



ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ  
СОЮЗА ССР

ЭМБРИОНЫ КРУПНОГО РОГАТОГО  
СКОТА

ТЕХНИЧЕСКИЕ УСЛОВИЯ

ГОСТ 28424—90

Издание официальное



ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР ПО УПРАВЛЕНИЮ  
КАЧЕСТВОМ ПРОДУКЦИИ И СТАНДАРТАМ  
Москва

## 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

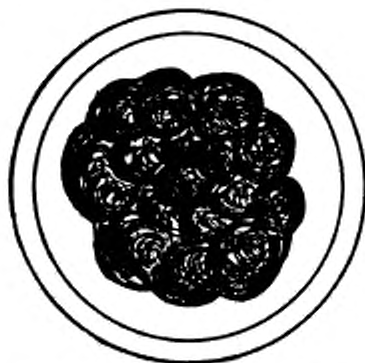
1.1. Эмбрионы крупного рогатого скота должны соответствовать требованиям настоящего стандарта и быть получены в соответствии с правилами по трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота и ветеринарно-санитарными требованиями к центрам и пунктам по трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота,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

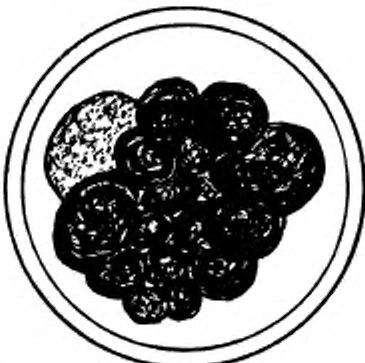
## 1.3. Характеристики

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.



Черт. 1 — Морула ранняя, отличная



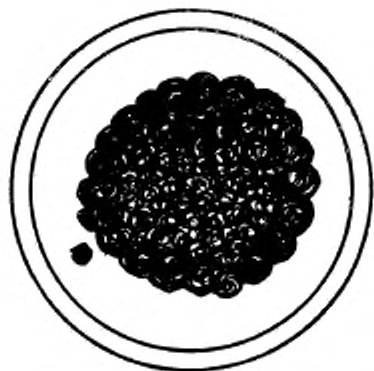
Черт. 2 — Морула ранняя, хорошая



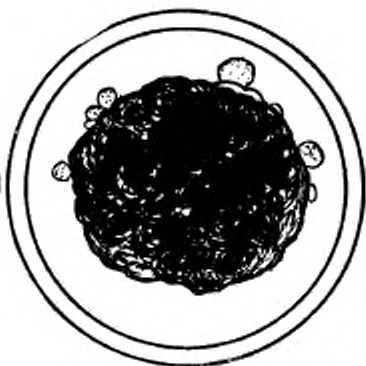
Черт. 3 — Морула ранняя, удовлетворительная. Неравномерные шары дробления. Грануляция в blastomeres



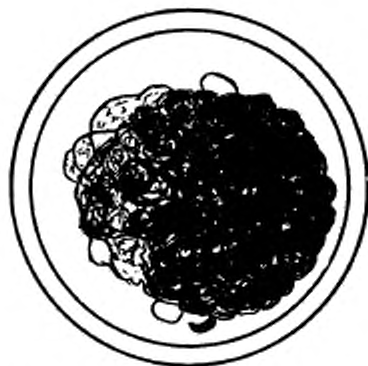
Черт. 4 — Морула ранняя, условно пригодная. Рыхлые blastomeres



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



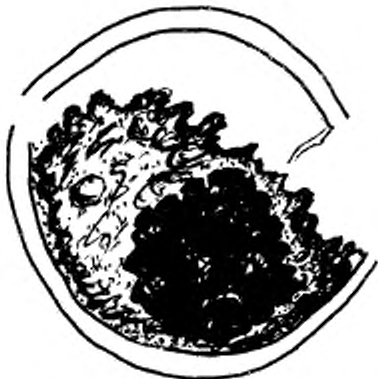
Черт. 9 — Блaстoциcтa рaнняя, отличная



Черт. 10 — Блaстoциcтa рaнняя, хорошая



Черт. 11 — Блaстoциcтa рaнняя, удовлетворительная. Сжатие комплекса, трещина зоны пеллюцида



Черт. 12 — Блaстoциcтa рaнняя, условно пригодная, деформация, сжатие клеток



Черт. 13 — Блaстоциста поздняя,  
отличная



Черт. 14 — Блaстоциста поздняя,  
хорошая



Черт. 15 — Блaстоциста поздняя,  
удовлетворительная. Сжатие клеточ-  
ного комплекса, незначительный скол  
зоны



Черт. 16 — Блaстоциста поздняя, ус-  
ловно пригодная. Сжатие клеточного  
комплекса. Скол зоны веллyцида

## Морфологические показатели качества эмбрионов с оценкой

Стадия развития эмбриона	отличия	хорошие	удовлетворительные	условно пригодные	плохие
Морула ранняя (Мо1), Морула поздняя (Мо2)	Зона pellucida округлой формы, без трещин и сколов, соединена с цитоплазмой перивителлинового пространства; перивителлиновое пространство без цитоплазматических гранул и включений; blastomeres четкие, прозрачные, одинаковой формы и размера, расположены симметрично	Зона pellucida округлой формы, без трещин и сколов, соединена с цитоплазмой перивителлинового пространства; в перивителлиновом пространстве наличие гранул и включений; blastomeres расположены ассиметрично, незначительно, по размеру, немногочисленны	Зона pellucida округлой формы или с небольшой деформацией; допускается небольшая трещина или скол; в перивителлиновом пространстве гра-	Зона pellucida округлой формы или деформированная, имеет значительную трещину или скол, частично нарушена связь с цитоплазмой перивителлинового пространства; в перивителлиновом пространстве значительное количество blastomeres; blastomeres смещены относительно центра, связь между отдельными blastomeres	Зона pellucida округлой формы или деформированная, имеет значительную трещину или скол, частично нарушена связь с цитоплазмой перивителлинового пространства; в перивителлиновом пространстве значительное количество blastomeres; blastomeres смещены относительно центра, связь между отдельными blastomeres
Blastocysta ранняя (Бэл)	В стадии раннего blastocysta (Бэл 1) наблюдается начало образования трофобласта и эмбриобласта, видна небольшая blastopole. Трофобласт на фоне клеточного комплекса выявляется в виде более яркого просветления	Трофобласт является в виде яркого просветления, смещен относительно центра	Трофобласт трудно различим на фоне клеточного комплекса	Трофобласт трудно различим на фоне клеточного комплекса	Трофобласт трудно различим на фоне клеточного комплекса

## Продолжение

Стадия развития эмбриона	Морфологические показатели качества зреловых с оценкой			
	отличные	хорошие	удовлетворительные	условно пригодные
Бластоциста поздняя (Бл. 2)	<p>Зона пеллюцида округлой формы, прозрачная без трещин и сколов; прозрачная; первичные и вторичные пояса отсутствуют, blastostolost' большая, расширяющаяся, прозрачная; клетки трофобласта четко выражены; эмбриобласт расположен в виде полушария; своей цитоплазматической ценой по внутренней поверхности зоны пеллюцида; эмбриобласт округлой формы в виде компактного скопления клеток</p>	<p>Зона пеллюцида округлой формы, прозрачная, допускается незначительная трещина или скол; первичное blastostolost' большое, расширяющаяся, прозрачная; клетки трофобласта четко выражены; эмбриобласт округлой формы, компактная с выделенными клетками от клеточного комплекса</p>	<p>Зона пеллюцида округлой формы или деформированная, имеется значительная трещина или скол; первичное blastostolost' большое, присутствует, blastostolost' большая, расширяющаяся; различительными цитоплазматическими включениями; клетки трофобласта могут быть деформированы, связь между отдельными клетками эмбриобласта четко выражена, нарушена связь между отдельными клетками; эмбриобласт деформирован, разрушен, часть клеток отсутствует, связь у большинства клеток</p>	<p>Зона пеллюцида деформирована, имеется значительная трещина или скол; первичное blastostolost' большое, присутствует, blastostolost' большая, расширяющаяся; различительными цитоплазматическими включениями; клетки трофобласта могут быть деформированы, связь между отдельными клетками эмбриобласта четко выражена, нарушена связь между отдельными клетками; эмбриобласт деформирован, разрушен, часть клеток отсутствует, связь у большинства клеток</p>



1.3.3. Свежеполученные и подлежащие замораживанию эмбрионы не должны быть загрязнены 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 санитрующего препарата ГАМП в дозе 100 мкг/см<sup>3</sup>, или спермозан-ППК в дозе 200 ЕД/см<sup>3</sup> 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 санитрующий 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 несмываемой 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 ИСПЫТАНИЯ

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 см<sup>3</sup> по ГОСТ 1770 или флаконы вместимостью 450—500 см<sup>3</sup>.

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 см<sup>3</sup> (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 см<sup>3</sup> 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 см<sup>3</sup> 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 см<sup>3</sup> соответствующей среды. 1 см<sup>3</sup> среды используют для микробиологических исследований, а 1 см<sup>3</sup> 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 см<sup>3</sup> по ГОСТ 20292.

Пробирки стеклянные вместимостью 20 см<sup>3</sup> 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 см<sup>3</sup> 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 см<sup>3</sup> 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 эмбриомобильях 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 saniрующий 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 saniрующий 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 saniрующий 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, дезинфицирующие 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 состоянии 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 (brucellosis), лейкоза (leucosis), инфекционного ринотрахеита (infectious bovin rhinotracheitis), вирусной диареи (virus diarrhea bovina), трихомоноза (trichomonosis), кампилобактериоза (campylobacteriosis), вибриоза (vibriosis), блутанга (bluetongue), эпизоотического аборта (epizootical abortus),



## 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. и печ. 13.04.90 1,25 усл. в. л. 1,25 усл. кр.-отт. 0,97 уч.-изд. л.  
Тираж 3000 Цена 10 к.

---

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