ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ
СОЮЗА ССР

СПЕРМА БЫКОВ ЗАМОРОЖЕННАЯ

МЕТОДЫ БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

ГОСТ 27777—88
(СТ СЭВ 5961—87)

Издание официальное

БЗ 7—88/509

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР ПО СТАНДАРТАМ
Москва

gost.e-ecolog.ru

УДК 619:611—013.11.001.4:006.354 Группа Р39

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ СОЮЗА ССР

СПЕРМА БЫКОВ ЗАМОРОЖЕННАЯ

Методы биологических исследований

Frozen sperm of bulls.
Methods of biological tests

ГОСТ 27777—88
(СТ СЭВ 5961—87)

ОКСТУ 9809

Срок действия с 01.07.89
до 01.07.94

Несоблюдение стандарта преследуется по закону

Настоящий стандарт распространяется на замороженную сперму быков и устанавливает методы определения подвижности спермиев, количество спермиев с прямолинейным поступательным движением и выживаемость спермиев в замороженной сперме быков после ее оттаивания.

1. МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОДВИЖНОСТИ СПЕРМИЕВ

1.1. Сущность метода заключается в визуальном определении с помощью микроскопа в раздавленной капле спермы количественного отношения спермиев с прямолинейным поступательным движением к их общему числу

1.2. Аппаратура, материалы и реактивы

Микроскоп биологический.

Термостат с водяной рубашкой, обеспечивающий поддержание температуры спермиев (39±1)°С.

Баня водяная, обеспечивающая температуру (39±1)°С.

Столик электрообогревательный к микроскопу с постоянной температурой (39±1)°С.

Корнцанг.

Пинцет анатомический по ГОСТ 21241—77.

Ножницы по ГОСТ 21239—77.

Стекла предметные по ГОСТ 9284—75.

Стекла покровные по ГОСТ 6672—75.

Пипетки пастеровские.

Издание официальное Перепечатка воспрещена

© Издательство стандартов, 1988

Пипетки мерные вместимостью 5 см³ 2-го класса точности по ГОСТ 20292—74.

Пробирки вместимостью 2 см³ по ГОСТ 25336—82.

Пробки резиновые для пробирок.

Салфетки марлевые стерильные.

Натрий лимоннокислый раствор с массовой долей 2,9%.

Натрий хлористый раствор с массовой долей 3%.

Примечание. Допускается использовать аппаратуру, мерную посуду или другие мерные средства измерения, имеющие такие же или лучшие метрологические характеристики.

1.3. Подготовка к исследованию

1.3.1. От каждой серии замороженной спермы, расфасованной в соломинки, облицованные или необлицованные гранулы, отбирают из жидкого азота по две дозы и помещают в отдельный сосуд Дьюара.

1.3.2. В чистую стерильную пробирку мерной пипеткой вносят 0,5 см³ раствора хлористого натрия с массовой долей 3% (пробирка № 1, а в другую пробирку — 0,5 см³ раствора лимоннокислого натрия с массовой долей 2,9% (пробирка № 2). Затем пробирки закрывают резиновыми пробками и ставят в термостат при температуре (39±1)°С.

1.3.3. Соломинки или облицованные гранулы со спермой с помощью охлажденного корнцанга, а необлицованные гранулы с помощью охлажденного анатомического пинцета вынимают из сосуда Дьюара. Соломинки или облицованные гранулы погружают в водяную баню при температуре воды (39±1)°С на 10 с, а затем вынимают, протирают насухо стерильной салфеткой. Ножницами отрезают оба конца двух соломинок или один конец от каждой из двух облицованных гранул.

Одну дозу спермы из соломинки, облицованной гранулы или необлицованной гранулы помещают в пробирку № 1, вторую дозу — в пробирку № 2.

1.3.4. Объем содержимого пробирок № 1 и 2 доводят до 1 см³ соответственно раствором хлористого натрия с массовой долей 3% и раствором лимоннокислого натрия с массовой долей 2,9%, а затем пробирки закрывают резиновыми пробками и перемешивают. Пробирку № 2 помещают в термостат при температуре (39±1)°С.

1.4. Проведение исследования

1.4.1. На электрообогревательный столик микроскопа помещают предметное стекло и после его нагрева до (39±1)°С стерильной пастеровской пипеткой из пробирки № 2 наносят небольшую каплю оттаянной спермы и покрывают стеклами. Устанавливают увеличение, дающее возможность добиться четкого изображения, и, просматривая весь препарат, выбирают участок с небольшим движением спермиев. Определяют визуально в трех полях зрения

соотношение спермиев с прямолинейным поступательным движением (ППД) к общему количеству спермиев, включая и неподвижных спермиев, а также спермиев, имеющих манежное и колебательное движение.

1.5. Обработка результатов

Результаты исследований оценивают в процентах или баллах (1 балл соответствует 10% спермиев с прямолинейным поступательным движением).

2. МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОЛИЧЕСТВА СПЕРМИЕВ С ПРЯМОЛИНЕЙНЫМ ПОСТУПАТЕЛЬНЫМ ДВИЖЕНИЕМ

2.1. Сущность метода

Метод заключается в определении общего количества спермиев в дозе с учетом их подвижности.

2.2. Аппаратура, материалы и реактивы

Для проведения исследования применяют аппаратуру, материалы и реактивы, указанные в п. 1.2, а также:

счетную камеру клеток крови глубиной 0,1 мм и 1/250 мм^3;

покровные стекла к счетной камере клеток крови.

2.3. Подготовка к исследованию

Подготовка к исследованию — по п. 1.3 со следующими дополнениями.

2.3.1. Подготовленную сперму в пробирке № 1 тщательно перемешивают, мерной пипеткой отбирают 0,1 см^3 и переносят в отдельную градуированную пробирку. Объем содержимого пробирки доводят до 2 см^3 раствором хлористого натрия с массовой долей 3%.

2.3.2. Счетную камеру клеток крови предварительно моют и насухо вытирают марлевой салфеткой, покрывают покровным стеклом и притирают его до появления радужных колец.

2.4. Проведение исследования

2.4.1. Содержимое градуированной пробирки, подготовленное по п. 2.3.1, тщательно перемешивают и вносят пастеровской пипеткой каплю под покровное стекло счетной камеры.

2.4.2. Счетную камеру помещают на предметный столик под объектив так, чтобы в поле зрения помещался один большой квадрат сетки при увеличении 200×. Спермии подсчитывают в 5 больших квадратах (80 малых) по диагонали сетки. Считают головки спермиев внутри больших квадратов, а также на левых и верхних линиях этих квадратов. Из каждого разбавления приготавливают два препарата и средний результат двух подсчетов является основой для вычисления концентрации спермиев в дозе. Количество спермиев в 1 дозе (K_c) равняется их числу, подсчитанному в 5 больших квадратах.

Определяют подвижность спермиев по разд. 1.

2.5. Обработка результатов

Количество спермиев с прямолинейным поступательным движением ($К_{ппд}$) в млн. шт. вычисляют по формуле

$$К_{ппд} = \frac{К_с \cdot ППД}{100},$$

где $К_с$ — концентрация спермиев в дозе, млн. шт.

ППД — подвижность спермиев, %.

3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЫЖИВАЕМОСТИ СПЕРМИЕВ ПРИ 38°С ПОСЛЕ ЕЕ ОТТАИВАНИЯ

3.1. Сущность метода

Метод заключается в определении количества спермиев, сохранивших прямолинейное поступательное движение после оттаивания и 5 ч хранения спермы в термостате при температуре 38°С.

3.2. Аппаратура, материалы и реактивы

Аппаратура, материалы и реактивы — по пп. 1.2 и 2.2.

3.3. Подготовка к исследованию

3.3.1. Оттаянную сперму в пробирке № 2 инкубируют в термостате с водяной рубашкой при температуре 38°С.

3.4. Проведение исследования

3.4.1. После 1, 2, 5 ч инкубации спермы в термостате определяют подвижность спермиев по разд. 1.

3.4.2. Количество спермиев с прямолинейным поступательным движением определяют по разд. 2.

3.5. Обработка результатов

Спермии имеют выживаемость не менее 5 ч, если при исследовании спермы после 5 ч инкубации ее в термостате при температуре 38°С в ней обнаруживают не менее 5% (0,5 балла) спермиев с прямолинейным поступательным движением.

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

1. **РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН** Госагропромом СССР

ИСПОЛНИТЕЛИ:

В. Т. Горин, Н. П. Юценко, Л. А. Зиневич

2. **УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ** Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 08.07.88 № 2642

3. Срок первой проверки — 1992 г.

4. Стандарт полностью соответствует СТ СЭВ 5961—87.

5. **ВЗАМЕН** ГОСТ 20909.4—75 в части разд. 2 и ГОСТ 26030—83 в части п. 3.2.3.

6. **ССЫЛОЧНЫЕ НОРМАТИВНО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ДОКУМЕНТЫ**

Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер пункта
ГОСТ 6672—75	1.2
ГОСТ 9284—75	1.2
ГОСТ 20292—74	1.2
ГОСТ 21239—77	1.2
ГОСТ 21241—77	1.2
ГОСТ 25336—82	1.2

Редактор *А. А. Зимовнова*
Технический редактор *Г. А. Теребинкина*
Корректор *М. С. Кабашова*

Сдано в наб. 26.07.88. Подп. в печ. 07.09.88 0,5 усл. п. л. 0,5 усл. кр.-отт. 0,31 уч.-изд. л.
Тир. 4000 Цена 3 коп.

Ордена «Знак Почета» Издательство стандартов, 123840, Москва, ГСП, Новопресненский пер., 3
Тип. «Московский печатник». Москва, Лялин пер., 6. Зак. 2649

gost.e-ecolog.ru