



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **80922** (13) **U**
(51) МПК (2013.01)
G01N 33/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2013 00621	(72) Винахідник(и): Лобченко Світлана Федорівна (UA), Лобченко Віктор Олексійович (UA), Коваленко Віктор Федорович (UA)
(22) Дата подання заявки: 18.01.2013	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.06.2013	(73) Власник(и): ІНСТИТУТ СВИНАРСТВА І АГРОПРОМИСЛОВОГО ВИРОБНИЦТВА НААН, вул. Шведська могила, 1, м. Полтава, 36013 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.06.2013, Бюл.№ 11	

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ ТОКСИЧНОСТІ ПРЕПАРАТІВ ЗА ВПЛИВОМ НА СПЕРМАТОЗОЇДИ КНУРА ПОЗА ОРГАНІЗМОМ

(57) Реферат:

Спосіб оцінки токсичності препаратів за впливом на живі організми (біотест) передбачає перебування тест-організмів у середовищі, що містить досліджуваний препарат у заданій концентрації та інкубують упродовж певного відрізка часу, та визначають смертність тест-об'єктів щодо контролю, причому як тест-організм використовуються свіжоодержані сперматозоїди кнура, що перебувають поза організмом за температури 38 °С.

UA 80922 U

Корисна модель належить до галузі сільського господарства, а саме до ветеринарної медицини, токсикології та репродуктивної біотехнології, й може бути застосована як біотест для оцінки токсичності лікарських препаратів чи інших речовин, які потребують комплексної токсикологічної оцінки, згідно з існуючими вимогами щодо застосування препаратів на практиці.

Відомий спосіб оцінки токсичності води на водоростях *Scenedesmus quadricauda* (Turp) Breb. (1). Цей спосіб полягає в тому, що про токсичність води роблять висновок за наслідками перебування у ній водоростей на основі оцінки їх стану.

Для аналогу характерне використання як біотесту рослинного організму, для якого характерне перебування в водному середовищі. Однак застосування такого тест-організму для оцінки препаратів, призначених зокрема для тваринних організмів не може бути прийнятним у повній мірі.

Іншим технічним рішенням є спосіб оцінки токсичності препаратів на основі біотесту з використанням інфузорій (2, 3). У середовище, що містить речовину, токсичність якої перевіряють, заселяють інфузорій та ведуть спостереження за їх виживанням. Порівнюючи одержані результати з контролем, роблять висновок відносно токсичності.

Таке технічне рішення передбачає використання найпростіших тваринних організмів, мешканців водного середовища. Однак таке тестування виявляється досить довготривалим, а фізіологічні особливості інфузорій суттєво відрізняються від тварин вищих таксономічних груп та не може бути вповні поширене на них.

Найбільш близьким технічним рішенням є біотест на прісноводних ракоподібних *Daphnia magna* (4, 5). Цей спосіб полягає у тому, що ракоподібних поміщають у середовище, де міститься речовина, токсичність якої досліджується в заданій концентрації, та інкубують упродовж певного відрізка часу. По закінченні інкубування визначають смертність тест-об'єктів щодо контролю, що слугує критерієм токсичності.

Недоліком найближчого аналога є те, що тест-об'єктом є тваринний організм, що належить до класу ракоподібних. Цей клас організмів має суттєві фізіологічні, біохімічні, цитологічні й інші особливості та відмінності в порівнянні зі ссавцями. Як наслідок, висновки щодо токсичності, зроблені на ракоподібних, не завжди можуть бути поширені на вищі таксономічні групи тварин, у тому числі людину. Крім цього температура, за якої проходить біотест на ракоподібних суттєво нижча за температуру у ссавців, що помітно впливає на швидкість перебігу хімічних (біохімічних) реакцій і, відповідно, давати результати оцінки токсичності, які можуть бути неадекватними стосовно ссавців. Цей аналог також має досить тривалий час перебігу тестування - 48 годин.

Задачею корисної моделі, що заявляється, є спосіб оцінки токсичності препаратів шляхом біологічного тесту, який полягає в перебуванні біотест-клітин в середовищі, що містить досліджуваний препарат на відновлюваних клітинах ссавців (сперматозоїдах), що продукуються самою твариною й проводяться в умовах поза організмом за температурних умов характерних для цього організму.

Задачу вирішують тим, що заявлений спосіб оцінки токсичності препаратів за впливом на сперматозоїдів кнурів поза організмом включає одержання та попередню підготовку зразка еякуляту, що передбачає відмивання від спермальної плазми та наступне формування визначеної концентрації сперматозоїдів, шляхом дозованого введення розріджувача. Препарат, токсичність якого тестується, попередньо розріджують у потрібній концентрації в спеціальному ізотонічному середовищі. Підготовлені контрольні та тестові зразки інкубують у термостаті за температури 38 °C. У подальшому проводять визначення відсотку активності сперміїв у зразках, що інкубуються, щогодинно, аж до того часу, коли його рівень суттєво знизиться (менше 5 % сперміїв із прямолінійно-поступальним рухом у досліджуваному чи контрольному зразку). За одержаними результатами вираховують показники виживання сперматозоїдів у контрольних та тестових зразках. За різницею показників виживання контрольних та тестових зразків роблять висновки щодо токсичності досліджуваних препаратів.

Технічним результатом запропонованого способу оцінки токсичності препаратів шляхом біологічного тесту є спеціальний спосіб оцінки їх токсичності, що пропонується вперше та дозволяє оцінювати токсичність препаратів на відновлюваних клітинах ссавців (сперматозоїдах), що продукуються твариною й проводяться в умовах поза організмом за температурних умов, характерних для цього організму.

Запропонований спосіб оцінки токсичності препаратів за впливом на сперматозоїди кнурів поза організмом застосовують так.

Зразок сперми для дослідження відбирають якнайшвидше від моменту взяття еякуляту. Пробу за потреби відмивають від спермальної плазми шляхом центрифугування та замінюють її на спеціальне ізотонічне середовище. Цей зразок використовуватимуть як контроль. Такий же

за об'ємом зразок, але підготовлений із застосуванням спеціального ізотонічного середовища, в яке попередньо було введено досліджуваний препарат у визначеній концентрації, використовують як дослідний. Визначають початковий ступінь рухливості сперматозоїдів. Підготовлені контрольні та тестові зразки інкубують у термостаті за температури 38 °С. У подальшому проводять визначення рівня рухливості сперматозоїдів у зразках, що інкубуються щогодинно, аж до того часу, коли його рівень суттєво знизиться (менше 5 % спермійів із прямолінійно-поступальним рухом у досліджуваному чи контрольному зразку). За одержаними результатами вираховують показники виживання сперматозоїдів у контрольних та тестових зразках. За різницю показників виживання контрольних та тестових зразків роблять висновки щодо токсичності досліджуваних препаратів.

Числове значення потенціалу рухової активності визначають як суму середніх погодинних значень рівня активності сперматозоїдів, яку обраховують як різницю між початковим та наступним за ним значенням, вираженим часткою від одиниці.

Отож, застосування запропонованого способу визначення потенціалу рухової активності сперматозоїдів зазначеним способом забезпечує можливість його використання для оцінки токсичності препаратів за впливом на сперматозоїди кнурів поза організмом.

Джерела інформації:

1. КНД 211.1.4.058-97. Методика визначення гострої токсичності води на водоростях *Scenedesmus quadricauda* (Turp) Breb.

2. Виногодов Д.О. Биотестирование на культурах инфузорий в диагностической профилактике пищевых отравлений животных (Обзор) // Ветеринарная патология, 2006. - № 1. - С. 90-96.

3. КНД 211.1.4.059-97. Методика визначення токсичності води на інфузоріях *Tetrahymena pyriformis* (Ehrenberg) Schewiakoff.

4. Ісаєнко В.М., Давидова К.О., Гетнарович О.А. Токсикологічна оцінка пестицидів за допомогою гідробіонтів. Вісник НАУ, 2005. - № 1. - С. 153-155.

5. КНД 211.1.4.054-97. Методика визначення гострої токсичності води на ракоподібних *Daphnia magna* Straus.

6. КНД 211.1.4.057-97. Методика визначення гострої летальної токсичності води на рибах *Pimephales reticulata* Peters.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб оцінки токсичності препаратів за впливом на живі організми (біотест), який передбачає перебування тест-організмів у середовищі, що містить досліджуваний препарат у заданій концентрації та інкубують упродовж певного відрізка часу та визначають смертність тест-об'єктів щодо контролю, який **відрізняється** тим, що як тест-організм використовуються свіжоодержані сперматозоїди кнурів, що перебувають поза організмом за температури 38 °С.