МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 28424— 2014

Средства воспроизводства
ЭМБРИОНЫ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА
Технические условия

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2015

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0–92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2–2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Государственным научным учреждением Всероссийским научно-исследовательским институтом животноводства Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВИЖ Россельхозакадемии)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 25 июня 2014 г. № 45-2014)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004–97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004–97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 19 августа 2014 г. № 890-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 28424–2014 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2015 г.

5 ВЗАМЕН ГОСТ 28424–90

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок – в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования – на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет

© Стандартинформ, 2015

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

Средства воспроизводства

ЭМБРИОНЫ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Технические условия

Product for reproduction.
Bovine embryos.
Specifications

Дата введения – 2015–07–01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на свежеполученные и замороженные эмбрионы крупного рогатого скота (далее – эмбрионы), предназначенные для пересадки животным-реципиентам.

Требования к качеству и безопасности эмбрионов изложены в 4.1 – 4.4, к маркировке – в 4.5.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 12.1.008–76 Система стандартов безопасности труда. Биологическая безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.2.003–91 Система стандартов безопасности труда. Оборудование производственное. Общие требования безопасности

ГОСТ 12.3.002–75 Система стандартов безопасности труда. Процессы производственные. Общие требования безопасности

ГОСТ 6259–75 Реактивы. Глицерин. Технические условия

ГОСТ 9293–74 Азот газообразный и жидкий. Технические условия

ГОСТ 10164–75 Реактивы. Этиленгликоль. Технические условия

ГОСТ 19710–83 Этиленгликоль. Технические условия

ГОСТ 26030–83 Сперма быков замороженная. Технические условия

ГОСТ 27775–88 Искусственное осеменение сельскохозяйственных животных. Термины и определения

ГОСТ 28085–89 Препараты биологические. Метод бактериологического контроля стерильности

П р и м е ч а н и е — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов по указателю «Национальные стандарты», составленному по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом, следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены термины по ГОСТ 27775.

4 Технические требования

4.1 Общие требования

4.1.1 Эмбрионы должны соответствовать требованиям настоящего стандарта и [1], быть получены в центрах и пунктах трансплантации эмбрионов в соответствии с требованиями [2], правилами по трансплантации эмбрионов и ветеринарно-санитарными требованиями, действующими на территории государства, принявшего стандарт.

4.1.2 Все манипуляции по получению, обработке, использованию и хранению эмбрионов проводят в соответствии с 4.1.1 с использованием стерильных инструментов, материалов и сред, безопасных для эмбрионов.

4.2 Требования к донорам яйцеклеток (в последующем – эмбрионов) и спермы

4.2.1 Эмбрионы получают от клинически здоровых самок крупного рогатого скота, осемененных спермой быков по ГОСТ 26030.

4.2.2 Доноров яйцеклеток (в последующем – эмбрионов) отбирают из поголовья, на которое не наложены ветеринарные ограничения по причине наличия болезни или возбудителя болезни, которые не входят в категорию 1 в соответствии с приложением А.

4.2.3 Доноры яйцеклеток (в последующем – эмбрионов) должны подбираться с учетом комплекса селекционно-генетических признаков, иметь продуктивность (молочную, мясную, мясомолочную), превышающую стандарт породы.

4.2.4 Самок крупного рогатого скота перед отбором в качестве доноров яйцеклеток (в последующем – эмбрионов) подвергают клиническому осмотру. На каждое животное оформляют документ с указанием клинического состояния здоровья, благополучия по инфекционным заболеваниям с указанием даты проведения последних диагностических исследований и обработок.

4.2.5 Быки-производители, сперму которых используют для осеменения самок-доноров, должны находиться на племенных предприятиях, отвечающих требованиям по ветеринарному благополучию и здоровью животных, а также по соблюдению санитарно-гигиенических условий отбора, замораживания, хранения и отправки спермы, действующих на территории государства, принявшего стандарт.

4.2.6 Племенные животные должны иметь подтверждение достоверности происхождения и отсутствия генетических аномалий.

4.3 Требования к процедурам предотвращения распространения инфекционных заболеваний через эмбрионы, отобранные *in vivo*

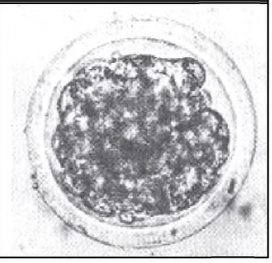
4.3.1 По отношению к болезням, не входящим в категорию 1 (см. приложение А), учитывают ветеринарно-санитарное положение страны или зоны, экспортирующей эмбрионы, ветеринарно-санитарное состояние поголовья и доноров эмбрионов, а также патогенность возбудителей, от которых стремится защититься страна, импортирующая эмбрионы.

4.3.2 Для предотвращения заражения инфекционными заболеваниями, которые не входят в категорию 1 (см. приложение А), проводят надзор за животными – донорами яйцеклеток (в последующем – эмбрионов) и поголовьем их происхождения в течение средней длительности инкубационного периода болезней, а также лабораторные исследования жидкостей после отбора и отмывки эмбрионов или других биологических материалов (например, крови) на предмет определенных патогенных возбудителей болезней.

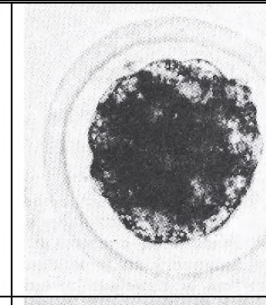
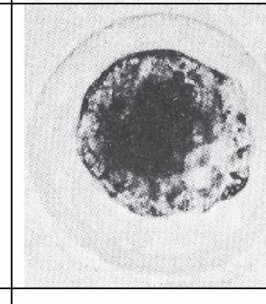
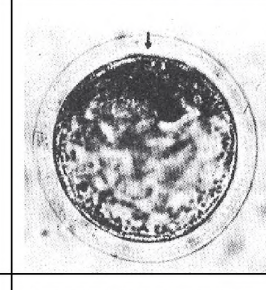
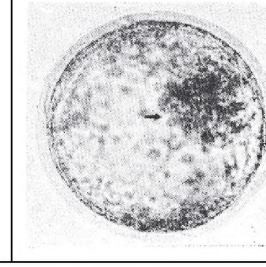
4.4 Характеристики эмбрионов

4.4.1 Полученные на седьмой день после искусственного осеменения самок-доноров эмбрионы должны быть на стадии развития ранней морулы (Мо I), поздней морулы (Мо II), ранней бластоцисты (Бл I), экспандированной бластоцисты (Бл II), полностью экспандированной бластоцисты (Бл III) с показателями в соответствии с таблицей 1.

Таблица 1 – Характеристика стадий развития эмбрионов

Стадия развития эмбриона	Показатели			Морфология
	Время с момента оплодотворения, ч	Размер, мм	Число бластомеров	
Ранняя морула	90 – 125	0,13	16 – 32	

Окончание таблицы 1

Стадия развития эмбриона	Показатели			Морфология
	Время с момента оплодотворения, ч	Размер, мм	Число бластомеров	
Поздняя морула	120 – 145	0,13	32 – 64	
Ранняя бластоциста	140 – 175	0,13 – 0,15	Более 64	
Экспандированная бластоциста	160 – 210	0,14 – 0,20	64 – 130	
Полностью экспандированная бластоциста	160 – 210	0,14 – 0,20	130 – 200	

4.4.2 В зависимости от оценки морфологических показателей, указанных в таблице 2, полученным эмбрионам присваивают код качества от 1 до 4 в соответствии с приложением Б.

Таблица 2 – Оценка морфологических показателей эмбриона в зависимости от стадии развития

Стадия развития эмбриона	Оценка морфологических показателей эмбриона				
	Отличные	Хорошие	Удовлетворительные	Условно годные	Непригодные*
Морула ранняя (Mo I), код стадии развития: 3; Морула поздняя (Mo II), код стадии развития: 4	Эмбрион сферической формы, симметричный. Бластомеры четкие, одинаковы по размеру и плотности, окраске. Зона пеллюцида округлая без трещин и сколов; перивителлиновое пространство без посторонних включений	Эмбрион сферической формы, симметричный. Клеточный комплекс несколько сжат. Бластомеры четкие, расположены ассиметрично, неодинаковы по размеру. Зона пеллюцида округлая без трещин и сколов; наличие включений в перивителлиновом пространстве	Эмбрион сферической формы или незначительно деформирован. Клеточный комплекс сжат, смещен относительно центра. Бластомеры расположены ассиметрично, некоторые темнее; грануляция отдельных клеток. Связь между отдельными бластомерами отсутствует. Зона пеллюцида с незначительным сколом или трещиной; наличие включений в перивителлиновом пространстве	Эмбрион сферической формы или деформирован; клеточный комплекс сжат, смещен; нарушена связь цитоплазмы с перивителлиновым пространством; выделено значительное количество бластомеров; связь между отдельными бластомерами отсутствует; потемнение или пикноз большей части бластомеров	Эмбрион сферической формы или деформирован; бластомеры разрушены, не связаны между собой; значительная часть бластомеров за пределами клеточного комплекса; перивителлиновое пространство заполнено отдельными клетками и фрагментами; зона пеллюцида деформирована, имеет разрывы
	Нарушения относительно минимальны. Не менее 85 % интактных жизнеспособных клеток. Это решение основывается на процентном отношении эмбриональных клеток, выделенных в перивителлиновое пространство. Зона пеллюцида сферической формы, гладкая без плоских и вогнутых участков, которые могут быть причиной удерживания эмбриона в чашке Петри или пайете		Умеренные нарушения общей формы клеточной массы или размера, цвета, плотности отдельных клеток. Не менее 50 % интактных и жизнеспособных клеток	Значительные нарушения формы клеточной массы, цвета и плотности отдельных бластомеров. Не менее 25 % интактных и жизнеспособных клеток	

Продолжение таблицы 2

Стадия развития эмбриона	Оценка морфологических показателей эмбриона				
	Отличные	Хорошие	Удовлетворительные	Условно годные	Непригодные*
Бластоциста ранняя (Бл I), код стадии развития: 5	Эмбрион сферической формы; видна небольшая полость; бластомеры равномерные; трофобласт более светлый, чем эмбриобласт. Не менее 85 % интактных жизнеспособных клеток		Эмбрион сферической формы; видна небольшая полость; трофобласт смещен относительно центра. Не менее 50 % интактных и жизнеспособных клеток	Эмбрион сферической формы; видна небольшая полость; клеточный комплекс деформирован; трофобласт трудно различим. Не менее 25 % интактных и жизнеспособных клеток	Эмбрион сферической формы или деформирован; зона пеллюцида повреждена, большая часть бластомеров разрушена
Бластоциста экспандированная (Бл II), код стадии развития: 6	Эмбрион сферической формы; перивителлиновое пространство отсутствует; бластополость большая прозрачная; трофобласт и эмбриобласт четко выражены, эмбриобласт компактный; зона пеллюцида гладкая, прозрачная, без повреждений	Эмбрион сферической формы; перивителлиновое пространство отсутствует; бластополость большая прозрачная; трофобласт и эмбриобласт четко выражены, эмбриобласт имеет один–два выделенных бластомера; зона пеллюцида гладкая, прозрачная, без повреждений	Эмбрион сферической формы; перивителлиновое пространство отсутствует; бластополость большая, прозрачная; трофобласт и эмбриобласт четко выражены, эмбриобласт деформирован, имеет несколько выделенных бластомеров; зона пеллюцида прозрачная с незначительным сколом или трещиной	Эмбрион сферической формы; перивителлиновое пространство отсутствует; бластополость большая с незначительными включениями; трофобласт и эмбриобласт четко выражены, но связь между отдельными клетками нарушена, эмбриобласт деформирован, имеет несколько выделенных бластомеров; зона пеллюцида деформирована, имеет значительные сколы или трещины	Эмбрион сферической формы или деформирован; перивителлиновое пространство отсутствует; бластополость большая или сжата, затемнена, имеет включения; трофобласт и эмбриобласт деформированы, связь между клетками отсутствует, большинство клеток разрушены; зона пеллюцида деформирована, имеет значительные сколы или трещины
	Не менее 85 % интактных жизнеспособных клеток		Не менее 50 % интактных и жизнеспособных клеток	Не менее 25 % интактных и жизнеспособных клеток	

Окончание таблицы 2

Стадия развития эмбриона	Оценка морфологических показателей эмбриона				
	Отличные	Хорошие	Удовлетворительные	Условно годные	Непригодные*
Бластоциста полностью экспандированная (Бл III), код стадии развития: 7	Эмбрион сферической формы; перивителлиновое пространство отсутствует; эмбриобласт отчетливо ограничен; трофобласт правильной формы, упорядочен; полость большая прозрачная; зона пеллюцида несколько растянута, гладкая		Эмбрион сферической формы; перивителлиновое пространство отсутствует; эмбриобласт отчетливо ограничен; трофобласт правильной формы, упорядочен; полость сжата; зона пеллюцида гладкая	Эмбрион сферической формы; перивителлиновое пространство отсутствует; эмбриобласт и трофобласт нечетко выражены; полость сжата; зона пеллюцида незначительно повреждена	Эмбрион деформирован; эмбриобласт и трофобласт нечетко выражены, сжаты или рыхлые; связь между клетками отсутствует; полость сжата; зона пеллюцида значительно повреждена

* К непригодным также относят эмбрионы до 16-клеточной стадии и неоплодотворенные ооциты (см. таблицу 1).

4.4.3 В коммерческих целях могут быть использованы только эмбрионы, которым присвоен код качества 1.

4.4.4 Свежеполученные эмбрионы не должны быть контаминированы патогенными и условно патогенными микроорганизмами, грибами, вирусами и другими микроорганизмами.

4.5 Упаковка

4.5.1 Каждую партию свежеполученных эмбрионов после определения морфологических показателей помещают и укупоривают в пайеты со средой для хранения эмбрионов, представляющую собой стерильный фосфатно-буферный раствор, содержащий альбумин сыворотки крови крупного рогатого скота (*BSA*) концентрацией 4 г/дм^3 или фетальную сыворотку крови крупного рогатого скота (*FCS*) концентрацией 20 см^3/дм^3 и антимикробный препарат (гентамицин концентрацией 0,05 г/дм^3 или полиген концентрацией 0,3 г/дм^3).

4.5.2 Эмбрионы, предназначенные для замораживания, после промывки и экспозиции в криопротекторе (глицерин концентрацией 1,0 моль/дм^3 или 1,4 моль/дм^3 по ГОСТ 6259 или этиленгликоль концентрацией 1,5 моль/дм^3 по ГОСТ 10164 или ГОСТ 19710, помещают в пайеты, укупоривают и замораживают в предусмотренных для этих целей программных замораживателях в соответствии с правилами, действующими на территории государства, принявшего стандарт.

4.5.3 Пайеты с замороженными эмбрионами помещают в контейнеры (гоблеты, канистры, тубы), которые переносят в сосуд Дьюара с жидким азотом по ГОСТ 9293.

4.5.4 Упаковочные и укупорочные материалы должны соответствовать требованиям документов, в соответствии с которыми они изготовлены, и обеспечивать сохранность качества и безопасность эмбрионов при перевозках, хранении и реализации.

4.6 Маркировка

Каждую пайету маркируют, нанося маркером номер партии и дату получения эмбрионов.

5 Требования безопасности

5.1 Производственный процесс и оборудование должны соответствовать требованиям ГОСТ 12.2.003 и ГОСТ 12.3.002.

5.2 Требования безопасности, производственной санитарии и санитарно-противоэпидемического режима должны соответствовать требованиям ГОСТ 12.1.008 и требованиям, действующим на территории государства, принявшего стандарт.

5.3 Утилизацию эмбрионов проводят кипячением в течение 20 мин.

6 Правила приемки

6.1 Свежеполученные и замороженные эмбрионы принимают партиями.

Под партией понимают любое количество эмбрионов, полученное от одного донора эмбрионов за один технологический цикл и оформленное одним документом, удостоверяющим качество и безопасность эмбрионов.

6.2 Каждая партия свежеполученных и замороженных эмбрионов должна быть проверена и принята соответствующим специалистом предприятия-изготовителя.

6.3 Экспортируемые эмбрионы должны сопровождаться документом, подтверждающим благополучие животных, от которых они получены, а также соответствие условий получения и замораживания эмбрионов международным требованиям [3] (см. приложение В).

6.4 Каждая партия замороженных эмбрионов, предназначенных для пересадки, должна быть принята специалистом по пересадке эмбрионов предприятия-изготовителя или предприятия-получателя.

7 Методы контроля

7.1 Определение качества эмбрионов по морфологическим показателям

Качество эмбрионов по морфологическим показателям определяют у всех свежеполученных эмбрионов. Качество замороженных эмбрионов после оттаивания определяют в случае использования многоступенчатого насыщения эмбриона криопротектором или, при необходимости, в случае одноступенчатого насыщения (при использовании этиленгликоля).

7.1.1 Оборудование, материалы и среды

7.1.1.1 Термостат, обеспечивающий поддержание температуры (37 ± 1) °С.

7.1.1.2 Микроскоп инвертированный.

7.1.1.3 Лупа бинокулярная.

7.1.1.4 Столик нагревательный.

7.1.1.5 Сифон или фильтр для отбора промывной среды.

7.1.1.6 Чашки Петри диаметром 90 и 35 мм для поиска и сбора эмбрионов.

7.1.1.7 Флаконы вместимостью 450 – 500 $см^3$.

7.1.1.8 Пипетки для отлова эмбрионов.

7.1.1.9 Среда фосфатно-буферная, содержащая альбумин сыворотки крови крупного рогатого скота (*BSA*) концентрацией 4 $г/дм^3$ или фетальную сыворотку крови крупного рогатого скота (*FCS*) концентрацией 20 $см^3/дм^3$ и антимикробный препарат (гентамицин концентрацией 0,05 $г/дм^3$ или полиген концентрацией 0,3 $г/дм^3$).

7.1.1.10 Трипсин, раствор массовой долей 0,25 %.

Допускается использование другого оборудования с техническими характеристиками, а также материалов и сред по качеству не ниже вышеуказанных.

7.1.2 Подготовка к испытанию

Раствор, полученный с соблюдением правил асептики в отдельный флакон после вымывания эмбрионов из каждого рога матки самки-донора, выдерживают при температуре от 18 °С до 25 °С в течение 20 мин или в термостате при температуре 37 °С в течение 20 мин для осаждения эмбрионов. Верхнюю часть раствора удаляют с помощью сифона, оставляя 80 – 100 $см^3$ раствора. Оставшийся раствор переносят в две–три чашки Петри диаметром 90 мм.

При использовании промывочной системы с фильтром отфильтрованный раствор просматривают непосредственно в прилагаемой к системе емкости для сбора эмбрионов.

7.1.3 Проведение испытания

Эмбрионы просматривают под бинокулярной лупой при увеличении 20^X – 28^X.

Эмбрионы с оценкой «непригодные» удаляют.

Эмбрионы, пригодные к пересадке и замораживанию и отобранные в чашки Петри диаметром 35 мм со средой по 7.1.1.9, не менее десяти раз переносят для промывки в чистую фосфатно-буферную среду, используя при каждом переносе эмбрионов новую пипетку. Допускается групповая промывка эмбрионов, взятых у одной самки-донора, но их число не должно превышать десяти в каждой промывке.

В случае, когда требуется проведение операций по инактивации или удалению вирусов (например, герпесвирус-1 крупного рогатого скота, вирус болезни Ауески), проводят дополнительную промывку 0,25 %-ным раствором трипсина.

После промывки зону пеллюцида каждого эмбриона исследуют по всей поверхности при увеличении 50^X – 100^X для признания ее неповрежденной и не имеющей никаких посторонних включений.

7.1.4 Обработка результатов

Оценку качества эмбрионов по морфологическим показателям проводят на соответствие требованиям, указанным в 4.4.

Свежеполученные эмбрионы с оценкой «отличные и хорошие» подлежат прямой пересадке животным-реципиентам или замораживанию.

Свежеполученные эмбрионы с оценкой «удовлетворительные», «условно пригодные» пересаживают животным-реципиентам.

Замороженные эмбрионы, получившие после оттаивания оценку «отличные и хорошие», «удовлетворительные» и «условно пригодные», пересаживают животным-реципиентам.

Эмбрионы с оценкой «непригодные» выбраковывают.

7.2 Определение санитарного состояния эмбрионов

7.2.1 Санитарное состояние определяют у свежеполученных эмбрионов, подлежащих пересадке или замораживанию.

7.2.2 Санитарное состояние свежеполученных эмбрионов, а также эмбрионов, подлежащих замораживанию, устанавливают на основании выборочного микробиологического исследования предпоследнего промывочного раствора соответствующей среды, не менее чем от шести партий эмбрионов в один квартал.

7.2.3 Для определения санитарного состояния эмбрионов отбирают по 2 $см^3$ соответствующей среды – 1 $см^3$ среды используют для микробиологических исследований, 1 $см^3$ среды помещают в пробирку, плотно закрывают, маркируют и хранят в замороженном виде до использования всех эмбрионов данной партии.

7.2.5 Контроль стерильности сред проводят по ГОСТ 28085.

8 Транспортирование и хранение

8.1 Эмбрионы транспортируют в сопровождении специалиста с соблюдением правил асептики. Время транспортирования свежеполученных эмбрионов не должно превышать пять часов.

8.2 Эмбрионы транспортируют всеми видами транспорта в соответствии с правилами перевозок скоропортящихся грузов и багажа, действующими на данном виде транспорта.

8.3 Оттаянные эмбрионы пересаживают реципиентам в течение 10 – 15 мин.

8.4 Эмбрионы хранят в стерильных укупоренных пайетах с соблюдением требований [2] в специально предназначенном для этого хранилище.

Приложение А
(справочное)

Рекомендации по риску передачи болезней через эмбрионы, отобранные *in vivo*

А.1 В соответствии с [4] следующие болезни и возбудители болезней классифицированы в четыре категории. Данная классификация относится исключительно к эмбрионам, отобранным *in vivo*.

В категорию 1 включены болезни и возбудители болезней, в отношении которых имеются надежные доказательства, позволяющие утверждать, что риск передачи незначителен, при условии, что обращение с эмбрионами проводилось надлежащим образом.

В категорию 1 включены следующие болезни и возбудители болезней:

- *Brucella abortus* (поражает крупный рогатый скот);
- губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота (поражает крупный рогатый скот);
- ящур (поражает крупный рогатый скот);
- катаральная лихорадка овец (поражает крупный рогатый скот);
- энзоотический лейкоз крупного рогатого скота;
- болезнь Ауески: требует обработки трипсином (поражает крупный рогатый скот, оленей, овец, свиней, лошадей и др.);
- инфекционный ринотрахеит крупного рогатого скота: требует обработки трипсином.

В категорию 2 включены болезни и возбудители болезней, в отношении которых имеются доказательства, достаточные, чтобы утверждать, что риск передачи незначителен, при условии, что обращение с эмбрионами проводилось надлежащим образом, но в отношении которых имеющиеся данные должны быть перепроверены в ходе новых трансплантаций.

В категорию 2 включены следующие болезни и возбудители болезней:

- катаральная лихорадка овец (к заболеванию восприимчив крупный рогатый скот).

В категорию 3 включены болезни и возбудители болезней, в отношении которых имеются определенные доказательства, позволяющие утверждать, что риск передачи незначителен, при условии, что обращение с эмбрионами проводилось надлежащим образом, но в отношении которых эти определенные доказательства должны быть подкреплены дополнительными экспериментальными результатами в ходе новых трансплантаций *in vivo* или *in vitro*.

В категорию 3 включены следующие болезни и возбудители болезней:

- *Campylobacter fetus*;
- губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота;
- *Haemophilus somnus* (поражает крупный рогатый скот);
- *Micobacterium paratuberculosis* (поражает крупный рогатый скот);
- *Neospora caninum* (поражает крупный рогатый скот)
- чума крупного рогатого скота (поражает крупный рогатый скот);
- репродуктивно-респираторный синдром свиней [болезнь часто протекает в ассоциации с другими инфекциями (болезнь Ауески, парвовирусная и энтеровирусная инфекция, энцефаломиокардит, грипп, лептоспироз и др.)];
- вирус иммунодефицита крупного рогатого скота;
- вирус вирусной диареи крупного рогатого скота.

В категорию 4 включены болезни и возбудители болезней, в отношении которых проведены или проводятся исследования, показавшие:

- что пока никаких заключений о риске передачи сделать нельзя или
- что риск передачи путем пересадки эмбрионов не может быть незначительным, даже если обращение с эмбрионами проводилось надлежащим образом.

В категорию 4 включены следующие болезни и возбудители болезней:

- анаплазмоз крупного рогатого скота;
- *Chlamydia psittaci* (поражает крупный рогатый скот, овец);
- энтеровирус (поражает крупный рогатый скот, свиней);
- заразный узелковый дерматит;
- *Escherichia coli* O9:K99 (поражает крупный рогатый скот);
- катаральная лихорадка овец [коз (у крупного рогатого скота возможны аборты, рождение уродливого потомства)];
- гепрпесвирус-4 крупного рогатого скота;
- *Leptospira borgpetersenii* серовар *hardjobovis* (крупный рогатый скот);

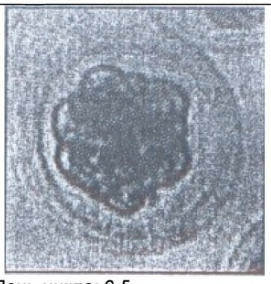
- болезнь Бордера (обладает высокой патогенностью для плодов крупного рогатого скота);
- *Mycobacterium bovis* (поражает крупный рогатый скот);
- везикулярный стоматит (поражает крупный рогатый скот, свиней);
- *Trichomonas foetus* (поражает крупный рогатый скот);
- *Ureaplasma / Mycoplasma spp.* (поражает крупный рогатый скот, коз);
- вирус Акабане (поражает крупный рогатый скот);
- вирус парагриппа-3 (поражает крупный рогатый скот).

Приложение Б
(справочное)

Эмбрионы крупного рогатого скота: стадии развития и качество



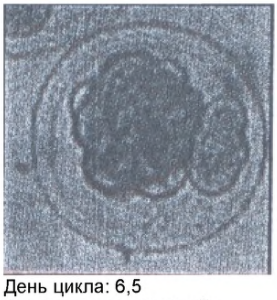
День цикла: 6
Код стадии развития: 3
Код качества: 1
Комментарии: *a*



День цикла: 6,5
Код стадии развития: 3
Код качества: 1
Комментарии: *a*



День цикла: 6,5
Код стадии развития: 3
Код качества: 2
Комментарии: *a, b*



День цикла: 6,5
Код стадии развития: 3
Код качества: 2
Комментарии: *a, b*



День цикла: 6,5
Код стадии развития: 4
Код качества: 1
Комментарии: *b, c, d*



День цикла: 7
Код стадии развития: 4
Код качества: 1



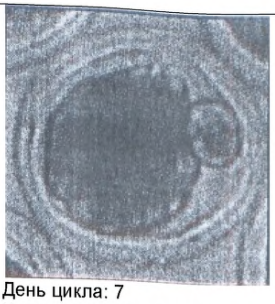
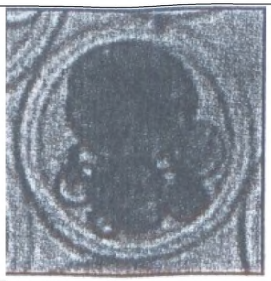
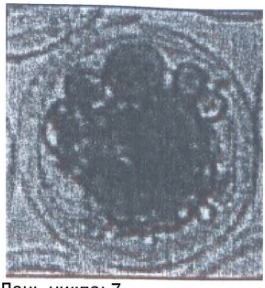
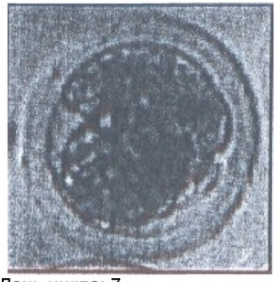
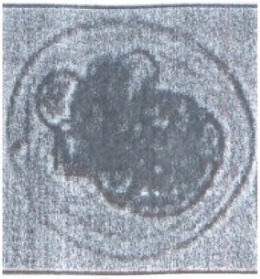
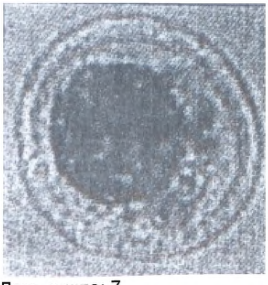
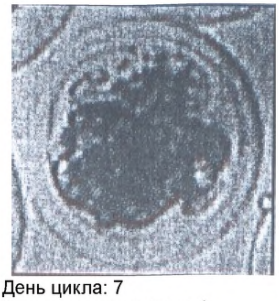
День цикла: 7
Код стадии развития: 4
Код качества: 1

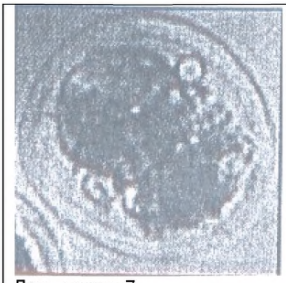


День цикла: 7
Код стадии развития: 4
Код качества: 1
Комментарии: *d*



День цикла: 7
Код стадии развития: 4
Код качества: 1
Комментарии: *d*

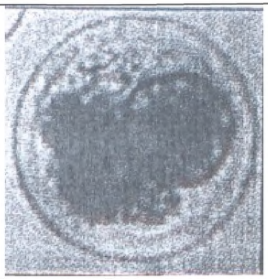
 День цикла: 7 Код стадии развития: 4 Код качества: 1 Комментарии: *d*	 День цикла: 7 Код стадии развития: 4 Код качества: 2 Комментарии: *b*	 День цикла: 7 Код стадии развития: 4 Код качества: 2 Комментарии: *b*
 День цикла: 7 Код стадии развития: 4 Код качества: 2 Комментарии: *b*	 День цикла: 7 Код стадии развития: 4 Код качества: 2 Комментарии: *b, e*	 День цикла: 7 Код стадии развития: 4 Код качества: 2 Комментарии: *b*
 День цикла: 7 Код стадии развития: 4 Код качества: 2	 День цикла: 7 Код стадии развития: 4 Код качества: 3 Комментарии: *f, g*	 День цикла: 7 Код стадии развития: 4 Код качества: 3 Комментарии: *f, g*



День цикла: 7
Код стадии развития: 4
Код качества: 3
Комментарии: *f, g*



День цикла: 7
Код стадии развития: 4
Код качества: 3
Комментарии: *f, g*



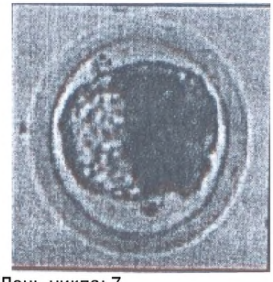
День цикла: 7
Код стадии развития: 4
Код качества: 3
Комментарии: *f, g*



День цикла: 7
Код стадии развития: 4
Код качества: 3
Комментарии: *f, g, h*



День цикла: 7
Код стадии развития: 5
Код качества: 1



День цикла: 7
Код стадии развития: 5
Код качества: 3
Комментарии: *d*



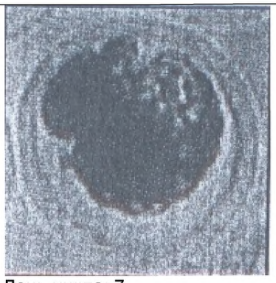
День цикла: 7
Код стадии развития: 5
Код качества: 1



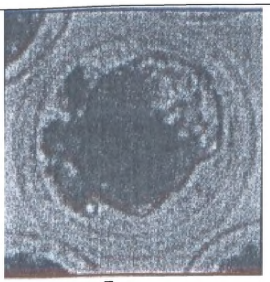
День цикла: 7
Код стадии развития: 5
Код качества: 1
Комментарии: *d, h*



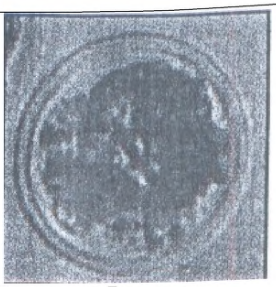
День цикла: 7
Код стадии развития: 5
Код качества: 2
Комментарии: *e*



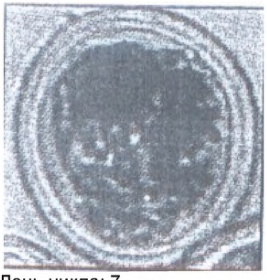
День цикла: 7
Код стадии развития: 5
Код качества: 2



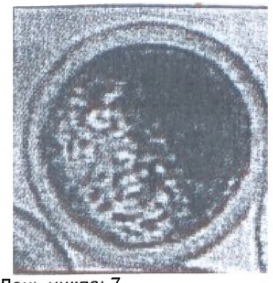
День цикла: 7
Код стадии развития: 5
Код качества: 2



День цикла: 7
Код стадии развития: 5
Код качества: 3
Комментарии: *g*



День цикла: 7
Код стадии развития: 5
Код качества: 3



День цикла: 7
Код стадии развития: 6
Код качества: 1



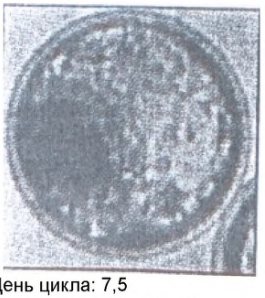
День цикла: 7,5
Код стадии развития: 6
Код качества: 1
Комментарии: *k*



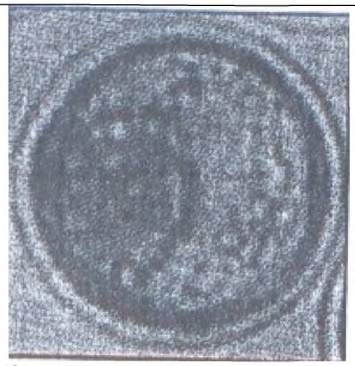
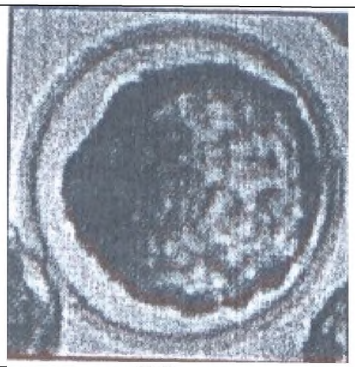
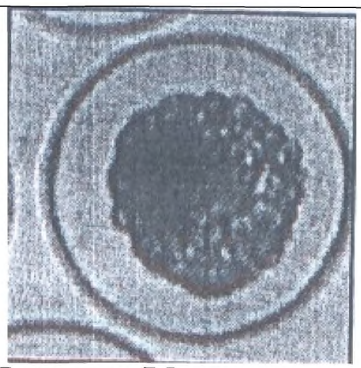
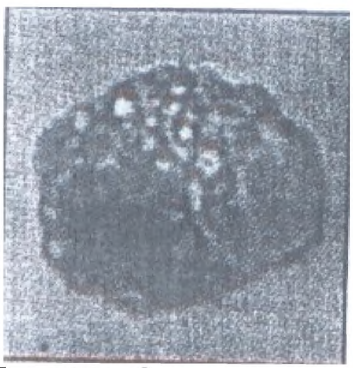
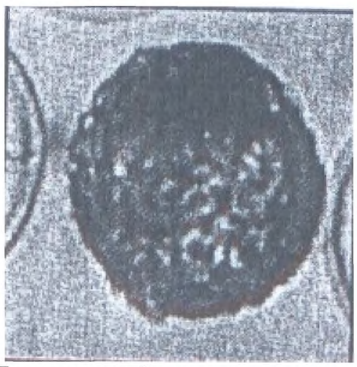
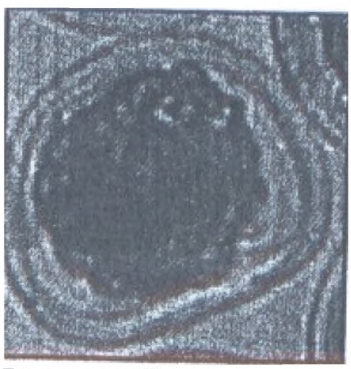
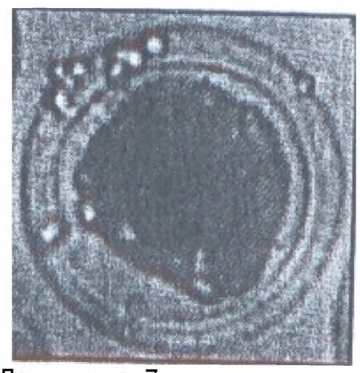
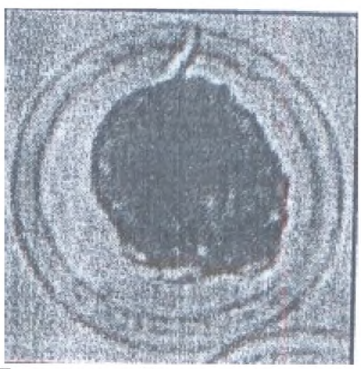
День цикла: 7,5
Код стадии развития: 6
Код качества: 1
Комментарии: *d, k*



День цикла: 7,5
Код стадии развития: 6
Код качества: 2
Комментарии: *k*



День цикла: 7,5
Код стадии развития: 7
Код качества: 1

 День цикла: 7,5 Код стадии развития: 7 Код качества: 1	 День цикла: 7,5 Код стадии развития: 7 Код качества: 1 Комментарии: *j*	 День цикла: 7,5 Код стадии развития: 7 Код качества: 1 Комментарии: *j*
 День цикла: 7,5 Код стадии развития: 7 Код качества: 2 Комментарии: *j, k*	 День цикла: 8 Код стадии развития: 8 Код качества: 1 Комментарии: *j*	 День цикла: 8 Код стадии развития: 8 Код качества: 1 Комментарии: *j*
 День цикла: 7 Код стадии развития: 4 Код качества: 2 Комментарии: *l*	 День цикла: 7 Код стадии развития: 4 Код качества: 1 Комментарии: *m*	 День цикла: 7 Код стадии развития: 4 Код качества: 1 Комментарии: *n*

Комментарии

a – Если подобные эмбрионы извлечены на седьмой день или позже, но стадия их развития не соответствует ожидаемой, то показатель качества снижается на один балл.

b – Крупные клетки, выделенные из клеточной массы ранее 16-клеточной стадии, составляют не

более 15 % всего клеточного материала до стадии поздней морулы.

c – Отдельные большие бластомеры указывают на то, что компактизация не завершена и он является более ранним.

d – Выделенные или маленькие бластомеры составляют менее чем 15 % от всей клеточной массы, эмбрион соответствует стадии развития.

e – Сперматозоиды на зоне пеллюцида.

f – Выделенные клетки или дебрис (посторонние включения) представляют трудности для определения наличия, качества и жизнеспособности эмбриона.

g – Код качества 3 относится к эмбрионам, у которых менее 50 % клеток в пределах зоны пеллюцида.

h – Эмбрионы содержат качественные клетки, но их очень мало. Если эмбриональных клеток менее 25 % всего клеточного материала, им присваивают код качества 4 (непригодные).

i – Неправильная форма и изменения в развитии полости бластоцисты.

j – Сжатие полости бластоцисты считается нормальным физиологическим процессом, что не снижает качественную оценку.

k – Выделение клеток на стадиях экспандированной, полностью экспандированной и вылупившейся бластоцисты часто сжимают зону пеллюцида в случае физиологического коллапса или при введении криопротектора.

l – Эмбрион имеет плоскую или вогнутую зону пеллюцида, что может послужить причиной его фиксации в чашке Петри или пайете. Этот дефект не позволяет дать им высшую оценку, но не является причиной выбраковки в рамках определенных коммерческих соглашений, если нет других причин для снижения оценки.

m – Посторонние клеточные включения на поверхности зоны пеллюцида указывают, что эмбрион не был отмыт надлежащим образом.

n – Эмбрион имеет трещину зоны пеллюцида. Эмбрионы, не имеющие интактную зону пеллюцида в интернациональных коммерческих программах, не утилизируют.

Приложение В
(рекомендуемое)

Пример оформления документа, подтверждающего благополучие животных, от которых получены эмбрионы, а также соответствие условий получения и замораживания эмбрионов международным требованиям

Ветеринарный сертификат на эмбрионы крупного рогатого скота

Страна……..
Учреждение, выдавшее сертификат……..
Раздел 1 Происхождение эмбрионов
Место происхождения эмбрионов (страна, край, республика, область, район)……..
Название центра (пункта) сбора эмбрионов……..
Вид упаковки……
Маркировка……
Название и адрес экспортера……..
Раздел 2 Место назначения эмбрионов
Место назначения эмбрионов……
Страны транзита……..
Пункт пересечения границы……
Название и адрес получателя……..
Средство транспортировки……
Раздел 3 Информация о состоянии здоровья
Настоящим удостоверяется следующее:

1 Экспортируемые эмбрионы крупного рогатого скота получены от здоровых племенных животных.

2 Животные-доноры находились под наблюдением ветеринарных специалистов в хозяйствах и стадах, благополучных по инфекционным и инвазионным заболеваниям, в течение не менее шести месяцев до отбора спермы и эмбрионов: туберкулеза (*tuberculosis*), паратуберкулеза (*paratuberculosis*), бруцеллеза (*brucellosis*), лейкоза (*leucosis*), инфекционного ринотрахеита (*rhinotracheitis infectiosa bovum*), вирусной диареи (*diarrhea viralis bovum*), трихомоноза (*trichomoniasis*), кампилобактериоза (*campylobacteriosis*), сибирской язвы (*anthrax*), блутанга (*bluetoungue*), эпизоотического аборта (*epizootical abortus*), лептоспироза (*leptospirosis*), хламидиоза (*chlamydiosis*), микоплазмоза (*mycoplasmosis*), чумы (*pestis bovum*), инфекционной плевропневмонии крупного рогатого скота (*pleuropneumonis infectiosa bovum*), ящура (*aphtae epizooticae*).

3 Поголовье животных пункта, где получены эмбрионы, подвергается регулярным диагностическим исследованиям; содержание животных и извлечение эмбрионов проводится с соблюдением санитарных требований.

Производитель……., донор……исследовались на следующие заболевания с отрицательными результатами:

1) туберкулез……
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……

4 Животные-доноры обрабатывались ……
препаратом в дозировке, рекомендуемой производителем.

5 Племенные животные (доноры спермы и эмбрионов) протестированы на достоверность происхождения.

6 У животных, от которых получены эмбрионы, их родителей и потомства нет генетически обусловленных заболеваний.

7 Сперма, использованная для осеменения животных-доноров, отвечает требованиям для экспорта в……..

(место назначения)

Копия ветеринарного сертификата на сперму прилагается.

8 Самки-доноры содержались в одном и том же хозяйстве в течение 60 дней перед извлечением эмбрионов и не имели контакта с животными, ввезенными в страну в течение последних 12 мес.

9 Эмбрионы были собраны и обработаны сотрудниками указанного выше цента (пункта), который:

а) уполномочен и имеет разрешение, позволяющее заниматься данным видом деятельности;

б) осуществил получение, обработку, хранение и транспортирование эмбрионов в соответствии с методами, рекомендованными Международным обществом трансплантации эмбрионов (*IETS*) и Всемирной организацией здравоохранения животных.

10 Среды, инструменты для сбора, обработки и хранения эмбрионов свободны от патогенных микроорганизмов и безопасны для эмбрионов.

11 Эмбрионы помещены в пайеты, которые маркированы в соответствии с руководством Международным обществом трансплантации эмбрионов (*IETS*).

12 Эмбрионы заморожены в……

(указать криопротектор и режим замораживания)

13 Контейнер для транспортирования очищен и продезинфицирован безопасными для эмбрионов средствами и заполнен жидким азотом.

14 Режим оттаивания:……

Опись эмбрионов

№ контейнера	№ пайеты	Характеристика эмбриона	Дата получения эмбриона	Кличка и номер донора	Кличка и номер быка

Информация о животных

Порода	Бык				Донор эмбрионов (корова/телка)				Дата извлечения эмбрионов
	Кличка	Регистрационный номер	дата рождения	продуктивные качества	кличка	регистрационный номер	дата рождения	продуктивность	

Должностное лицо органа
исполнительной власти,
уполномоченное выдавать
ветеринарный сертификат _____/_____
«____»_____20___г.

М.П.

Библиография

[1] Единые ветеринарные (ветеринарно-санитарные) требования, предъявляемые к товарам, подлежащим ветеринарному контролю (надзору), утвержденные Решением Комиссии Таможенного союза от 18 июня 2010 г. № 317*

[2] Инструкция по трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота. Утверждена Госагропромом СССР 05.06.87

[3] Stringfellow D.A, Seidel S.M: Manual of the International Embryo Transfer Society: A procedural guide and general information for the use of embryo transfer technology emphasizing sanitary procedures. 3rd edition. Savoy, IL: International Embryo Transfer Society; 1998, 172 p.

[4] Кодекс здоровья наземных животных МЭБ, 2012 г., том 1

* Действуют на территории Таможенного союза.

УДК 636.082.4:006.354 МКС 11.220

Ключевые слова: средства воспроизводства, эмбрионы, крупный рогатый скот, животные-реципиенты, доноры яйцеклеток, доноры эмбрионов

Подписано в печать 02.02.2015. Формат 60x84 1/8.
Усл. печ. л. 2,79. Тираж 36 экз. Зак. 437.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»

123995 Москва, Гранатный пер., 4.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru