

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ СССР**

**УПРАВЛЕНИЕ ПО ВНЕДРЕНИЮ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ  
СРЕДСТВ И МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ**

**ВСЕСОЮЗНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
И ИСПЫТАТЕЛЬНЫЙ ИНСТИТУТ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ**

**СБОРНИК  
РУКОВОДЯЩИХ МЕТОДИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ  
ПО ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКИМ  
ИССЛЕДОВАНИЯМ  
ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ И ИЗДЕЛИЙ  
НА ИХ ОСНОВЕ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ**

Москва 1987

## **5. МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ВЫТЯЖЕК ИЗ МАТЕРИАЛОВ И ИЗДЕЛИЙ НА ПОЛОВОХ КЛЕТКАХ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

### **5.1. ПРИНЦИП МЕТОДИКИ**

Визуально под микроскопом наблюдают двигательную активность сперматозоидов быка, подвергавшихся воздействию водных экстрактов из полимерных материалов до полного прекращения прямолинейно-поступательного движения.

### **5.2. ТЕСТ-ОБЪЕКТ**

В качестве биологического тест-объекта экспресс-метода используется замороженная в парах жидкого азота гранулированная сперма быка. Сперму замораживают в виде гранул весом 0,1—0,2 г. При низкотемпературной консервации обменные процессы в сперме полностью приостанавливаются. Замороженную сперму можно получать на станциях искусственного осеменения или в Республиканском банке семени Госагропрома СССР.

### **5.3. ЭТАПЫ ВЫПОЛНЕНИЯ**

#### **5.3.1. Приготовление опытной и контрольной проб.**

Для определения степени токсичности вытяжке необходимо сравнивать с контрольным раствором. Контрольной пробой служит глюкозо-цитратная среда (состав среды: глюкоза — 4 г, цитрат натрия — 0,58 г, вода дистиллированная до 100 мл). Опытным образцом является водный экстракт из полимерного материала или изделия, приготовленное в соответствии с научно-методическими документами для данного вида изделий. ИЗОТОНИЮ достигают путем добавления сухих реактивов глюкозы (4 г) и цитрата натрия (0,58 г) на 100 мл вытяжки.

#### **5.3.2. Приготовление пробы спермы.**

Перед оттаиванием замороженной спермы отмеривают пипеткой в пробирку 0,5 мл контрольной пробы. Четыре пробирки с глюкозо-цитратной средой ставят в водяную баню при температуре +40° С. Охлажденным до температуры жидкого азота длинным анатомическим пинцетом извлекают из сосуда Дьюара гранулу спермы и быстро опускают в нагретый раствор. В одной пробирке оттаивают только одну гранулу спермы. Сразу

после оттаивания содержимое пробирок сливают в одну колбочку и тщательно перемешивают (маточный раствор).

#### 5.3.3. Ход определения.

Из маточного раствора оттаянной разбавленной спермы добавляют 0,3 мл суспензии сперматозоидов в 1 мл опытного образца. Аналогично поступают и с контрольной пробой. Конечная концентрация сперматозоидов в образцах 6—7 млн/мл. Все пробирки с опытными и контрольными растворами должны быть помещены в водяную баню при температуре +40° С в течение всего эксперимента.

#### 5.3.4. Оценка результатов.

Главным критерием оценки функционального состояния сперматозоидов принимается длительность их движения. Оценка подвижности производится микроскопированием капли спермы из опытных и контрольных проб каждые 10—15 минут. Предметный столик микроскопа должен быть постоянно нагрет до температуры +40° С. Время подвижности сперматозоидов определяется как среднее между двумя последними измерениями, из которых первое определение регистрирует наличие хотя бы одной-двух поступательно-подвижных клеток, а второе — полное прекращение поступательного движения.

Степень токсичности испытуемого раствора определяется отношением величин времени подвижности сперматозоидов в опыте и контроле.

$$T = \frac{\text{опыт}}{\text{контр.}} \cdot 100,$$

где T — степень токсичности;  
опыт — время подвижности сперматозоидов в испытуемом растворе;  
контр.— время подвижности сперматозоидов в контрольном растворе.

Результаты опытов обрабатываются статистическим методом парных сравнений по Стьюденту.