

ГОСТ 28424-2014

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

Средства воспроизводства ЭМБРИОНЫ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА Технические условия Product for reproduction. Bovine embryos. Specifications

МКС 11.220

Дата введения 2015-07-01

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. N 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. N 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

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

Примечание - 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*

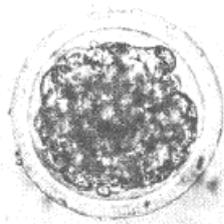
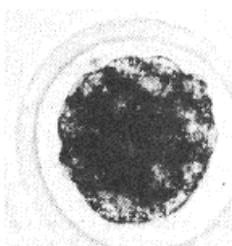
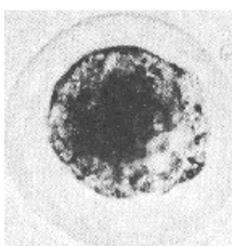
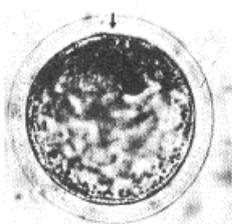
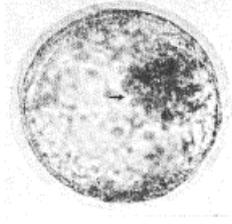
4.3.1 По отношению к болезням, не входящим в категорию 1 (см. приложение А), учитывают ветеринарно-санитарное положение страны или зоны, экспортирующей эмбрионы, ветеринарно-санитарное состояние поголовья и доноров эмбрионов, а также патогенность возбудителей, от которых стремится защититься страна,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

Внимание! О порядке применения документа см. ярлык "Примечания"

<p>Морула ранняя (Мо I), код стадии развития: 3;</p> <p>Морула поздняя (Мо II), код стадии развития: 4</p>	<p>Эмбрион сферической формы, симметричный. Бластомеры четкие, одинаковы по размеру и плотности, окраске. Зона пеллюцида округлая без трещин и сколов; перивителлиновое пространство без посторонних включений</p>	<p>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</p>	<p>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</p> <p>Умеренные нарушения общей формы клеточной массы или размера, цвета, плотности отдельных клеток.</p> <p>Не менее 50% интактных и жизнеспособных клеток</p>	<p>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</p> <p>Значительные нарушения формы клеточной массы, цвета и плотности отдельных бластомеров.</p> <p>Не менее 25% интактных и жизнеспособных клеток</p>	<p>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</p>
<p>Бластоциста ранняя (Бл I), код стадии развития: 5</p>	<p>Эмбрион сферической формы; видна небольшая полость; бластомеры равномерные; трофобласт более светлый, чем эмбриобласт. Не менее 85% интактных жизнеспособных клеток</p>	<p>Эмбрион сферической формы; видна небольшая полость; трофобласт смещен относительно центра.</p> <p>Не менее 50% интактных и жизнеспособных клеток</p>	<p>Эмбрион сферической формы; видна небольшая полость; клеточный комплекс деформирован; трофобласт трудно различим.</p> <p>Не менее 25% интактных и жизнеспособных клеток</p>	<p>Эмбрион сферической формы или деформирован; зона пеллюцида повреждена, большая часть бластомеров разрушена</p>	

<p>Бластоциста экспандирующая (Бл II), код стадии развития: 6</p>	<p>Эмбрион сферической формы; перивителлиновое пространство отсутствует; бластопольсть большая прозрачная; трофобласт и эмбриобласт четко выражены, эмбриобласт компактный; зона пеллюцида гладкая, прозрачная, без повреждений</p>	<p>Эмбрион сферической формы; перивителлиновое пространство отсутствует; бластопольсть большая прозрачная; трофобласт и эмбриобласт четко выражены, эмбриобласт имеет один-два выделенных бластомера; зона пеллюцида гладкая, прозрачная, без повреждений</p>	<p>Эмбрион сферической формы; перивителлиновое пространство отсутствует; бластопольсть большая, прозрачная; трофобласт и эмбриобласт четко выражены, эмбриобласт деформирован, имеет несколько выделенных бластомеров; зона пеллюцида прозрачная с незначительным сколом или трещиной</p>	<p>Эмбрион сферической формы; перивителлиновое пространство отсутствует; бластопольсть 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</p>	<p>Эмбрион сферической формы или деформирован; перивителлиновое пространство отсутствует; бластопольсть 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</p>
<p>Бластоциста полностью экспандирующая (Бл III), код стадии развития: 7</p>	<p>Эмбрион сферической формы; перивителлиновое пространство отсутствует; эмбриобласт отчетливо ограничен; трофобласт правильной формы, упорядочен; полость большая прозрачная; зона пеллюцида несколько растянута, гладкая</p>	<p>Эмбрион сферической формы; перивителлиновое пространство отсутствует; эмбриобласт отчетливо ограничен; трофобласт правильной формы, упорядочен; полость сжата; зона пеллюцида гладкая</p>	<p>Эмбрион сферической формы; перивителлиновое пространство отсутствует; эмбриобласт и трофобласт нечетко выражены; полость сжата; зона пеллюцида незначительно повреждена</p>	<p>Эмбрион деформирован; эмбриобласт и трофобласт нечетко выражены, сжаты или рыхлые; связь между клетками отсутствует; полость сжата; зона пеллюцида значительно повреждена</p>	

* 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/дм³ или фетальную сыворотку крови крупного рогатого скота (*FCS*) концентрацией 20 см³/дм³ и антимикробный препарат (гентамицин концентрацией 0,05 г/дм³ или полиген концентрацией 0,3 г/дм³).

4.5.2 Эмбрионы, предназначенные для замораживания, после промывки и экспозиции в криопротекторе (глицерин концентрацией 1,0 моль/дм³ или 1,4 моль/дм³ по ГОСТ 6259 или этиленгликоль концентрацией 1,5 моль/дм³ 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 см³.

7.1.1.8 Пипетки для отлова эмбрионов.

7.1.1.9 Среда фосфатно-буферная, содержащая альбумин сыворотки крови крупного рогатого скота (*BSSA*) концентрацией 4 г/дм³ или фетальную сыворотку крови крупного рогатого скота (*FCS*) концентрацией 20 см³/дм³ и антимикробный препарат (гентамицин концентрацией 0,05 г/дм³ или полиген концентрацией 0,3 г/дм³).

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 см³ 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 × - 100× 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 см³ соответствующей среды - 1 см³ среды используют для микробиологических исследований, 1 см³ 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.

* Нумерация соответствует оригиналу. - Примечание изготовителя базы данных.

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**

* Слово "in vivo" в наименовании приложения А в бумажном оригинале выделено курсивом. - Примечание

изготовителя базы данных.

A.1 В соответствии с [4] следующие болезни и возбудители болезней классифицированы в четыре категории. Данная классификация относится исключительно к эмбрионам, отобраным *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:

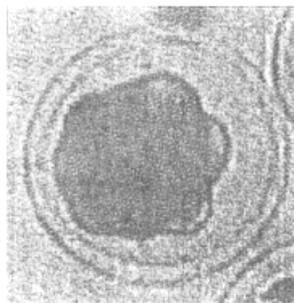
- что пока никаких заключений о риске передачи сделать нельзя или
- что риск передачи путем пересадки эмбрионов не может быть незначительным, даже если обращение с эмбрионами проводилось надлежащим образом.

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 аборт, рождение уродливого потомства)];
- гепересвирус-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

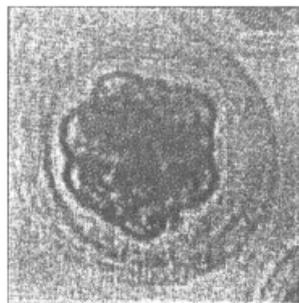


День цикла: 6

Код стадии развития: 3

Код качества: 1

Комментарии: *a*

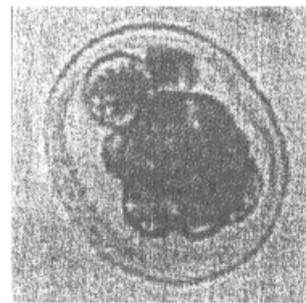


День цикла: 6,5

Код стадии развития: 3

Код качества: 1

Комментарии: *a*

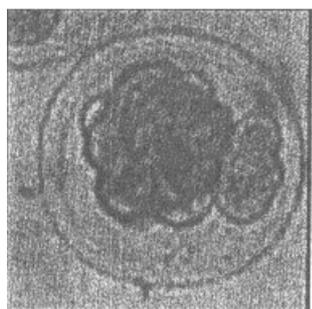


День цикла: 6,5

Код стадии развития: 3

Код качества: 2

Комментарии: *a, b*

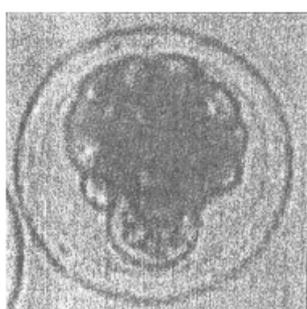


День цикла: 6,5

Код стадии развития: 3

Код качества: 2

Комментарии: *a, b*

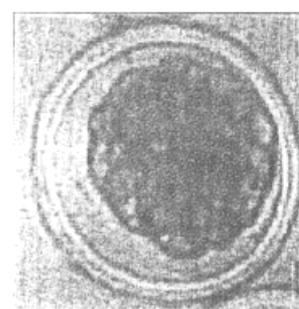


День цикла: 6,5

Код стадии развития: 4

Код качества: 1

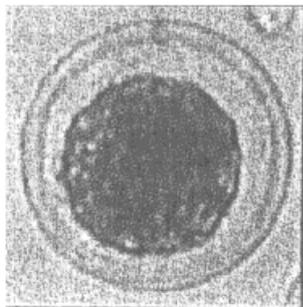
Комментарии: *b, c, d*



День цикла: 7

Код стадии развития: 4

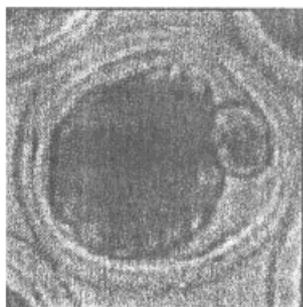
Код качества: 1



День цикла: 7

Код стадии развития: 4

Код качества: 1

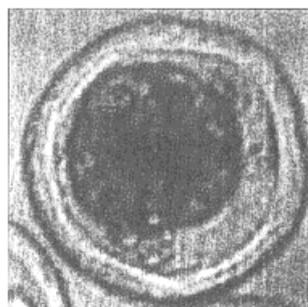


День цикла: 7

Код стадии развития: 4

Код качества: 1

Комментарии: *a*

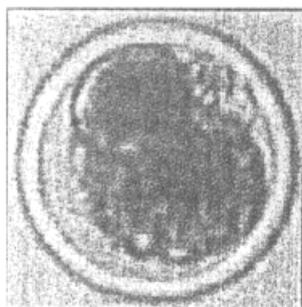


День цикла: 7

Код стадии развития: 4

Код качества: 1

Комментарии: *a*

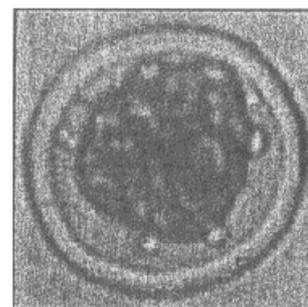


День цикла: 7

Код стадии развития: 4

Код качества: 2

Комментарии: *b*

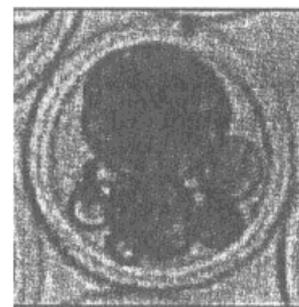


День цикла: 7

Код стадии развития: 4

Код качества: 1

Комментарии: *a*

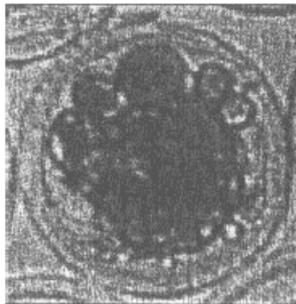


День цикла: 7

Код стадии развития: 4

Код качества: 2

Комментарии: *b*

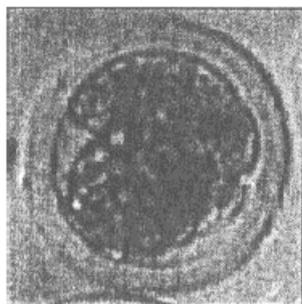


День цикла: 7

Код стадии развития: 4

Код качества: 2

Комментарии: *b*

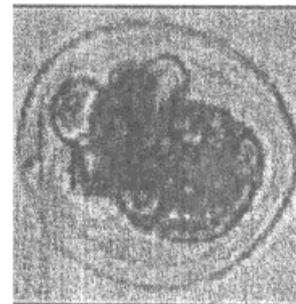


День цикла: 7

Код стадии развития: 4

Код качества: 2

Комментарии: *b, e*

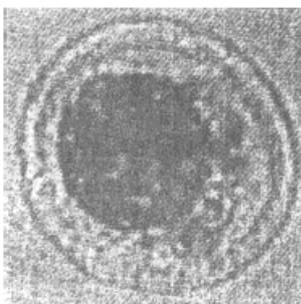


День цикла: 7

Код стадии развития: 4

Код качества: 2

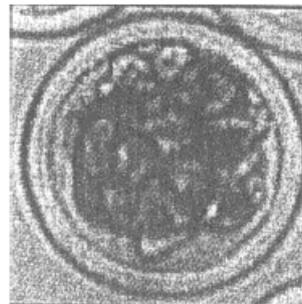
Комментарии: *b*



День цикла: 7

Код стадии развития: 4

Код качества: 2

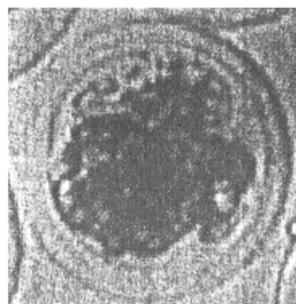


День цикла: 7

Код стадии развития: 4

Код качества: 3

Комментарии: *f, g*

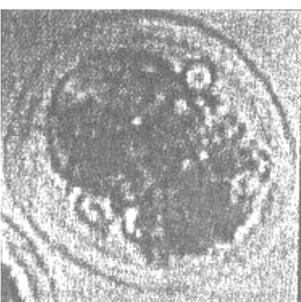


День цикла: 7

Код стадии развития: 4

Код качества: 3

Комментарии: *f, g*

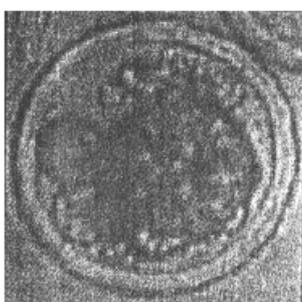


День цикла: 7

Код стадии развития: 4

Код качества: 3

Комментарии: *f, g*

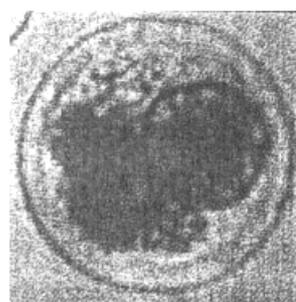


День цикла: 7

Код стадии развития: 4

Код качества: 3

Комментарии: *f, g*

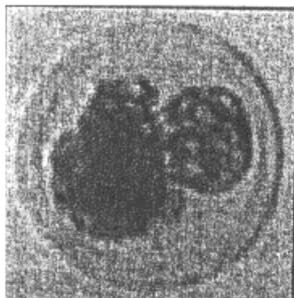


День цикла: 7

Код стадии развития: 4

Код качества: 3

Комментарии: *f, g*

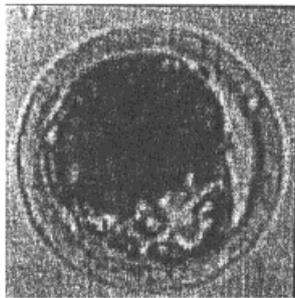


День цикла: 7

Код стадии развития: 4

Код качества: 3

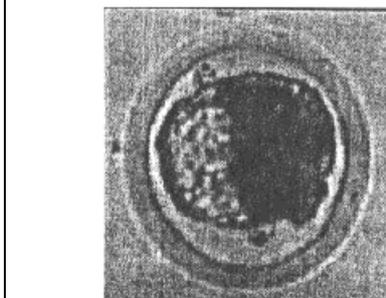
Комментарии: *f, g, h*



День цикла: 7

Код стадии развития: 5

Код качества: 1

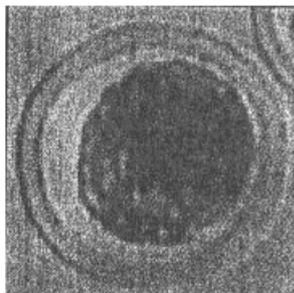


День цикла: 7

Код стадии развития: 5

Код качества: 3

Комментарии: *d*



День цикла: 7

Код стадии развития: 5

Код качества: 1

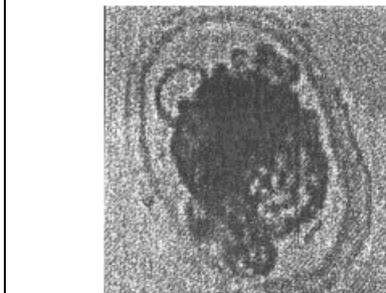


День цикла: 7

Код стадии развития: 5

Код качества: 1

Комментарии: *d, h*

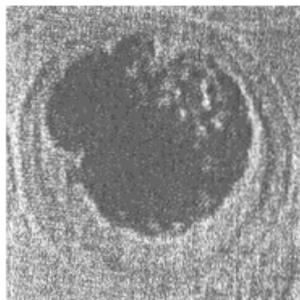


День цикла: 7

Код стадии развития: 5

Код качества: 2

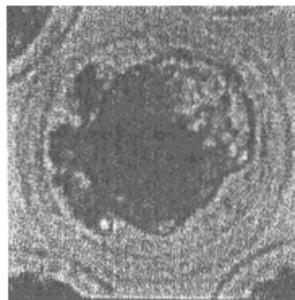
Комментарии: *e*



День цикла: 7

Код стадии развития: 5

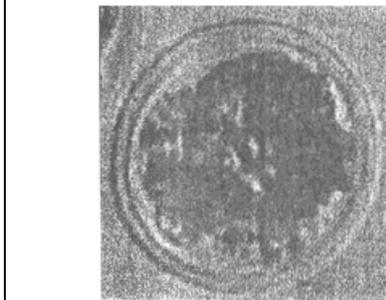
Код качества: 2



День цикла: 7

Код стадии развития: 5

Код качества: 2



День цикла: 7

Код стадии развития: 5

Код качества: 3

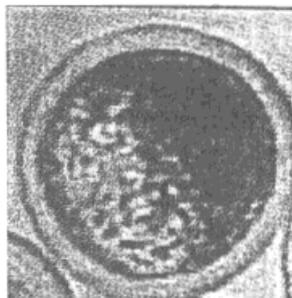
Комментарии: *g*



День цикла: 7

Код стадии развития: 5

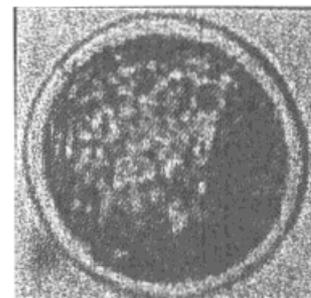
Код качества: 3



День цикла: 7

Код стадии развития: 6

Код качества: 1

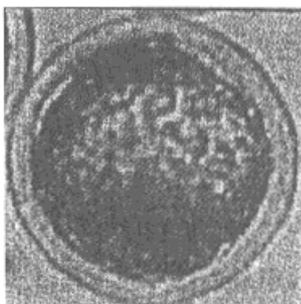


День цикла: 7,5

Код стадии развития: 6

Код качества: 1

Комментарии: *k*

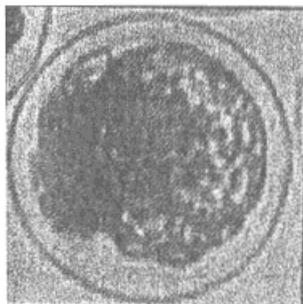


День цикла: 7,5

Код стадии развития: 6

Код качества: 1

Комментарии: *d*, *k*



День цикла: 7,5

Код стадии развития: 6

Код качества: 2

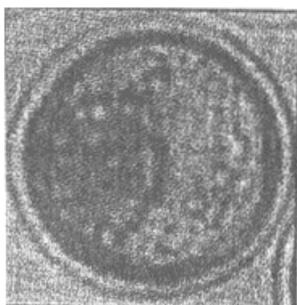
Комментарии: *k*



День цикла: 7,5

Код стадии развития: 7

Код качества: 1



День цикла: 7,5

Код стадии развития: 7

Код качества: 1

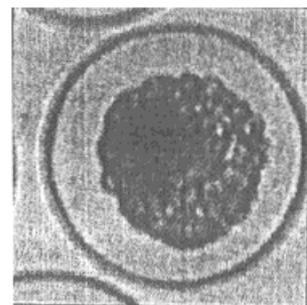


День цикла: 7,5

Код стадии развития: 7

Код качества: 1

Комментарии: *j*



День цикла: 7,5

Код стадии развития: 7

Код качества: 1

Комментарии: *j*

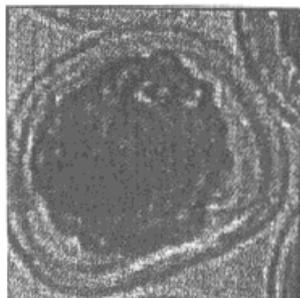


День цикла: 7,5

Код стадии развития: 7

Код качества: 2

Комментарии: *j, k*

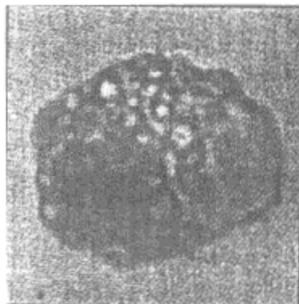


День цикла: 7

Код стадии развития: 4

Код качества: 2

Комментарии: *l*

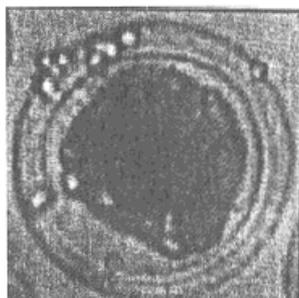


День цикла: 8

Код стадии развития: 8

Код качества: 1

Комментарии: *j*

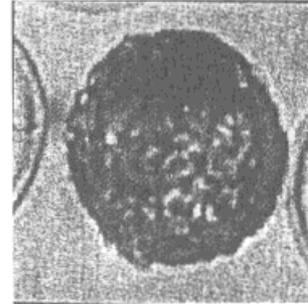


День цикла: 7

Код стадии развития: 4

Код качества: 1

Комментарии: *m*

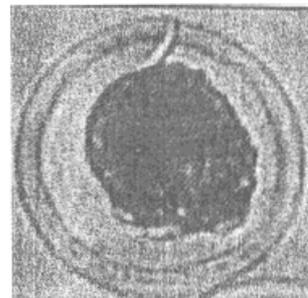


День цикла: 8

Код стадии развития: 8

Код качества: 1

Комментарии: *j*



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 bovim*), вирусной диареи (*diarrhea viralis bovim*), трихомоноза (*trichomoniasis*), кампилобактериоза (*campylobacteriosis*), сибирской язвы (*anthrax*), блутанга (*bluetongue*), эпизоотического аборта (*epizootical abortus*), лептоспироза (*leptospirosis*), хламидиоза (*chlamydiosis*), микоплазмоза (*mycoplasmosis*), чумы (*pestis bovim*), инфекционной плеввропневмонии крупного рогатого скота (*pleuropneumonis infectiosa bovim*), ящура (*aphthae 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 центра (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: _____

Описание 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. N 317*

* Действуют на территории Таможенного союза.

[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

УДК 636.082.4:006.354

МКС 11.220

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

Электронный текст документа
подготовлен ЗАО "Кодекс" и сверен по:
официальное издание
М.: Стандартинформ, 2015