ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ
СОЮЗА ССР

ЭМБРИОНЫ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

ТЕХНИЧЕСКИЕ УСЛОВИЯ

ГОСТ 28424—90

Издание официальное

10 коп. БЗ 7—89/568

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР ПО УПРАВЛЕНИЮ
КАЧЕСТВОМ ПРОДУКЦИИ И СТАНДАРТАМ
Москва

gost.e-ecolog.ru

УДК 636.082.4:006.354 Группа Р38

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ СОЮЗА ССР

ЭМБРИОНЫ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Технические условия
Cattle embryos.
Specifications

ГОСТ
28424—90

ОКП 98 8500

Срок действия с 01.01.91
до 01.01.96

Настоящий стандарт распространяется на эмбрионы крупного рогатого скота и устанавливает требования к свежеполученным и замороженным эмбрионам, предназначенным для пересадки животным-реципиентам.

1. ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ

1.1. Эмбрионы крупного рогатого скота должны соответствовать требованиям настоящего стандарта и быть получены в соответствии с правилами по трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота и ветеринарно-санитарными требованиями к центрам и пунктам по трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота, утвержденным в установленном порядке.

1.2. Эмбрионы для пересадки должны быть получены от клинически здоровых коров-доноров в возрасте от 3 лет и старше, осемененных спермой быков-улучшателей.

1.3. Характеристики

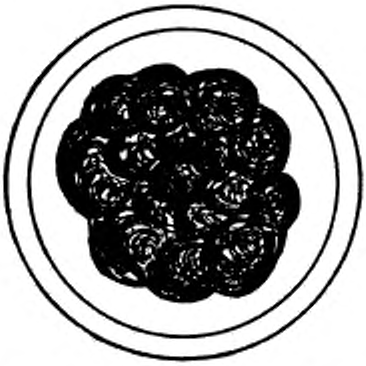
1.3.1. Эмбрионы, пригодные для пересадки, должны быть в возрасте 7—9 сут и находиться в стадии развития ранней морулы (Мо1, черт. 1—4), поздней морулы (Мо2, черт. 5—8), ранней бластоцисты (Бл1, черт. 9—12) и поздней бластоцисты (Бл2, черт. 13—16).

1.3.2. Эмбрионы в зависимости от морфологических показателей подразделяют на «отличные», «хорошие», «удовлетворительные», «условно пригодные» и «плохие» в соответствии с требованиями, указанными в таблице.

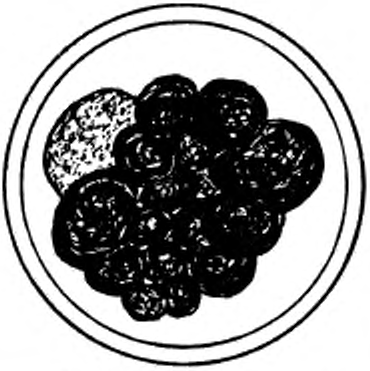
Издание официальное

Перепечатка воспрещена
© Издательство стандартов, 1990

2 Зак. 261



Черт. 1 — Морула ранняя, отличная



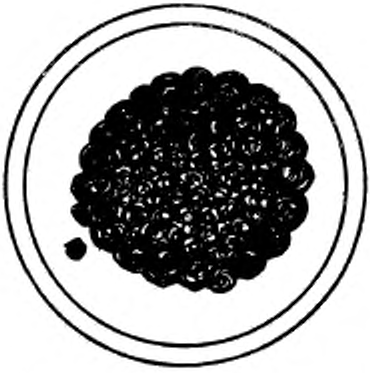
Черт. 2 — Морула ранняя, хорошая



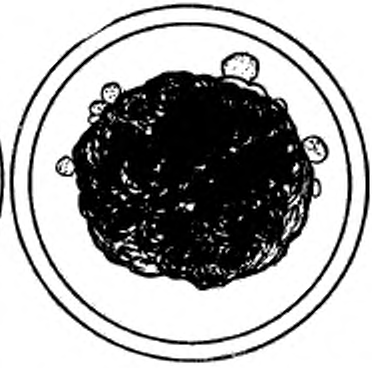
Черт. 3 — Морула ранняя, удовлетворительная. Неравномерные шары дробления. Грануляция в бластомерах



Черт. 4 — Морула ранняя, условно пригодная. Рыхлые бластомеры



Черт. 5 — Морула поздняя, отличная



Черт. 6 — Морула поздняя, хорошая. Выступающие светлые бластомеры



Черт. 7 — Морула поздняя, удовлетворительная. Частичный зародыш. Часть бластомеров выступает и разрушена



Черт. 8 — Морула поздняя, условно пригодная Грануляция значительной части комплекса



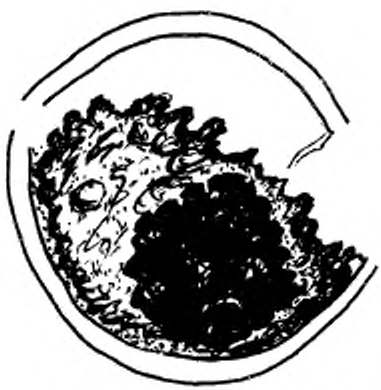
Черт. 9 — Бластоциста ранняя, отличная



Черт. 10 Бластоциста ранняя, хорошая



Черт. 11 Бластоциста ранняя, удовлетворительная. Сжатие комплекса, трещина зоны пеллюцида



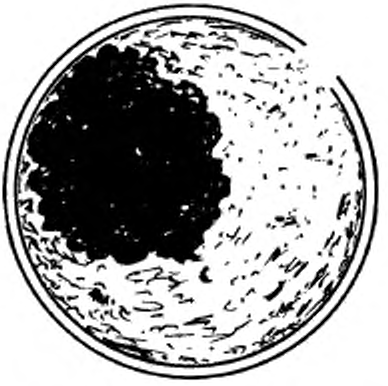
Черт. 12 — Бластоциста ранняя, условно пригодная, деформация, сжатие клеток



Черт. 13 — Бластоциста поздняя, отличная



Черт. 14 — Бластоциста поздняя, хорошая



Черт. 15 — Бластоциста поздняя, удовлетворительная. Сжатие клеточного комплекса, незначительный скол зоны



Черт. 16 Бластоциста поздняя, условно пригодная. Сжатие клеточного комплекса. Скол зоны веллюцида

Стадии развития эмбриона	Морфологические показатели качества эмбрионов с оценкой				
	отличные	хорошие	удовлетворительные	условно пригодные	плохие
Морула ранняя (Мо1). Морула поздняя (Мо2)	Зона пеллюцида округлой формы, без трещин и сколов, соединена с цитоплазмой перивителлинового пространства; перивителлиновое пространство без цитоплазматических включений; бластомеры четкие, прозрачные, одинаковой формы и размера, расположены симметрично	Зона пеллюцида округлой формы, без трещин и сколов, соединена с цитоплазмой перивителлинового пространства; в перивителлиновом пространстве наличие гранул и включений; бластомеры расположены асимметрично, неодинаковые по размеру, немного сжаты	Зона пеллюцида округлой формы или с небольшой деформацией; допускается небольшая трещина или скол; в перивителлиновом пространстве гранулы, включения отдельных бластомеров; бластомеры расположены ассиметрично, немного сжаты и (или) смещены относительно центра, отдельные бластомеры темного цвета, грануляция отдельных бластомеров	Зона пеллюцида округлой формы или деформированная, имеется значительная трещина или скол, частично нарушена связь с цитоплазмой перивителлинового пространства; в перивителлиновом пространстве значительное количество бластомеров; бластомеры смещены относительно центра, связь между отдельными бластомерами отсутствует, пикноз большей части бластомеров, часть бластомеров темного цвета	Зона пеллюцида округлой формы или деформированная, разрыв оболочки с частичным выходом бластомеров клеточного комплекса, нарушена связь с цитоплазмой перивителлинового пространства; перивителлиновое пространство заполнено как отдельными, так и разрушенными бластомерами
Бластоциста ранняя (Бл1)	В стадии раннего бластоциста (Бл I) наблюдается начало образования трофобласта и эмбриобласта, видна небольшая бластополость. Трофобласт на фоне клеточного комплекса выявляется в виде более яркого просветления		Трофобласт выявляется в виде яркого просветления, смещен относительно центра	Трофобласт трудно различим на фоне клеточного комплекса	

Продолжение

Стадия развития эмбриона	Морфологические показатели качества эмбрионов с оценкой				
	отличные	хорошие	удовлетворительные	условно пригодные	плохие
Бластоциста поздняя (Бл. 2)	Зона пеллюцида округлой формы, прозрачная без трещин и сколов; перивителлиновое пространство отсутствует, бластополость большая, расширенная, прозрачная; клетки трофобласта четко выражены, расположены в виде полусферической цепочки по внутренней поверхности зоны пеллюцида; эмбриобласт округлой формы в виде компактного скопления клеток	Зона пеллюцида округлой формы; без трещин и сколов; перивителлиновое пространство отсутствует; бластополость большая, расширенная, прозрачная, клетки трофобласта четко выражены; эмбриобласт округлой формы с одной или двумя выделенными клетками клеточного комплекса	Зона пеллюцида округлой формы, прозрачная, допускается незначительная трещина или скол; перивителлиновое пространство отсутствует, бластополость большая, расширенная, прозрачная; клетки трофобласта четко выражены; эмбрионполость округлой формы, компактная с выделенными клетками от клеточного комплекса	Зона пеллюцида округлой формы или деформированная, имеется значительная трещина или скол, перивителлиновое пространство отсутствует, бластополость большая, расширенная с незначительными цитоплазматическими включениями; клетки трофобласта четко выражены, нарушена связь между отдельными клетками; эмбриобласт деформирован с выделенными клетками клеточного комплекса	Зона пеллюцида деформирована, имеется значительная трещина или скол, бластополость большая, расширенная, затемнена или деформированная с цитоплазматическими включениями; клетки трофобласта могут быть деформированы, связь между отдельными клетками отсутствует; эмбриобласт деформирован, рыхлый, часть клетки разрушена, отсутствует связь у большинства клеток

1.3.3. Свежеполученные и подлежащие замораживанию эмбрионы не должны быть контаминированы патогенными и условно-патогенными микроорганизмами, грибами, вирусами и другими микроорганизмами.

1.4. Упаковка

1.4.1. Каждую серию свежеполученных эмбрионов после морфологической оценки помещают в соломинки (пайеты) или полиэтиленовые пробирки, содержащие питательную среду, состоящую из фосфатно-буферной среды с 20 %-ной фетальной сывороткой крови крупного рогатого скота или сыворотки крови для биотехнологических работ, или 0,4 %-ного альбумина бычьей сыворотки крови и санирующего препарата ГАМП в дозе 100 мкг/см^3, или спермосан-ППК в дозе 200 ЕД/см^3 среды. Укупорку соломинок (пайет), пробирок проводят в соответствии с правилами, утвержденными в установленном порядке.

1.4.2. Эмбрионы, предназначенные для замораживания, после четырехкратной проводки через фосфатно-буферную среду, содержащую наиболее высокую концентрацию криопротектора 1,5 г/моль диметилсульфоксида (ДМСО) или 1,4 г/моль глицерина, 20 %-ную фетальную сыворотку крупного рогатого скота или 20 %-ную сыворотку крови для биотехнологических работ и санирующий препарат, помещают в пробирки или соломинки с указанной средой, закрывают пластиковыми пробками и замораживают в жидком азоте в соответствии с правилами, утвержденными в установленном порядке.

1.5. Маркировка

1.5.1. Каждую пробирку или соломинку (пайету) маркируют, нанося несмывающейся краской номер серии и дату получения эмбрионов.

1.5.2. Пробирки, соломинки (пайеты) с замороженными эмбрионами помещают в специальные канистры, которые переносят в сосуд Дьюара по ГОСТ 9293, содержащий не менее одной трети объема азота.

2. ПРИЕМКА

2.1. Свежеполученные и замороженные эмбрионы принимают сериями.

Под серией понимают любое количество эмбрионов, полученное от одной коровы-донора за один технологический цикл и оформленное одним документом о качестве (сертификат, см. приложение).

2.2. Каждая серия свежеполученных и замороженных эмбрионов должна быть принята (проверена) на предприятии-изготовителе специалистом этого предприятия.

2.3. Каждая серия замороженных эмбрионов после оттаивания при подготовке к пересадке их реципиентам должна быть принята (проверена) специалистом по пересадке эмбрионов предприятия-потребителя или изготовителя.

2.4. По требованию потребителя проверку санитарного состояния эмбрионов проводит отдел биологического контроля предприятия-изготовителя или ветлаборатория (районная, областная, краевая или республиканская).

3. МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ

3.1. Определение качества эмбрионов по морфологическим показателям.

3.1.1. Аппаратура, материалы и среды

Лупа бинокулярная марок МБС-9, МБС-10 или аналогичных марок.

Микроскоп марок МБИ-10, МБИ-13 или аналогичных марок.

Термостат с температурой нагрева 37—38 °С.

Сифон или шприц марки «Рекорд» с удлиненной иглой.

Чашки Петри или часовые стекла.

Цилиндры мерные вместимостью 500 см³ по ГОСТ 1770 или флаконы вместимостью 450—500 см³.

Пипетка Пастера.

Среда фосфатно-буферная с 20 %-ной фетальной сывороткой крови крупного рогатого скота или 20 %-ной сывороткой крови для биотехнологических работ.

Трипсин, раствор с массовой долей 0,25 %.

Санирующие препараты.

3.1.2. Подготовка к испытанию

Растворы, полученные после вымывания эмбрионов из каждого рога матки коров-доноров, помещают с соблюдением правил асептики в отдельные стерильные эмбриоприемники вместимостью 450- 500 см³ (цилиндры или флаконы), которые выдерживают в термостате при 37- 38 °С или при комнатной температуре не ниже 18 °С в течение 20 мин для осаждения эмбрионов. Верхнюю часть раствора удаляют с помощью стерильного сифона или шприца с удлиненной иглой, оставляя 60- 100 см³ раствора. Отстой переносят в 2—3 стерильные чашки Петри диаметром 90 мм, дно которых с внешней стороны расчерчено на квадраты со стороной 1 см.

3.1.3. Проведение испытания

Качество эмбрионов по морфологическим показателям определяют у всех свежеполученных эмбрионов и замороженных эмбрионов после их оттаивания.

Эмбрионы просматривают под бинокулярной лупой при увеличении 20—28*. Определяют по морфологическим показателям эмб-

рионы с оценкой «плохие» и их удаляют. Оставшиеся эмбрионы обрабатывают раствором трипсина с массовой долей 25 % при 37—38 °С в течение 3—5 мин, а затем промывают 2 см³ стерильной фосфатно-буферной средой, содержащей 20 % фетальной сыворотки крови крупного рогатого скота или 20 % сыворотки крови для биотехнологических работ и санирующий препарат. Промывку эмбрионов в стерильных средах проводят четыре раза. Для проводки эмбрионов через стерильные среды каждый раз используют новую чашку Петри и пипетку Пастера. После четвертой промывки эмбрионы просматривают под микроскопом марки МБИ-10 или МБИ-13 при увеличении 1×100× в том же составе среды.

3.1.4. Обработка результатов

Оценку качества эмбрионов по морфологическим показателям проводят в соответствии с требованиями, указанными в п. 1.3.2.

Свежеполученные эмбрионы с оценкой «отличные» и «хорошие» подлежат замораживанию.

Свежеполученные эмбрионы с оценкой «отличные», «хорошие» и «удовлетворительные» используют для пересадки животным-реципиентам.

Свежеполученные эмбрионы с оценкой «условно пригодные» и «плохие» выбраковывают.

Эмбрионы, замороженные с оценкой «отличные», «хорошие», «удовлетворительные» и «условно пригодные», пересаживают животным-реципиентам.

Замороженные эмбрионы с оценкой «плохие» выбраковывают.

3.2. Определение санитарного состояния эмбрионов

3.2.1. Санитарное состояние определяют у свежеполученных эмбрионов и у эмбрионов, подлежащих замораживанию.

3.2.2. Санитарное состояние свежеполученных эмбрионов устанавливают на основании выборочного микробиологического исследования третьего промывного раствора среды по п. 3.1.3 не менее чем от 6 серий эмбрионов в квартал.

3.2.3. Санитарное состояние свежеполученных эмбрионов, подлежащих замораживанию, устанавливают на основании микробиологических исследований среды, использованной для подготовки эмбрионов к замораживанию после предпоследней промывки по п. 1.4.2.

3.2.4. Отбор проб

Отбирают по 2 см³ соответствующей среды. 1 см³ среды используют для микробиологических исследований, а 1 см³ среды помещают в стеклянную ампулу или полиэтиленовую пробирку, которые запаивают или закрывают полиэтиленовыми крышками и хранят в замороженном виде в сосуде Дьюара в архиве центра или пункта по трансплантации эмбрионов до использования всех эмбрионов данной серии. На пробирке наносят несмываемой краской номер серии.

3.2.5. Аппаратура, среда

Термостат с температурой нагрева 37—38 °С.

Термостат с температурой нагрева 20—22 °С.

Пипетки стеклянные градуированные вместимостью 1, 2 и 10 см³ по ГОСТ 20292.

Пробирки стеклянные вместимостью 20 см³ по ГОСТ 25336.

Среда тиогликолевая или МПБ, среда Тароцци и Сабуро.

3.2.6. Проведение испытания

В две пробирки с тиогликолевой средой вносят по 0,5 см³ исследуемой среды и выдерживают 10—14 сут — одну пробирку в термостате при температуре 37—38 °С, а другую в термостате при температуре 20—22 °С. При отсутствии тиогликолевой среды проводят высевы — 0,5 см³ исследуемого материала на среду с МПБ и по 2—3 капли на среду Тароцци и Сабуро (по одной пробирке). Посевной материал со средой МПБ и Тароцци инкубируют при температуре 37—38 °С, а со средой Сабуро при температуре 20—22 °С. В качестве контроля при тех же условиях выдерживают по одной пробирке использованной среды без посевного материала.

3.2.7. Обработка результатов

Через 10—14 сут ни в одной из пробирок с посевным материалом не должно быть роста микроорганизмов.

При выделении из посевного материала условно патогенной микрофлоры проводят тщательный контроль стерильности инструментов и сред, применяемых для вымывания, кратковременного хранения и замораживания эмбрионов, а также подготовки коров-доноров к извлечению эмбрионов.

4. ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ

4.1. Свежеполученные эмбрионы транспортируют в эмбриомобилях при температуре 22—25 °С в сопровождении специалиста по трансплантации эмбрионов.

Замороженные эмбрионы транспортируют в сосудах Дьюара с жидким азотом, с сопровождающим, всеми видами транспорта в соответствии с правилами перевозки багажа, действующими на данном виде транспорта.

К транспортируемым эмбрионам прилагается подлинник сертификата.

4.2. Свежеполученные эмбрионы сохраняют в фосфатно-буферной среде, содержащей 20 % фетальной сыворотки крови крупного рогатого скота или 20 % сыворотки крови для биотехнологических работ, 0,4 % альбумина бычьей сыворотки крови и санирующий препарат, при температуре 22—25 °С в течение 5 ч.

4.3. Замороженные эмбрионы сохраняют в фосфатно-буферной среде, содержащей 20 % фетальной сыворотки крупного рогатого

скота или 20 % сыворотки крови для биотехнологических работ, криопротектор (ДМСО или глицерин) и санирующий препарат, в жидком азоте при минус 196 °С.

4.4. Эмбрионы, оттаянные после замораживания, сохраняют в фосфатно-буферной среде, содержащей 20 % фетальной сыворотки крови крупного рогатого скота или 20 % сыворотки крови для биотехнологических работ и санирующий препарат, при температуре 22—25 °С не более 30 мин.

5. ГАРАНТИИ ПОСТАВЩИКА

5.1. Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие качества эмбрионов требованиям настоящего стандарта при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных стандартом, в пределах срока годности.

ПРИЛОЖЕНИЕ
Обязательное

СЕРТИФИКАТ

на эмбрионы крупного рогатого скота №

Наименование центра (пункта) заготовки (трансплантации) эмбрионов и место его нахождения _____

_____

Номер серии _____

Форма упаковки эмбрионов (пробирка, ампула, соломинка) _____

Количество эмбрионов в упаковке _____

Дата получения эмбрионов и день полового цикла коровы-донора _____

Возраст и стадия развития эмбрионов и морфологическая оценка _____

Для замороженных эмбрионов
Состав среды для замораживания, санирующие препараты и их доза _____

Время с момента получения до их замораживания, ч _____

Температура, при которой отправлены эмбрионы, °С _____

Режим оттаивания эмбрионов _____

Номер и тип сосуда Дьюара и номер канистры _____

Порода коровы-донора, кличка, номер и дата начала использования донора для получения эмбрионов _____

Порода быка-производителя, кличка, номер _____

_____

Продуктивность коровы-донора _____

Продуктивные качества быка-производителя (выписано из племенного свидетельства) _____

Группа крови коровы-донора и быка-производителя _____

Сведения о состояния здоровья животных и ветеринарно-санитарном состоянии ферм _____

У производителя и коровы-донора, их родителей и потомства нет генетически обусловленных болезней _____

Племенные животные, от которых получены эмбрионы, здоровы и происходят из ферм, свободных в течение последних 12 мес от инфекционных болезней крупного рогатого скота — туберкулеза (tuberculosis), паратуберкулеза (paratuberculosis), бруцеллеза (brucelosis), лейкоза (leicosis), инфекционного ринотрахеита (infectious bovin rtinotracheitis), вирусной диареи (virus diarrhea bovina), трихомоноза (trichomonosis), кампилобактериоза (campylobacteriosis), вибриоза (vibriosis), блутанга (bluetongue), эпизоотического аборта (epizootical abortus),

лептоспироза (leptospirosis), хламидиоза (chlamydiosis), микоплазмоза (mycoplasmosis), чумы (pestis bovum), инфекционной плевропневмонии крупного рогатого скота (Pleuropneumonis infectiosa bovum), ящура обычных и экзотических типов (Aphtae epizootical).

Поголовье животных центра заготовки, где получены эмбрионы, находится под постоянным ветеринарным наблюдением, периодически подвергается через каждые 6 или 12 мес диагностическим исследованиям, а содержание животных и взятие от них эмбрионов проводят с соблюдением санитарных требований.

Производитель _____, донор _____
кличка, номер кличка, номер

исследовались на следующие заболевания с отрицательными результатами:

1. Туберкулез _____
дата, метод и результаты исследования
2. Паратуберкулез _____
3. Бруцеллез _____
4. Лейкоз _____
5. Инфекционный ринотрахеит _____
6. Вирусная диарея _____
7. Трихомоноз _____
8. Кампилобактериоз _____
9. Вибриоз _____
10. Лептоспироз _____
11. Хламидиоз _____
12. Микоплазмоз _____
13. Другие болезни _____

Сертификат выдан _____
число, месяц, год

Государственный ветеринарный врач _____
фамилия, инициалы, подпись

Главный технолог _____
фамилия, инициалы, подпись

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

1. **РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН** Госагропромом СССР

РАЗРАБОТЧИКИ

Н. И. Сергеев, д-р биол. наук (руководитель темы); **С. В. Советкин**, канд. биол. наук; **Ю. В. Фомин**, д-р вет. наук; **М. Н. Ефремова**; **Е. В. Пронина**, канд. хим. наук; **Е. А. Назаров**, вет. врач; **А. Н. Мелентьев**, канд. с.-х. наук

2. **УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ** Постановлением Государственного комитета СССР по управлению качеством продукции и стандартам от 05.01.90 № 10

3. Срок первой проверки — III кв. 1994 г., периодичность проверки — 5 лет

4. **ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ**

5. **ССЫЛОЧНЫЕ НОРМАТИВНО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ДОКУМЕНТЫ**

Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер пункта
ГОСТ 1770—74	3.1.1
ГОСТ 9293—74	1.4.4
ГОСТ 20292—74	3.2.5
ГОСТ 25336—82	3.2.5

Редактор *Т. И. Василенко*
Технический редактор *М. И. Максимова*
Корректор *О. Я. Чернецова*

Сдано в наб. 31.01.90 Подп. в печ. 13.04.90 1,25 усл. п. л. 1,25 усл. кр.-отт. 0,97 уч.-изд. л.
Тираж 3000 Цена 10 к.

gost.e-ecolog.ru

Ордена «Знак Почета» Издательство стандартов, 123557, Москва, ГСП,
Новопресненский пер., 3.
Калужская типография стандартов, ул. Московская, 256. Зак. 261