17637-72

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ
СОЮЗА ССР

СРЕДА ГЛЮКОЗО-ХЕЛАТО-ЦИТРАТНО-СУЛЬФАТНАЯ ДЛЯ ХРАНЕНИЯ СПЕРМЫ ХРЯКОВ

ГОСТ 17637—72



Издание официальное

Цена 3 коп.

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СТАНДАРТОВ
СОВЕТА МИНИСТРОВ СССР
Москва

gost.e-ecolog.ru

РАЗРАБОТАН Всесоюзным научно-контрольным институтом ветеринарных препаратов

Директор д-р вет. наук **Бойко А. А.**
Руководитель и исполнитель темы канд. биол. наук **Балашов Н. Г.**
Исполнители: ст. научный сотрудник канд. вет. наук **Шевченко М. К.**, мл. научный сотрудник **Силаева М. В.**
Зав. отделом центральной опытной станции искусственного осеменения с.-х. животных УССР канд. биол. наук **Плишко Н. Т.**

ВНЕСЕН Министерством сельского хозяйства СССР

Зам. министра **Морозов П. И.**

ПОДГОТОВЛЕН К УТВЕРЖДЕНИЮ Отделом сельскохозяйственной продукции Государственного комитета стандартов Совета Министров СССР

Начальник отдела канд. с.-х. наук **Машкович И. К.**

Отделом стандартизации продукции сельского хозяйства Всесоюзного научно-исследовательского института стандартизации (ВНИИС)

Зав. отделом канд. с.-х. наук **Рыбаков М. Н.**
Ст. научный сотрудник канд. биол. наук **Лекарев В. С.**
Ст. инженер **Насокина Н. Д.**

УТВЕРЖДЕН Государственным комитетом стандартов Совета Министров СССР 28 марта 1972 г. (протокол № 36)

Зам. председателя отраслевой научно-технической комиссии член Комитета **Коваленко Ф. Ф.**
Члены комиссии: **Гаркаленко К. И., Пенязь И. В., Плеханов В. И., Тихонов В. Т., Чувильгин В. Г.**

ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Государственного комитета стандартов Совета Министров СССР от 24 апреля 1972 г. № 805

УДК 615.28 : 619 : 611-013.11(083.74) Группа Р31

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ СОЮЗА ССР

СРЕДА ГЛЮКОЗО-ХЕЛАТО-ЦИТРАТНО-СУЛЬФАТНАЯ ДЛЯ ХРАНЕНИЯ СПЕРМЫ ХРЯКОВ

Glucose-chelate-citrate-sulfphate medium for boar sperm conservation

ГОСТ 17637—72

Постановлением Государственного комитета стандартов Совета Министров СССР от 24/IV 1972 г. № 805 срок введения установлен

с 1/III 1973 г.

Несоблюдение стандарта преследуется по закону

Настоящий стандарт распространяется на синтетическую глюкозо-хелато-цитратно-сульфатную (ГХЦС) среду, представляющую собой изотонический раствор безвредных для спермиев животных препаратов, предназначенный для хранения спермы хряков при плюсовой температуре, применяемый на станциях и пунктах искусственного осеменения.

1. ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ

1.1. Глюкозо-хелато-цитратно-сульфатную среду (ГХЦС) готовят перед ее применением на станциях искусственного осеменения в соответствии с требованиями по искусственному осеменению свиней, а также в соответствии с ветеринарно-санитарными правилами при воспроизводстве скота, утвержденными в установленном порядке.

1.2. В состав ГХЦС среды входят компоненты, указанные в табл. 1.

Таблица 1

Наименования компонентов	Нормы
1. Глюкоза по ГОСТ 6038—51 или медицинская ($C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$), мол. масса 198,7, г	40
2. Трилон Б (хелатон-3, двунатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты) по ГОСТ 10652—63 ($C_{10}H_{14}O_8N_2Na_2 \cdot 2H_2O$), мол. масса 372,24, х. ч. или ч. д. а., г	2,6
3. Натрий лимоннокислый, трехзамещенный по ГОСТ 3161—57 ($C_6H_5O_7Na_3 \cdot nH_2O$), мол. масса 357,16, г	3,8
4. Аммоний сернокислый очищенный по ГОСТ 10873—64 $(NH_4)_2SO_4$, мол. масса 132,14, г	1,8
5. Натрий двууглекислый по ГОСТ 4201—66 $NaHCO_3$, мол. масса 84,01, г	0,5
6. Вода дистиллированная по ГОСТ 6709—53, мл	1000

1.3. Компоненты перед применением должны быть проверены на безвредность для спермиев животных по методикам, утвержденным в установленном порядке.

1.4. ГХЦС среду готовят также и из сухой заготовки, в состав которой входят все компоненты, указанные в табл. 1. Сухие заготовки на безвредность для спермиев животных проверяют на предприятии-изготовителе.

1.5. Для приготовления среды используют стерильные колбы и мерные цилиндры по ГОСТ 1770—64.

1.6. Компоненты, входящие в состав среды, взвешивают на аналитических (при массе до 1,0 г) или технохимических (при массе более 1,0 г) весах. Бюксу, часовое стекло, используемые для навески, а также чашки весов протирают ватным тампоном, смоченным 96%-ным спиртом по ГОСТ 5962—67.

1.7. При изготовлении среды из компонентов, взятых отдельно, содержание влаги в глюкозе допускается не более 10%, а для изготовления сухой заготовки среды берут глюкозу с содержанием влаги не более 3%.

При приготовлении среды глюкозы берут больше, чем указано в рецепте, с учетом содержания в препарате кристаллизационной воды.

Количество глюкозы (X) в граммах вычисляют по формуле

$$X = \frac{a \cdot 100}{100 - B},$$

где a — количество глюкозы, требуемое по рецепту, г;

B — содержание воды в препарате по анализу, %.

1.8. Для приготовления среды в чистую химическую колбу наливают необходимый объем прокипяченой дистиллированной воды.

(отмеривают мерным цилиндром) и добавляют в нее все компоненты.

Приготовленную среду кипятят в водяной бане 5—10 мин, охлаждают до 40—45°С и добавляют санирующий препарат — спермосан 3 из расчета 250—300 тыс. ед. на 1000 мл дистиллированной воды.

Колбу со средой закрывают стерильной пергаментной бумагой и фиксируют резиновым кольцом.

1.9. Свежеприготовленная ГХЦС среда по физико-химическим и биологическим показателям должна соответствовать требованиям и нормам, указанным в табл. 2.

Таблица 2

Наименования показателей	Характеристика и нормы
1. Внешний вид	Однородная жидкость без осадка и механических примесей
2. Цвет	Прозрачная слегка опалесцирующая жидкость
3. Запах	Без запаха
4. Стерильность	При посеве на питательные среды ГХЦС среда не должна давать роста микробов в течение 10 суток
5. Концентрация водородных ионов (pH) при 18—20°С	6,6±0,2
6. Осмотическое давление при температуре 0°С, атм	7,4±0,2
7. Подвижность спермиев после 3 суток хранения в среде, баллы, не ниже	6,0
8. Безвредность	ГХЦС среда, при разбавлении спермы в разведении 1:3 не должна вызывать снижения качества спермы, подвижности, выживаемости и оплодотворяющей способности спермиев. Выживаемость и оплодотворяющая способность спермиев должны выдерживать испытания по подпунктам 9—12 таблицы
9. Выживаемость спермиев в среде при 16—20°С до 0,5 балла включ., ч	Не ниже 120
10. Показатель абсолютной выживаемости спермиев (*S*) в среде при 16—20°С	Не ниже 700
11. Коэффициент относительной безвредности среды (КОБС), не ниже	0,7
12. Наступление беременности и нормальных родов у здоровых свиноматок от первичного осеменения их разбавленной и сохраненной в течение 1—3 суток спермой, %, не менее	70

1.10. Сперму разбавляют ГХЦС средой в разведениях от 1 : 1 до 1 : 5 и хранят при 16—20°С.

При необходимости хранения спермы при более низкой температуре, но не ниже 6°С добавляют 30—40 мл желтка куриных яиц на 1 мл среды и определяют ее как глюкозо-хелато-цитратно-сульфатно-желточную среду (ГХЦСЖ). Желток берут из куриных яиц со сроком хранения при 2—5°С не более 7 суток от проверенных здоровых кур. Рекомендуется брать желтки, окрашенные в ярко-оранжевый цвет.

Перед определением желтка скорлупу яиц обеззараживают тампоном, смоченным 70%-ным раствором этилового спирта, или ультрафиолетовыми лучами в настольной бактерицидной камере в течение 10—15 мин.

Яйцо раскалывают стерильным скальпелем, белок сливают в чашку, а желток осторожно перекладывают на стерильный лист фильтровальной бумаги, чтобы удалить остатки белка и оболочку желтка. Желтки перекатывают к краю фильтровальной бумаги, прокалывают оболочку и сливают их в стерильный цилиндр или мензурку.

Измеренное количество желтка вносят в колбу с раствором и тщательно встряхивают до получения однородного цвета.

2. ПРАВИЛА ПРИЕМКИ

2.1. Сухая заготовка ГХЦС среды должна быть принята (проверена) на предприятии-изготовителе (заводе, станции искусственного осеменения) государственным контролером.

2.2. Контрольную проверку ГХЦС среды, а также проверку по требованию потребителя производит Государственный научно-контрольный институт ветеринарных препаратов Министерства сельского хозяйства СССР.

2.3. Серией считают любое количество сухой заготовки ГХЦС среды, изготовленной в одном аппарате, в одно время, обозначенной одним номером, одной даты изготовления и оформленной одним документом о качестве.

2.4. Для проверки качества ГХЦС среды от каждой серии сухой заготовки отбирают выборочно не менее 9 наборов. Из них 6 наборов оставляют в архиве на случай повторных испытаний.

2.5. При получении неудовлетворительных результатов испытаний хотя бы по одному из показателей проводят повторные испытания проб, отобранных от удвоенного количества продукции той же серии.

Результаты повторных испытаний распространяют на всю серию.

2.6. Объем выборок отдельных компонентов, а также отбор проб производят по ГОСТ 3885—66.

3. МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ

3.1. Для определения качества ГХЦС среды один набор сухой заготовки рассыпают тонким слоем на белый и черный листы бумаги и осматривают его на наличие механической примеси и однородности. Из двух других наборов или отдельных компонентов, взятых в соответствии с табл. 1, готовят 500—1000 мл среды.

3.2. Внешний вид, цвет, отсутствие механических примесей и осадка устанавливают осмотром колбы со средой в проходящем свете при периодическом встряхивании.

3.3. Запах определяют органолептически.

3.4. Стерильность приготовленной среды проверяют высевом 1 мл среды на мясопептонный бульон (МПБ), 2%-ный мясопептонный агар (МПА) и мясопептонный печеночный бульон (МППБ) под вазелиновым маслом (среда Китт-Тароцци). Посевы должны оставаться стерильными при выдерживании их в термостате при 37—38°С в течение 10 суток.

3.5. Концентрацию водородных ионов определяют с помощью потенциометра рН-340 или другими приборами того же класса точности.

Правильность показания потенциометра определяют по стандартным буферным растворам с кислым, нейтральным и щелочным значениями рН в соответствии с прилагаемой к прибору инструкцией.

3.6. Осмотическое давление среды определяют по ГОСТ 14746—69.

3.7. Подвижность спермиев в сперме, разбавленной ГХЦС средой, определяют под микроскопом при 40—42°С и увеличении не менее чем в 120 раз по десятибальной оценке.

Для создания на предметном столике микроскопа стабильной температуры применяют термостаты для микроскопов, снабженные стандартными контактными термометрами.

Для определения подвижности спермиев на чистое предметное стекло наносят 3—4 капли разбавленной спермы, накрывают покровным стеклом, подогревают на предметном столике микроскопа в течение 2—3 мин, после чего проводят оценку.

3.8. Определение безвредности

3.8.1. Безвредность среды определяют по показателю абсолютной выживаемости (*S*) спермиев, выживаемости их в часах и по коэффициенту относительной безвредности среды (КОБС).

В особых случаях (при значительном снижении оплодотворяемости и других показаниях) качество среды определяют по оплодотворяемости свиноматок в одну охоту после их искусственного осеменения разбавленной спермой.

3.8.2. Для определения качества среды по выживаемости спермиев применяют густую и среднюю сперму (с концентрацией сперм-

миев не менее 100 млн/мл и подвижностью не ниже 7,5 балла). Полученную сперму перед разбавлением средой выдерживают в течение 20—60 мин.

Среда перед применением должна иметь температуру одинаковую со спермой (22—28°С).

Каждую серию среды проверяют с применением спермы, полученной от одного хряка, или смешанной спермы, полученной от нескольких хряков. Одновременно сперму разбавляют контрольной средой, приготовленной из эталонных препаратов, установленных Государственным научно-контрольным институтом ветеринарных препаратов.

Сперму разбавляют средами в оптимальном (1:2 или 1:3) и максимальном (1:10) соотношениях. В каждом разведении и для каждой среды должно быть не менее 5 повторностей (всего не менее 20 проб). Разбавленную сперму ставят на хранение при 16—20°С и через 2—3 ч, а затем через каждые 24 ч производят оценку подвижности до полной гибели спермиев.

Микроскопическую оценку спермы, учет выживаемости спермиев, подсчет показателя абсолютной выживаемости (S) и выживаемости в часах производят по ГОСТ 14746—69, разд. 2.

3.8.3. Коэффициент относительной безвредности среды (КОБС) вычисляют по формуле

$$\text{КОБС} = \frac{M}{O} = \text{ не ниже } 0{,}7,$$

где M — показатель абсолютной выживаемости спермиев при максимальном разбавлении спермы (1:10);

O — показатель абсолютной выживаемости спермиев при оптимальном разбавлении спермы (1:2 или 1:3).

3.8.4. Если при проверке среды получен показатель абсолютной выживаемости спермиев (S) ниже установленного стандартом, а КОБС не ниже 0,7, то среду не считают токсичной. Для окончательного заключения проводят повторные исследования с применением более качественной спермы.

Исследуемую пробу среды считают токсичной, если показатель абсолютной выживаемости (S) и выживаемость спермиев в часах ниже по сравнению с эталонной средой и установленными нормами более чем на 12%.

3.8.5. При определении качества среды по наступлению беременности и нормальных родов искусственно осеменяют не менее 50 здоровых свиноматок, имевших 2—3 опороса. Охоту устанавливают хряком-пробником. Осеменяют сохраненной (1—3 суточной) спермой, подогретой до температуры 37±1°С, с подвижностью не ниже 6 баллов, двукратно одним из способов, предусмотренных инструкцией по искусственному осеменению свиней. Наступление беременности учитывают только от первичного осеменения. Резуль-

тат предварительно подсчитывают через 45 суток после осеменения по количеству свиноматок, не пришедших повторно в охоту; окончательный подсчет производят по опоросам. Учет результатов осеменения производят в соответствии с требованиями настоящего стандарта.

Качество среды по оплодотворяемости свиноматок определяют комиссионно по указанию Министерства сельского хозяйства СССР с участием представителя Государственного научно-контрольного института ветеринарных препаратов Министерства сельского хозяйства СССР. Для этих целей подбирают хозяйство благополучное по заразным болезням и имеющее сравнительно высокий (не ниже 70%) опорос от первичного осеменения свиноматок.

4. УПАКОВКА, МАРКИРОВКА, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ

4.1. Сухую заготовку ГХЦС среды предприятие-изготовитель выпускает в виде наборов. Каждый компонент в наборе упаковывают в отдельный полиэтиленовый пакет с обозначением наименования компонента или расфасовывают в стерильные стеклянные флаконы вместимостью 10—100 мл.

Края полиэтиленовых пакетов с компонентами закрывают термической сваркой и пакеты укладывают в картонные коробки. Внутрь каждой коробки вкладывают инструкцию по применению среды.

Флаконы закрывают пробками и закатывают алюминиевыми колпачками.

4.2. На каждый флакон или картонную коробку наклеивают этикетку или несмываемой краской на стекле наносят следующие обозначения:

а) наименование или товарный знак предприятия-изготовителя;
б) наименование препарата;
в) количество в граммах;
г) количество дистиллированной воды, необходимое для растворения сухой заготовки;
д) номер серии;
е) номер контроля и дату изготовления;
ж) дату выпуска;
з) срок годности;
и) условия хранения;
к) обозначение настоящего стандарта.

4.3. Флаконы упаковывают в картонные коробки с разделительными перегородками, обеспечивающими неподвижность и целостность флаконов в коробке. Внутрь каждой коробки вкладывают инструкцию по применению среды.

На коробку наклеивают этикетку с теми же обозначениями, что и на флаконе, дополнительно указывая количество флаконов в коробке.

4.4. Коробки с флаконами и коробки с пакетами упаковывают в деревянные ящики массой брутто по 10—12 кг. Ящики маркируют по ГОСТ 14192—71. Дополнительно наносят предупредительные знаки: «Осторожно, стекло!», «Не бросать!» и надпись «Биопрепараты».

4.5. Компоненты, предназначенные для приготовления среды, а также сухие заготовки хранят в чистом, сухом, темном помещении при температуре от 5 до 18°С.

4.6. Приготовленную ГХЦС среду хранят не более 24 ч при 2—5°С, соблюдая требования п. 1.8.

4.7. Сухую заготовку ГХЦС среды транспортируют железнодорожным транспортом в соответствии с правилами перевозки биопрепаратов и другими видами транспорта при соблюдении условий, указанных в п. 4.5.

5. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

5.1. Изготовитель гарантирует соответствие выпускаемой ГХЦС среды требованиям настоящего стандарта при соблюдении потребителем условий хранения и применения, установленных стандартом.

5.2. Срок хранения ГХЦС среды в готовом виде — 24 ч с момента приготовления среды.

5.3. Срок хранения сухой заготовки ГХЦС среды — 1 год с момента изготовления.

gost.e-ecolog.ru

Редактор *И. Е. Шестакова*

Сдано в наб. 29/V 1972 г Подп. в печ. 6/VII 1972 г 0,5 п. л. Тир. 6000

Издательство стандартов. Москва, Д 22, Новопресненский пер., 3
Тип. «Московский печатник». Москва, Лялин пер., 6. Зак. 745