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

gost.e-ecolog.ru

5. МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ВЫТЯЖЕК ИЗ МАТЕРИАЛОВ И ИЗДЕЛИЙ НА ПОЛОВЫХ 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 вытяжку 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 изделие, 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.

gost.e-ecolog.ru