-88].

Завданням винаходу є уніфікація інструмента під штучне осіменіння самиць спермою, замороженою у формі гранул і в паєтах, покращення умов збереження санітарної якості сперми при її розморожуванні і введенні у статеві шляхи, підвищення заплідненості, спрощення технології осіменіння і зниження матеріальних затрат.

Поставлене завдання досягається тим, що у відомому інструменті, який складається із пластикової ампули в формі конусу з запаямим дном, шийкою з каналом звуженим в її вершині і вставного катетера, відрізняється тим, що ампула містить ізотонічний сольовий розріджувач для розморожування сперми і додатково обладнана жорсткою вставною опорною муфтою, виконаною у формі циліндра з патрубком, зовнішній діаметр патрубка відповідає внутрішньому діаметру каналу шийки ампули, забезпечуючи їх герметичне з'єднання, а внутрішній канал муфти виконано у вигляді каскаду обойм із різними внутрішніми діаметрами: під гранулу замороженої сперми, під катетер і під паєсти, а вставний катетер герметизовано еластичним чохлом, який на відкритому кінці має петлевидний отвір під палець руки оператора. Спосіб використання інструмента полягає у тому, що виключаючи скляні ампули, флакони і паєтовводи, пластикову ампулу заздалегідь асептично заповнену довгозберіжним стерильним розріджувачем, герметично з'єднують з муфтою і через неї вводять в ампу-

лу дозу сперми, заморожену в гранулі або в паєті, а після її розрідження до ампули під'єднують вставний катетер, герметизують еластичним чохлам і проводять штучне осіменіння тварин асептичним способом одним із зазначених методів (маноцервікальним, ректоцервікальним, візоцервікальним або епіцервікальним). В даному разі еластична пластикова ампула виконує функції: ємності для централізованого виробництва розчину натрію цитрату і його зберігання, ємності для розморожування і додаткового розрідження сперми, а також робочого органа інструмента для введення сперми в статеві шляхи самиць.

На Фіг.1 зображено запропонований інструмент для штучного осіменіння тварин (загальний вигляд), який включає еластичну полімерну ампулу (1), заповнену розріджувачем для сперми, опорну муфту (2) і полімерний катетер (3), герметизований тонкостінним еластичним полімерним чохлам (4), який на відкритому кінці має подовжній розріз, утворюючий петлеподібний отвір (5).

На Фіг.2 зображено опорну муфту, яка виконана у формі циліндра (1) з патрубком (2) і внутрішнім каналом (3), виконаним у вигляді каскаду обойм із різними внутрішніми діаметрами: під гранулу замороженої сперми (верхня секція - А), під катетер (середня секція - Б) і під паєту зі спермою (нижня секція - В), причому канал секції-В викона-

но конічним під різні діаметри паєт.

На Фіг.3 зображено ампулу з розріджувачем для сперми (1) і опорну муфту (2) із дозою сперми, замороженою в гранулі (3) в положенні її розморожування і перефасування в ампулу.

На Фіг.4 зображено ампулу з розріджувачем для сперми (1) і опорну муфту (2) із під'єднаною до неї паєстою (3) в положенні перефасування розмороженої сперми із паєти в ампулу.

Приклади конкретного виконання.

Приклад №1. Згідно винаходу замість скляних взяли еластичні пластикові ампули, заповнили їх асептично ізотонічним розчином натрію цитрату (2,9%) і запаяли канали шийок ампул термічним способом. В контролі використали стандартний розчин натрію цитрату у скляних ампулах промислового виробництва. Дослідні і контрольні зразки ампул з розчином зберігали протягом 12 місяців при кімнатній температурі. Оцінку якості розчинів визначали через 3, 6 і 12 місяців зберігання за біологічними і санітарними показниками.

Біологічні показники дослідного і контрольного розріджувачів визначали на спермі бугаїв, за рухливістю статевих клітин після їх розморожування у цих середовищах, а при бактеріологічних дослідженнях визначали у розріджувачах загальну кількість мікроорганізмів і Колі-титр. Одержані результати досліджень наведені в таблиці.

Таблиця

Залежність біологічних і санітарних показників розчину натрію цитрату від строків зберігання його в скляних і полімерних ампулах

Показники біологічної і санітарної якості розріджувача	Строки зберігання (місяці)							
	0		3		6		12	
	дослід	контр.	дослід	контр.	дослід	контр.	дослід	контр.
Рухливість сперми після реко-нсервації, бали	4,1	4,0	4,2	4,2	4,1	4,1	4,3	4,3
Кількість мікробних тіл в 1мл, шт.	стерильно	стерильно	стерильно	стерильно	стерильно	стерильно	стерильно	стерильно
Колі-титр	негативний	негативний	негативний	негативний	негативний	негативний	негативний	негативний

Наведені дані показують, що використання пластикових ампул в якості ємностей для розфасування і довготривалого зберігання розчину натрію цитрату у порівнянні з скляними ампулами не впливає негативно на санітарні і біологічні показники розчину. За цими показниками як у досліді, так і в контролі одержані ідентичні результати, що дає підставу для заміни скляних на еластичні пластикові ампули при виготовленні 2,9%-ного розчину натрію цитрату для розрідження сперми.

Ефективність такої заміни обумовлена виключенням додаткових затрат на виготовлення і придбання скляних ампул для розчину натрію цитрату, уникнення розтріскування ампул в процесі їх зберігання і транспортування, а при розморожуванні сперми запобігання можливого попадання осколків скла в сперму і в статеві шляхи самиць при штучному осіменінні, що сприяє оптимізації умов запліднення і підвищенню результативності

технології осіменіння корів і телиць.

Приклад №2. Взяли пластикову ампулу із розчином цитрату, помістили її у біотермостат і витримали при +40°C до досягнення заданої температури розчинником. Звужену верхівку шийки ампули відокремили стерильними ножицями і герметично з'єднали ампулу з патрубком опорної муфти як показано на Фіг.3. Паралельно з цим за допомогою пінцета виїняли із рідкого азоту заморожену гранулу сперми і розмістили її у розширену частину муфти (сектор А, Фіг.3). При цьому вказівним і великим пальцями руки стиснули пружні стінки пластикової ампули і витіснили із неї теплий розчин натрію цитрату у розширену частину муфти з гранулою сперми. Під дією теплового розріджувача гранулу розморозили і розрідили у розчині. Після завершення переходу спермодози із твердого у рідкий стан стінки ампули відпустили, при цьому вони за рахунок пружності прийняли першопочат-

кове положення, що сприяло зворотному переміщенню розчину з розмороженою спермою в ампулу. Одну краплю сперми нанесли на предметне скло і визначили рухливість спермій за 10-ти бальною системою. Після цього в канал муфти (сектор Б, Фіг.2) вставили кінець катетера, загерметизованого з вихідного кінця еластичним чохлом і після санітарної обробки корови асептично ввели розморожену сперму в її статеві шляхи одним із способів (ректоцервікальним, маночервікальним, візоцервікальним або епіцервікальним).

Запропоноване технічне рішення у порівнянні з прототипом забезпечує:

- значне спрощення техніки розморожування сперми у відкритих гранулах за рахунок виключення із технологічного процесу скляних ампул і флаконів;

- зниження вірогідності додаткового забруднення сперми мікроорганізмами зовнішнього середовища при її розморожуванні;

- забезпечення зручності і надійності введення інструмента і сперми в статеві шляхи самицям за рахунок надійної фіксації в опорній муфті ампули і катетера, а також зручної фіксації опорної муфти рукою оператора при введенні інструмента в шийку матки.

Приклад №3. Взяли пластикову ампулу із розчином натрія цитрату, помістили її у біотермостат і витримали при  $+40^{\circ}\text{C}$  до досягнення розчином заданої температури.

Звужену верхівку ампули відокремили спеціальними ножицями і до неї герметично під'єднали опорну муфту, паралельно з цим виїняли із рідко-

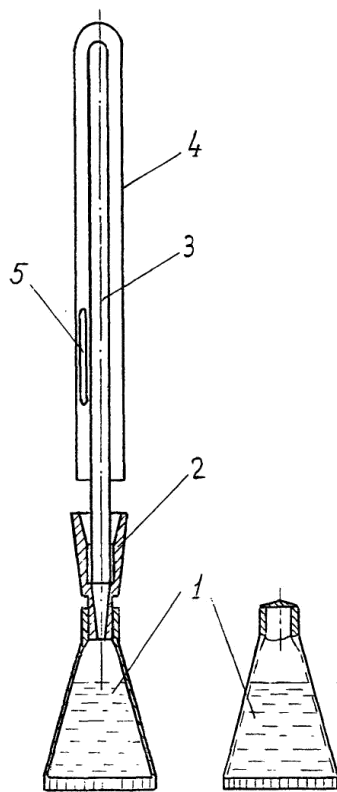
го азоту за допомогою пінцета пластикову паєту з замороженою спермою і занурили її у воду біотермостату до повного її розморожування. Після розморожування сперми поверхню паєти протерли стерильною серветкою і знезаразили тампоном змоченим  $70^{\circ}$  етиловим спиртом.

Кінець паєти (герметизований термозваркою) відрізали стерильними ножицями, одночасно з цим пальцями руки стиснули стінки ампули з розчином натрію цитрату і витіснили із неї повітря над розчином.

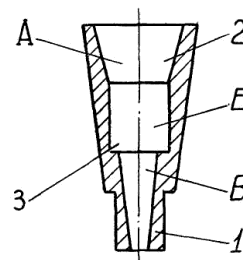
В такому положенні відкритим кінцем паєту ввели в опорну муфту в нижню кінцеву (секцію В) до герметичного вклинювання відкритого кінця паєти у каналі муфти. Після герметичного з'єднання паєти з муфтою відпустили пружні стінки ампули, що створило вакуум в ампулі. Після цього відрізали протилежний кінець соломинки разом з вставною пробкою. При цьому сперма спонтанно перемістилась із соломинки безпосередньо у ампулу з теплим розчином натрію цитрату.

Після розморожування сперми у розчині одну краплю сперми наносили на предметне скло і оцінювали рухливість сперми під мікроскопом.

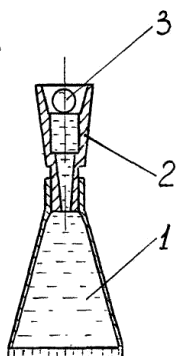
Далі спорожнену від сперми пластикову паєту утилізували, а в канал муфти (сектор Б, Фіг.4) вставили кінець катетера загерметизованого з вихідного кінця еластичним чохлом і після санітарної обробки корови асептично ввели відтаяну сперму в її статеві шляхи одним із способів (ректоцервікальним, маночервікальним або епіцервікальним) аналогічно попередньому прикладу.



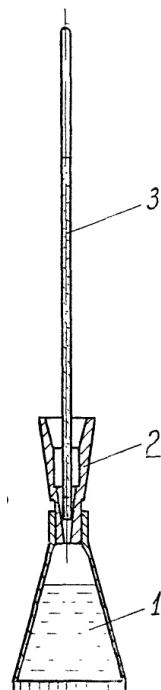
Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг.3



Фиг.4