

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО
ОБРАЗОВАНИЯ
«РОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.И.ПИРОГОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России)

У Н И В Е Р С И Т Е Т С К А Я К О М И С С И Я
п о к о н т р о л ю з а с о д е р ж а н и е м и
и с п о л ь з о в а н и е м
л а б о р а т о р н ы х ж и в о т н ы х

**Руководство по работе с лабораторными
животными для сотрудников
ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздрава
России, занятых проведением доклинических
испытаний**

Москва 2015

Оглавление

	Введение	3
1	Боль и дистресс у лабораторных животных	4
2	Классификация манипуляций с животными (тип А, В, С, D)	6
3	Альтернативные методы (Принципы 3R)	9
4	Ограничение подвижности (фиксация)	12
5	Идентификация животных	13
6	Введение экспериментальных веществ	15
7	Опухоли (в том числе асциты)	21
8	Адьюванты	22
9	Радиоактивные вещества	23
10	Биологически опасные вещества	24
11	Отбор крови	24
12	Ограничение потребления корма и воды	26
13	Аналгезия/анестезия	26
14	Хирургические вмешательства	29
15	Получение и использование генетически модифицированных животных	36
16	Гуманное завершение эксперимента	37
17	Эвтаназия	38
18	Утилизация отходов (трупы животных, шприцы, иглы)	40
19	Список литературы	42

ВВЕДЕНИЕ

Данное руководство предназначено для сотрудников [Университета](#), осуществляющих работу с лабораторными животными. В настоящем руководстве приведены основные термины, предложен ряд альтернативных методик, позволяющих избежать использования животных в эксперименте или значительно сократить их количество. Кроме того, описаны признаки боли и дистресса; даны рекомендации по проведению хирургических операций, использованию адъювантов, способам забора крови и другим часто используемым манипуляциям; представлены критерии для гуманного завершения эксперимента. Материал, представленный в настоящем руководстве, изложен в соответствии с отечественными нормативами и современными международными биоэтическими стандартами по работе с лабораторными животными.

Авторы искренне надеются, что данное руководство поможет всем, кто работает с лабораторными животными спланировать оптимальный эксперимент, выбрать наименее травматичные для животных, но вместе с тем, эффективные манипуляции и квалифицированно выполнить их, тем самым достигнув цели эксперимента наиболее гуманным способом.

Авторы с пониманием и благодарностью примут все замечания и предложения по улучшению содержания Руководства, которые просят направлять по адресу: 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1, РНИМУ им. Н.И.Пирогова, Университетская комиссия по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных.

Красильщикова М.С., Семушина С.Г.

1. Боль и дистресс у лабораторных животных.

Боль – неприятное сенсорное и эмоциональное ощущение, связанное с реальным или потенциальным повреждением ткани.

Различают следующие виды боли:

- *Кратковременная боль*: боль, которая продолжается недолго, краткая, временная (секунды) и, как правило, низкой интенсивности.
- *Постпроцедурная/постоперативная боль*: боль длится дольше, чем кратковременная (часы, дни, иногда недели) и возникает после тканевого поражения вследствие хирургической операции или другой процедуры.
- *Продолжительная боль*: длится дни и недели, встречается при экспериментальном моделировании боли (механизмы боли в этом случае отличаются от механизмов постпроцедурной боли).
- *Хроническая боль*: боль, длящаяся долго (дни, недели, месяцы), характерна для дегенеративных заболеваний, без облегчения, сложно определяется клинически.

Дистресс – неприятное негативное состояние организма животного, при котором адаптационные механизмы не могут вернуть организм к физиологической и/или психологической норме. Состояние дистресса возникает при воздействии серьезного или продолжительного стрессорного фактора или в результате кумулятивного эффекта, развивающегося при воздействии нескольких стрессорных факторов.

Лабораторные грызуны (мыши, крысы, морские свинки) и лагоморфы (кролики) в природе являются животными-жертвами. Они умеют скрывать внешние признаки или поведение, сигнализирующие о боли и заболевании, чтобы уменьшить шансы быть съеденными хищниками.

Основные признаки боли и дистресса у лабораторных животных указаны в Таблицах 1 и 2.

Таблица1. Некоторые признаки острой боли у животных

Признак	Описание
Защитная реакция	Попытки защититься, убежать или укусить
Вокализация	Издание звуковых сигналов (писк, крик, стон) при пальпации или попытках проведения процедур на пораженном участке
Повреждения	Облизывание, кусание, царапание, встряхивание или потирание пораженного участка
Беспокойство	Постоянное движение, смена позы (животное встает/ложится), частая смена веса (животное то худеет, то поправляется)
Неподвижность	Долгие периоды неподвижности
Угнетенность	Отказ двигаться или вставать
Аномальный внешний вид	Пониженная голова, подведенный живот, сгорбленная поза

Таблица 2. Некоторые клинические признаки дистресса у животных

Признак	Описание
Аномальное дыхание	Поверхностное, затрудненное, частое дыхание
Нарушение груминга, ухудшенное состояние шерсти	Пилоэрекция, сальность, неопрятность шерсти
Изменения со стороны глаз	Остекленевшие, бегающие, расфокусированные глаза
Изменение положения тела	Сгорбленная поза, животное постоянно прячется в угол клетки, животное лежит на одном боку, животное малоподвижно
Отсутствие реакции, неподвижность	Животное не реагирует на внешние раздражители
Изменения веса тела	Частые изменения веса тела
Аномалии в функционировании пищеварительной и выделительной систем	Отсутствие или изменение частоты выделения мочи и фекалий, изменение объема, цвета, запаха мочи, консистенции фекалий; рвота; изменение потребления корма и воды
Вокализация	Частая и интенсивная вокализация

Примеры манипуляций с лабораторными животными, которые могут стать причиной боли и дистресса:

-  Ограничение подвижности (фиксация)
-  Хирургические вмешательства, с последующим выведением животных из наркоза.

- ✚ Ограничение в воде и пище.
- ✚ Смерть, как критерий завершения эксперимента (т.н. определение выживаемости).
- ✚ Болевые стимулы.
- ✚ Тесты раздражения кожи и роговицы глаза.
- ✚ Опухоли.
- ✚ Забор крови кардиальной и ретроорбитальной пункцией.
- ✚ Аномальные условия среды обитания.

Боль и дистресс, причиняемые указанными выше манипуляциями, могут быть выражены в различной степени. Все манипуляции с лабораторными животными делят на категории (см. Главу 2).

2. Классификация манипуляций с животными (тип А, В, С, D)

Ниже приведена расшифровка типов манипуляций с животными с примерами конкретных процедур. Данная информация необходима для того, чтобы определить уровень боли и дистресса, который предстоит испытать лабораторным животным в результате проводимых процедур.

Тип А: *Манипуляции, не причиняющие боли, либо причиняющие минимальную боль и дискомфорт.*

Примеры: содержание животных в неволе; кратковременное ограничение подвижности (фиксация); однократный отбор крови; однократная инъекция нетоксичных материалов; стандартные методы эвтаназии, приводящие к быстрой потере сознания; кратковременное (несколько часов) ограничение в пище и воде; поведенческие эксперименты, ограничивающиеся наблюдением за животными.

Тип В: *Манипуляции, причиняющие малую боль и дискомфорт на короткий период времени.*

Примеры: хирургические вмешательства и другие работы на анестезированных животных, по окончании которых животное **не**

возвращается в сознание (т.н. хирургическое вмешательство со смертельным исходом); канюлизация сосудов и полостей тела, проведенная под анестезией; малые хирургические процедуры, например, биопсия и другие, когда послеоперационная боль и дискомфорт у животного минимальны; ограничение в пище или воде на ночь и больше; поведенческие эксперименты на бодрствующих животных, требующие кратковременного ограничения подвижности животного; эксперименты с использованием болевых стимулов с возможностью избегания (например, тест горячей пластины или тест отдергивания хвоста); трансплантация опухолей и гибридом в строгом соответствии с Руководством по работе с лабораторными животными для сотрудников ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, одобренным Комиссией; инъекции животным полного адьюванта Фрейнда.

Комментарии: Во время проведения и завершения работ, относящихся к типу *B*, у животных не должны наблюдаться анорексия, дегидратация (обезвоживание), аномальные выделения, гиперактивность, увеличение периодов неподвижности и сна, увеличение вокализации, самовредительство, агрессивное-оборонительное поведение, социальная изоляция.

Тип С: *Манипуляции, причиняющие среднюю и тяжелую боль и дискомфорт.*

Примеры: обширные хирургические вмешательства на **анестезированных** животных, в результате которых животное остается в живых и подвергается соответствующим ветеринарным процедурам, включающим послеоперативную аналгезию, инфузии физиологических растворов и т.д.; длительное (несколько часов и более) ограничение подвижности животного или лишение его необходимых компонентов среды обитания (например, отсадка малышей от матери); взаимодействие хищник-жертва; процедуры, повреждающие функцию восприятия и моторную функцию, такие как индукция паралича или эпилептических

припадков; индукция инфекционных заболеваний и введение токсинов (если при развитии клинических симптомов животные получают лечение, либо подвергаются эвтаназии).

Комментарии: К проведению работ типа С допускаются опытные лаборанты, научные сотрудники и ветеринарные врачи, способные распознать признаки боли и облегчить ее. При проведении работ типа С у животных не должны обнаруживаться признаки **хронического** дистресса, такие как поведенческие отклонения, отсутствие груминга, обезвоживание, анемия, измененная вокализация, хроническая анорексия, самовредительство, признаки острого инфекционного процесса (перитонит, пневмония, диарея, энцефалит и т.д.).



Если обнаруживаются описанные клинические аномалии, следует предпринять действия для облегчения страдания животных.

Если описанные симптомы не удается снять, животных следует немедленно безболезненно усыпить.

Тип D: Манипуляции, причиняющие среднюю и тяжелую боль и дискомфорт, которые нельзя уменьшить.

Примеры: исследования с использованием болевых стимулов с отсутствием возможности избегания (например, тест укусных корчей); введение веществ, эффект которых неизвестен; совершенно новые экспериментальные процедуры с высокой степенью инвазивности; индукция агрессивного поведения, способного привести к самовредительству и битвам с соседями по клетке; индукция инфекционных заболеваний и введение токсинов, когда критерием окончания опыта является смерть животного (при развитии клинических симптомов животные не могут получить лечения, либо подвергнуться эвтаназии).

Комментарии: В случае необходимости проведения экспериментов типа D заявитель должен очень четко и подробно объяснить, почему в данном

случае невозможно применять альтернативные методы.

3. Альтернативные методы (Принципы 3R)

Под альтернативными методами в контексте лабораторных животных принимают так называемые принципы — 3R: replacement, reduction, refinement (замещение, сокращение, улучшение).

Замещение (англ. replacement) или использование *неживотных* моделей.

К ним относят:

-  Живые системы
-  Неживые системы
-  Компьютерное моделирование

К живым системам относят: методики *in vitro*, в которых используют органы, ткани и клетки; микроорганизмы; растения. Если невозможно использование беспозвоночных организмов, то необходимо рассмотреть возможность использования в качестве модели видов, стоящих ниже по филогенетической шкале.

Неживые системы включают физические и механические системы и химические технологии. Механические модели можно использовать для обучения специфичным техникам (например, кардиолегочная реанимация) вместо живых животных.

К химическим технологиям, наиболее часто использующимся в качестве альтернативы животным можно привести иммуноферментный метод (ELISA). Альтернативой токсикологическим исследованиям на животных может стать анализ химической структуры нового вещества и сравнение его с уже известными эффектами структурных аналогов.

Компьютерное моделирование. Самый простой пример – обучающие видео.

Сокращение (англ. reduction) числа животных в эксперименте. Возможные способы сокращения числа животных указаны в Таблице 3.

Таблица 3. Способы уменьшения количества животных, используемых в экспериментах

Способ	Примеры
Рациональный выбор размера экспериментальной группы	Предварительные эксперименты для определения вариабельности. Анализ мощности (Power analysis)
Тщательный экспериментальный дизайн	Выбор подходящих контрольных групп. Стандартизация процедур для снижения вариабельности
Максимальное использование каждого животного	Органы от животного, подвергнутого эвтаназии одним исследователем, используются для экспериментов другого исследователя
Правильный выбор экспериментальной модели	Использование здоровых, генетически однородных животных помогает снизить вариабельность. Качественный послеоперативный уход
Минимизация потерь животных	Избегание ненужного разведения животных. Планирование наперед количества животных, которое потребуется закупить или развести для исследования
Статистический анализ	Подбор статистических программ, позволяющих «выжать» максимальное количество информации из данных, полученных даже на маленьком количестве животных

Усовершенствование (англ. *refinement*) методик при работе с животными.

Особое место занимает выбор методик, позволяющих устранить или, как минимум, сократить боль и дистресс у лабораторных животных. Если для достижения цели научного исследования невозможно предотвратить боль и дистресс у лабораторных животных, то следует хорошо знать методы выявления их признаков (смотри Главу 1, Таблицы 1 и 2). Основными методами облегчения боли и дистресса у лабораторных животных являются использование фармацевтических препаратов, усовершенствование методологии, обогащение среды обитания животных и применение критериев для гуманного завершения эксперимента.

1. *Фармацевтические препараты для облегчения боли и дистресса.*

В случаях, если это не противоречит сути эксперимента, необходимо применять фармацевтические средства для облегчения боли и дистресса – анестетики, анальгетики, противовоспалительные, антибиотики, седативные препараты.

2. *Усовершенствование методологии.*

Всегда, когда это не противоречит сути эксперимента, следует выбирать такие экспериментальные процедуры (отбор крови, инъекции и т.д.), которые предполагают наименьшую инвазивность, болезненность и стресс, а также способные уменьшить количество болезненных процедур (например, катетеризация сосудов у животных для частых отборов крови).

3. *Среда обитания животных.*

Такие факторы среды обитания, как шумы, запахи, редкие или внезапные контакты с человеком, скука могут стать источником дополнительного дистресса для животных. Поэтому следует организовывать работу с животными и их содержание таким образом, чтобы свести к минимуму проявление этих неблагоприятных для животных факторов. В частности, следует избегать шумных манипуляций в местах содержания животных. Например, крысы и мыши очень чувствительны к высокочастотным звукам (ультразвуку). Электронное оборудование, которое может испускать такие звуки не следует держать в комнатах для содержания, особенно, когда животные отдыхают.

Запахи, феромоны, мочевые метки играют большую роль в социальном поведении животных. Как отсутствие запахов в подстилке, так и присутствие запаха мочи и фекалий может усиливать агрессию. Следует принимать во внимание, что частота смена подстилочного материала должна производиться с такой частотой, чтобы с одной стороны удалять избыточные запахи отходов жизнедеятельности животных, а с другой стороны сохранить специфические запахи (метки),

оставляемые животными (например, переносить в чистый подстилочный материал немного использованной подстилки).

Среда обитания животных должна быть организована таким образом, чтобы позволить животным по максимуму реализовывать свой естественный поведенческий репертуар. Грызунам нужна подстилка, позволяющая рыть норы; материал для того, чтобы грызть (ткань, дерево, бумага); для мышей полезно разместить домики-укрытия. Для содержания крыс нужно использовать высокие решетки, чтобы они могли проявлять свое изучающее и доминантное поведение.

Не стоит недооценивать и значение социальной среды на благополучие животных. Когда это возможно животных предпочтительно содержать устойчивыми, гармоничными группами. Если животных часто перемещать из одной клетки в другую, это может приводить к разрушению устойчивых социальных групп и проявлению агрессии. Стоит также принимать во внимание, что самцы мышей некоторых линий очень агрессивны при групповом содержании, драки могут привести даже к смертельному исходу. Таких животных следует содержать индивидуально.

4. Ограничение подвижности (фиксация)

Ограничение подвижности животного, или фиксация, может оказать большее стрессовое воздействие на животное, нежели экспериментальная процедура сама по себе, особенно для животных, которые к этому не приучены.

Фиксация может быть *мануальной* или *механической*. Мануальная фиксация – это ограничение подвижности животного руками, без применения каких-либо ограничивающих подвижность приспособлений: жакетов, цилиндров, станков. Такой способ фиксации может оказаться преимущественным, особенно для кроликов, так как ласковый контакт с руками может успокаивающе действовать на животное.

Пожалуйста, при ограничении подвижности животных придерживайтесь следующих рекомендаций:

- ✚ Выбирайте метод фиксации, доставляющий меньше дискомфорта животному.
- ✚ Предварительно приучите животного к фиксатору. Например, прежде чем начинать схему иммунизации кролика дайте ему несколько раз спокойно посидеть в фиксаторе, сначала открытом, потом закрытом. Неприученные к фиксации кролики могут начать сильно биться и могут повредить позвоночник, что приведет к частичному параличу.
- ✚ Если Вы фиксируете животное руками, держите его крепко, но нежно. Никогда не применяйте чрезмерную силу.
- ✚ Убедитесь, что размер фиксатора подходит животному. Пластиковые цилиндры, применяемые для фиксации мышей и крыс, как правило, имеют разный диаметр – чем крупнее особь, тем большего диаметра нужен фиксатор. Кроме того, фиксаторы для грызунов и кроликов можно подогнать по длине.
- ✚ Не держите животное в фиксаторе дольше, чем это необходимо для проведения экспериментальной манипуляции.
- ✚ Никогда не оставляйте животное в фиксаторе без присмотра!

5. Идентификация животных

К основным методам идентификации лабораторных грызунов и кроликов относят: карточку (этикетку) на клетке; прокол (надрез) ушной раковины; ярлыки (бирки) на ушной раковине; татуаж; маркеры; микрочипирование; ампутация фаланг пальцев.

Обязательная идентификация. На каждой клетке с животными должна присутствовать **бумажная этикетка**.

При поступлении в виварий из питомников сотрудники вивария

заполняют этикетку¹ на животных по следующему образцу:

Вид, линия/сток животных _____
Количество, пол животных _____
Возраст (вес) животных _____
Дата поступления (отсадки) _____
Ф.И.О. заказчика _____
Тел. _____
№ заявки _____



Пожалуйста, не выбрасывайте эти этикетки! Их размещение на клетках регламентировано законодательно (СанПин № 1045-73 от 06.04.1973 г.). Допускается размещение дополнительной этикетки на клетке в отдельном держателе для ведения записей по эксперименту.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ПРИМЕНЯЕМЫХ В УНИВЕРСИТЕТЕ МЕТОДОВ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ:

- ✓ **Прокол (надрез) ушной раковины.** Применяют для идентификации мышей, крыс, морских свинок, хомяков. С помощью острых ножниц или специального перфоратора в ушной раковине животного делается надрез или прокол. Схема размещения на ухе проколов (надрезов) должна быть стандартизована для каждой лаборатории, чтобы все сотрудники могли «читать» метку.
- ✓ **Маркировка шерсти (кожи) чернилами.** Подходит для всех видов животных, но наиболее удобно ее применять для альбиносов. Метод

¹ Для **кроликов** этикетка является методом индивидуальной идентификации и поэтому в ней дополнительно фиксируется порядковый номер кролика, который дается ему при поступлении в виварий.

закljučается в том, что на определенном участке шерсти (кожи) животного ставится метка чернилами (например, маркером). Этот метод удобен тем, что в тех случаях, когда нужно быстро «прочитать» метку (например, при введении препарата или отборе крови по строгому времени), животное легко идентифицировать в группе до фиксации. *Недостаток метода: как правило, чернильная метка быстро исчезает (24 –48 часов).*



Используемые для маркировки чернила не должны быть токсичными для животных и персонала. В частности запрещено метить животных пикриновой кислотой! Это яд!²

✓ **Ампутация фаланг пальцев.** Не рекомендуется.

6. Введение экспериментальных веществ



При введении животным экспериментальных веществ любым путем следует иметь в виду, что Ваша цель – добиться наилучшего исполнения процедуры, чтобы возможными ошибками исполнения техники введения не причинить животному излишние страдания или даже смерть.

Режим и путь введения веществ определяется задачами эксперимента, видом животных, возможными эффектами конкретного способа введения на животное и требуемой частотой введения. Эти факторы также влияют на выбор техники выполнения процедуры и места

² **2,4,6-Тринитрофенол (пикриновая кислота, $C_6H_2(NO_2)_3OH$)** — химическое соединение, тринитропроизводное фенола Молекулярная масса 229,11 а.е.м. При нормальных условиях — жёлтое кристаллическое вещество. Пикриновую кислоту и её соли, пикраты, используют как взрывчатые вещества, а также в аналитической химии для определения калия, натрия.

инъекции.

Имейте в виду, что некоторые пути введения веществ очень стрессуют животных, поэтому старайтесь, по возможности, отдавать предпочтение наименее инвазивным и простым для исполнения техникам. В Таблице 4 указаны наиболее часто встречающиеся пути введения веществ и даны некоторые комментарии.

Таблица 4. Пути введения экспериментальных веществ

Путь введения	Комментарии
Внутрикожно	Требуется большой опыт, чтобы не ввести вещество подкожно. Анализ мощности (Power analysis)
Внутримышечно	➤ Введение веществ, обладающих раздражающими свойствами, может вызвать возникновение серьезных проблем. ➤ Существует возможность повреждения нервов. ➤ Избегайте введения в фасциальные оболочки и сосуды. ➤ Эффекты от введения больших объемов и тканевые поражения скрыты. ➤ Внимательно с адъювантами
Внутрибрюшинно	➤ Введение веществ, обладающих раздражающими свойствами, может вызвать возникновение серьезных проблем. ➤ Достаточно просто повредить либо ввести вещество в один из органов брюшной полости и сложно узнать, что это произошло. ➤ Не рекомендуется применять для животных, больших по размеру, чем грызуны.
Внутривенно	➤ Грызунов может понадобиться аккуратно подогреть для того, чтобы расширить вены (например, опустить хвост в теплую воду). ➤ Слишком быстрое введение вещества может стать причиной смерти

Продолжение табл. 4.

Путь введения	Комментарии
Перорально:	
- с кормом/водой	➤ Сложно рассчитать поглощенную каждым животным дозу. ➤ Необходимо хорошо знать пищевое поведение данного вида животных.
- в таблетках	Удобно для применения у собак и приматов.
- зондом	Необходимо уметь правильно вводить зонд, так как неправильное введение может привести к смерти у грызунов.
Подкожно:	➤ При многократных подкожных введениях меняйте места инъекций. ➤ Будьте внимательны при использовании адъювантов.

Фиксация животного требуется для всех способов введения веществ, кроме перорального введения с кормом/водой.

Свойства экспериментальных веществ.

Физико-химические свойства веществ и/или растворителей могут оказывать неблагоприятное воздействие на экспериментальных животных. К таким свойствам относят: состав, растворимость, вязкость, pH, биологическая совместимость, чистота, стабильность, микробиологическая чистота.



Следует хорошо изучить эти свойства, а также возможные побочные эффекты, например, наличие раздражающих свойств.

Пожалуйста, обратите внимание на следующие моменты, тщательное планирование которых позволит улучшить качество жизни животных в эксперименте:

*Экспериментальное вещество***1). Раздражающее действие/pH.**

Вещество может вызывать раздражение и/или изъязвление кожи и

слизистых оболочек, или разрушать ткани локально (например, эндотелий сосудов). Вы можете этого не заметить при выборе пути введения, скрывающего такой эффект, однако это может существенно ухудшить состояние жизни и здоровья животного. Раздражение может быть частой проблемой при введении веществ внутривенно, на роговицу глаза, ингаляционно.

Поэтому:

- ✚ всегда предварительно проводите анализ данных об известных свойствах вещества и его эффектах. pH растворов для введения должен быть максимально приближен к нейтральному (7,0). Waynforth and Flecknell (1992) рекомендуют следующий диапазон pH 4,5-8,0. Тolerантность к pH уменьшается в следующей последовательности для различных путей введения веществ:

перорально > внутривенно > внутримышечно > подкожно.

Имейте в виду, что раздражающие свойства веществ зависят не только от pH, но и от концентрации.

- ✚ При работе с неизученным веществом, для которого подозреваются наличие раздражающих свойств, можно сначала проверить его действие на только что убитом животном (например, острое раздражающее действие на кожу или эндотелий). Затем можно проверить эффект на анестезированном живом животном.

2) Растворимость.

Плохо растворимое вещество может образовывать в растворе большие частицы, либо выпадать в осадок. Введение такого раствора внутримышечно может быть очень болезненным и к тому же, наличие частиц может препятствовать абсорбции.

- ✚ В идеале нужно использовать стабильные биодоступные растворы.
- ✚ Перед дозированием определите, водо- или жирорастворимое

вещество, стабильно ли оно или выпадает в осадок.

3) Биодоступность.

Вещества, не обладающие биодоступностью могут разрушать ткани.

- ✚ Предварительно проверьте *in vitro* наличие, например, гемолитических или цитопатических эффектов.

4) Вязкость.

Вещества, обладающие высокой вязкостью сложно вводить, требуется боль-ший размер иглы.

- ✚ Старайтесь не использовать вязкие вещества.

5) Стерильность.

Контаминированные вещества могут стать причиной инфицирования и раздражения места инъекции. Следствием может стать членовредительство и даже смерть экспериментального животного.

- ✚ Все вещества, вводимые животным должны быть стерильными, например, проавтоклавированными или профильтрованными.
- ✚ Соблюдайте правила асептики при введении экспериментальных веществ.

6) Температура

Введение холодных растворов, например, сразу после холодильника, может вызвать дискомфорт и шок.

- ✚ Подогрейте вещества до комнатной, а лучше до температуры тела животных, непосредственно перед введением.

7) Использование кожных антисептиков

Толстый волосяной покров может помешать доступа антисептика до кожи. Чрезмерное применение кожного антисептика (как правило имеющего в основе спирт) может привести к охлаждению тела, вследствие испарения спирта, особенно у мелких грызунов.

- ✚ Раздвиньте шерсть или даже сбейте небольшой участок на коже животного, чтобы эффективно обработать его антисептиком.

7) Инъекции

Иглы

Введение больших по диаметру игл может быть болезненным и причинять ненужную боль и травмирование тканей.

- ✚ Для каждого пути введения следует выбрать подходящий размер иглы (см. Таблицу 5).
- ✚ Меняйте иглы перед введением разным животным, чтобы избежать переноса инфекции.
- ✚ Следите, чтобы игла была острой.
- ✚ Если требуется многократное внутривенное введение препарата, предусмотрите возможность катетеризации вен у животных.

Таблица 5. Рекомендуемые размеры игл для введения веществ разными путями

Вид	в/к	п/к	в/м	в/в	в/б
Мышь	27G	25G	27G	26-28G	25-27G
Крыса	27G	25G	25G	25-27G	23-25G
Морская свинка	25G	23-25G	25G	25-27G	23-25G
Хомяк	25G	25G	25G	25-27G	23-25G
Кролик	25G	21-25G	25G	23-25G	21-23G

в/к- внутрикочно; п/к- подкожно; в/м-внутримышечно; в/в-внутривенно; в/б-внутрибрюшинно

Техника инъекции



При неправильном введении последствия могут быть очень серьезными. Так, например внутримышечная доза, введенная внутривенно, может стать смертельной.

- ✚ Необходимо знать анатомию животного, например, строение суставов для внутрисуставных введений, длину пищевода для перорального введения зондом, места прохождения нервов при внутримышечных инъекциях.
- ✚ Вводите иглу уверенно, но нежно и мягко давите на поршень.
- ✚ После введения внутривенно зажмите сосуд ваткой и дождитесь, пока кровь не свернется. В противном случае животное

может заливать место инъекции.

Объемы введения



Введение больших объемов экспериментальных веществ может быть не физиологичным!

В Таблице 6 указаны максимальные допустимые объемы для введения экспериментальных веществ разными путями. Чем меньше будет объем, тем лучше.

Таблица 6. Максимально допустимые объемы введения экспериментальных веществ лабораторным животным наиболее часто используемых видов

п/о (мл/кг)	в/б (мл/кг)	в/в (мл/кг)	в/м (мл/кг/точка)	п/к (мл/кг)	в/к (мл/точка)
10	10	5	0.05	2-5	0.05-0.1

п/о- перорально; в/б-внутрибрюшинно; п/к- подкожно. Объем зависит от плотности кожи животного (и, соответственно, от размера подкожного пространства). При введении больших объемов используют несколько точек (до четырех). Рекомендации по введению п/к не распространяются на введение адьюванта Фрейнда. Для полного адьюванта Фрейнда максимальный объем введения составляет 0,1 мл/точка. в/м- внутримышечно; в/в-внутривенно; *- введение вещества происходит относительно быстро, до 1 минуты (не инфузия). в/к- внутрикожно

7. Опухоли (в том числе асцитные формы)

Необходимо обладать сведениями о скорости роста данного вида опухоли и количестве вводимых клеток. Если эту информацию невозможно найти в литературе, рекомендуется провести предварительный эксперимент. В частности, для некоторых опухолевых линий введение животным 1 млн. клеток может привести к слишком быстрому росту опухоли.

Введение суспензии опухолевых клеток подкожно или внутрибрюшинно следует проводить без нарушения максимально допустимых объемов введения (Таблица 6).

Если это не противоречит цели эксперимента (например, целью работы является исследование терминальных стадий рака), то животных следует подвергать эвтаназии по достижении размера опухоли 10% веса тела животного.

8. Адьюванты

Смесь антигена с адьювантом используют для усиления иммунного ответа. Адьюванты стимулируют развитие быстрой и продолжительной продукции высокоавидных антител в высоких титрах. Использование адьювантов может быть необходимо для антигенов, обладающих слабой иммуногенностью.

Выбор адьюванта должен производиться не только исходя из предполагаемого конечного результата (высокого титра антител), но и с позиций гуманного отношения к животным. Большинство адьювантов могут стать причиной воспалительных реакций, некроза и болезненных ощущений. Наиболее часто применяют адьювант Фрейнда: полный и неполный. В состав полного адьюванта Фрейнда (ПАФ) кроме минерального масла входят липополисахариды микобактерий туберкулеза.

Никогда нельзя повторно иммунизировать одно и то же животное ПАФ, потому что это может вызвать реакцию гиперчувствительности, сопровождающуюся сильными болями, появлением абсцессов, гранулем.

Литературные данные относительно эффективности различных адьювантов сильно разнятся, но в основном, следует придерживаться следующих рекомендаций [Palmer et al., 1997]:

- ✚ Выбирайте адьювант, причиняющий меньший вред.
- ✚ Никогда не вводите полный адьювант одному и тому же животному второй раз!
- ✚ В одну инъекционную точку вводите не более 100 мкл адьюванта.
- ✚ Выбирайте такое место для инъекции, в котором локальный патологический процесс причинит меньше боли, может быть вовремя

замечен и при необходимости могло быть применено лечение (например, подкожно).

- + Выдерживайте большие интервалы между повторными введениями (бустированиями), например, 4 недели.
- + Сокращайте число используемых животных путем последовательной, а не одновременной их иммунизации. Только в том случае, если животное дает плохой иммунный ответ, иммунизируйте новое животное.
- + Выбирайте те виды животных, которые дадут большее количество крови.
- + Планируйте эксперимент наперед и будьте терпеливы ☺. Получение хорошей антисыворотки может занять 6 месяцев и более.

9. Радиоактивные вещества

К использованию радиоактивных веществ относится любое использование радиоизотопов на животных, а также использование любых устройств, испускающих радиоактивное излучение, таких как рентген.

Работа с радиоактивными веществами **на территории вивария** строго запрещена!



По всем возникающим вопросам использования радиоактивных веществ обращаться в Штаб гражданской обороны Университета. Тел. 8(495)434-13-47, комн. 336 ЦНИЛ.

При заполнении протокола-заявки в Университетскую Комиссию по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных на исследование, предполагающее работу с радиоактивными веществами, необходимо заполнять Приложение 2 (Радиоактивные и биологически опасные вещества).

10. Биологически опасные вещества

К биологически опасным веществам относят инфекционные агенты, мутагены, канцерогены, рекомбинантную ДНК, клеточные линии и биологические материалы, полученные от человека.

При заполнении протокола-заявки в Университетскую Комиссию по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных на исследование, предполагающее работу с биологически опасными веществами, необходимо заполнять Приложение 2 (Радиоактивные и биологически опасные вещества).

11. Отбор крови

Объемы крови

Основные принципы:

1. Если большой объем крови отбирать слишком быстро без замещения, животное может испытать гиповолемический шок.
2. Если кровь отбирать слишком часто, у животного может развиваться анемия.



Восстановление объема крови у животных происходит в течение 24 часов. Однако восстановление полного кровяного состава происходит через 2 недели по формуле 1 мл/кг/день.

Каждые 3-4 недели можно отбирать до 10% объема циркулирующей крови. Каждые 24 часа можно отбирать до 1% объема циркулирующей крови.

При проведении кровезамещения можно увеличить объем максимального взятия крови вдвое. Для кровезамещения следует сразу после отбора крови ввести внутривенно теплый физиологический раствор в том объеме, в котором была взята кровь.

Как правило, объем циркулирующей крови составляет 55-70 мл/кг веса тела (Таблица 7).

Таблица 7. Объем циркулирующей крови у лабораторных животных

Вид животного	Объем крови на кг веса тела, мл/кг
Кролик	44-70
Морская свинка	67-92
Мышь	78-80
Крыса	50-70
Хомяк	78



Для быстрого определения объема крови, который допустимо отбирать **каждые** 24 часа, используют формулу:

$0,01 \times \text{объем циркулирующей крови (мл/день)} (\sim 0,6 \text{ мл/кг/день})$

Пример:

Кролик весит 3,0 кг. Объем циркулирующей крови 44-70 (среднее 57).

Вопрос 1: Какой объем крови можно отбирать каждые 24 часа?

Ответ: $0,01 \times 57 = 0,57$ мл/кг в день.

Вопрос 2: Какой объем крови можно брать один раз в 3-4 недели.

Ответ: $0,1 \times 57 = 5,7$ мл/кг раз в 3-4 недели

Старайтесь выбирать наиболее подходящий для каждого вида животных способ отбора крови (Таблица 8).

Таблица 8. Места прижизненного взятия крови

Вид животного	Ушная вена	Ампутация кончика хвоста*	Венозный синус глаза*	Копчиковая вена	Яремная вена	Кардиальная пункция*
Мышь	+	+++	+	++		
Крыса		+		+++		
Кролик	+++					+
Морская свинка	+				+	+++
Хомяк			+		+	++

*- анестезия/анальгезия обязательна

Стоит помнить, что у ожиревших и старых животных объем циркулирующей крови может быть меньше на 15%.

При взятии крови из орбитального синуса глаза допустимо не применять анестезию в случае проведения манипуляции высококвалифицированным специалистом.

Примечание:

Отбор крови можно произвести **посмертно** – непосредственно после эвтаназии животного с помощью гильотины или специально предназначенных для этого ножниц (смотри раздел «Эвтаназия»). Такой метод допускается только для мышей, крыс и маленьких кроликов.

12. Ограничение потребления корма и воды

Ограничение потребления корма обычно связано с необходимостью голодной диеты перед проведением метаболических экспериментов, проведением хирургических операций, особенно полостных, накануне некропсии. Для грызунов допустимо лишение корма на 12 часов.

Ограничение корма более 12 часов, а также лишение доступа к воде нежелательно, требует веского обоснования и в любом случае не должно превышать 24 часа.

13. Анальгезия/анестезия

Анестезия (от греч. *anaesthesia* — нечувствительность), потеря чувствительности вследствие прекращения функции чувствительных клеток головного мозга или нарушения передачи импульсов в различных звеньях периферической нервной системы.³

Анальгезия (от греч. *analgesia* — бесчувственность, невосприимчивость), полная потеря болевой чувствительности; один из видов частичной диссоциированной анестезии.

³ Магда И. И., Воронин И.И., Обезболивание животных, М., 1974.



Во всех случаях, когда это не противоречит целям эксперимента при проведении болезненных процедур необходимо применять обезболивание.

В тех случаях, когда на момент планирования эксперимента есть сведения о том, что манипуляции причинят животным боль и дистресс, необходимо предусмотреть применение анестетиков и седативных препаратов. В послеоперативном периоде необходимо использовать анальгезирующие средства. Если таких данных нет, то имеет смысл провести предварительный эксперимент на малом количестве животных и тщательно обследовать их на предмет обнаружения признаков боли и дистресса.

Поскольку не все подразделения Университета имеют разрешения на использование наркотических средств для анестезии или анальгезии (например, кетамина, морфина и т.д.), в таблицах 9 и 10 приведены примеры препаратов, которые для этих целей можно свободно приобрести в аптеках (ветеринарных и/или медицинских).

Таблица 9. Рекомендуемые дозы комбинации препаратов Золетил-ксилазин для анестезии лабораторных животных

Вид животных	Дозы и способ введения	Длительность анестезии	Примечание
Крысы	20-40 мг/кг + 5-10 мг/кг в/м, в/б	20-30 мин	Для продолжения анестезии добавить 1/3 первоначальной дозы
Мыши	20-40 мг/кг + 5-10 мг/кг в/м, в/б	20-30 мин	Для более точного дозирования при введении мелким мышам может потребоваться предварительное разведение раствора в 5 раз (1 часть смеси золетил+ксилазин + 4 части воды для инъекций).

Продолжение табл. 9.

Вид животных	Дозы и способ введения	Длительность анестезии	Примечание
Кролики	15 мг/кг + 5 мг/кг в/м	70 мин	
Хомяки	20-40 мг/кг + 5-10 мг/кг в/б	20-30 мин	

в/м- внутримышечно, в/б- внутрибрюшинно

Таблица 10. Рекомендуемые анальгетические средства для лабораторных животных

Агент	Вид животных	Дозы введения и способ	Частота введения или длительность анестезии
Аспирин	Грызуны	100-400 мг/кг п/о	1р/сутки
	Кролики	100 мг/кг п/о	4 часа
Мелоксикам	Крысы	1 мг/кг п/о, п/к	1р/сутки
	Кролики	0,2 мг/кг п/к	1р/сутки
Кетопрофен	Грызуны	5 мг/кг п/о, п/к	1р/сутки
Ксилазин	Грызуны	5-12 мг/кг п/к	2 часа

п/о- перорально, п/к-подкожно

Для предупреждения инфицирования послеоперационной раны и развития воспалительного процесса в послеоперационном периоде рекомендуется применение антибиотиков и других противомикробных препаратов (Таблица 11).

Таблица 11. Рекомендуемые противомикробные препараты

Агент	Животные	Доза	Способ	Частота введения
Ампициллин	мыши	40 мг/кг/день 5-15мг/100 г веса	п/о в питьевой воде ПК	1 раз/день 2 раза/день
	крысы	5-15мг/100 г веса 50мг на взрослую крысу 40 мг/кг/день	п/к в/б п/о в питьевой воде	2 раза/день 1 раз/день в течение 10 дней 1 раз/день
Энрофлоксацин	мыши	85 мг/кг 85 мг/кг/день	п/к п/о в питьевой воде	2 раза/день в течение 14 дней в течение 14 дней
	крысы	2.5-10 мг/кг 85 мг/кг/день	в/м, п/к, п/о п/о в питьевой воде	2 раза/день 1 раз/день

Продолжение табл. 11.

Агент	Животные	Доза	Способ	Частота введения
Тетрациклин	мыши	100 мг/кг	п/к	1 раз/день в течение
		40 мг/кг/день	п/о в питьевой воде	5-7 дней
	крысы	100 мг/кг	п/к	1 раз/день в течение
		40 мг/кг/день	п/о в питьевой воде	5-7 дней

п/о- перорально, п/к-подкожно, в/б-внутрибрюшинно, в/м-внутримышечно

14. Хирургические вмешательства

Основные термины:

Операция с выживанием (операция с сохранением жизни, англ. *survival surgery*) – хирургическая процедура, после которой подразумевается выход животного из наркоза.

Операция без выживания (операция без сохранения жизни, англ. *non-survival surgery*) – хирургическая процедура, после которой или во время которой планируется эвтаназия животного до его вывода из наркоза.

Большая операция – хирургическая процедура с проникновением в полости тела или со значительным нарушением физиологических функций вызванным ортопедическими манипуляциями и манипуляциями по удалению или замене больших количеств тканей, например, лапаротомия, краниотомия, торакотомия, ампутация конечностей, замена суставов.

Малая операция – хирургическая процедура без проникновения в полости организма и вызывающая минимальные изменения физиологического состояния, например, ушивание ран, катетеризация периферических сосудов.

Анестезия – потеря чувствительности всего тела или части тела.

Анальгезия – временная потеря чувства боли.

Правила асептики – комплекс мероприятий, предотвращающих заражение тканей микроорганизмами.

Стерилизация – процесс уничтожения всех форм микроорганизмов.

Критерий стерилизации – отсутствие роста микроорганизмов на питательной среде.

Дезинфекция – процесс уничтожения вегетативных форм микроорганизмов, но не споровых форм, которые способны к прорастанию на питательной среде.

Основные принципы хирургии:



При проведении хирургических операций исследователь должен руководствоваться принципами гуманного обращения с животными и соблюдать основные правила проведения хирургических операций.

- ✚ Все хирургические вмешательства должны проводиться квалифицированными сотрудниками.
- ✚ Большие и малые операции с выживанием животного должны проводиться с соблюдением правил асептики. Операции без выживания животного могут проводиться без жесткого соблюдения правил асептики, но чистыми инструментами и на чистых рабочих поверхностях.
- ✚ Для проведения хирургических операций на грызунах не требуется специализированного операционного помещения, однако все хирургические вмешательства должны проводиться вне помещения для содержания животных
- ✚ Хирургические операции должны сопровождаться соответствующими ветеринарно-медицинскими процедурами предоперационной подготовки животного и послеоперационного ухода.
- ✚ При операции должны соблюдаться основные правила хирургической техники: осторожное обращение с тканями, минимальное их повреждение и рассечение, соответствующее использование инструментов, предотвращение кровопотери, использование соответствующих шовных материалов и правильное наложение швов.

Подготовка инструментов и материалов:

Для проведения операций с выживанием животного все нестерильные материалы, которые будут соприкасаться с операционным полем (включая шовный материал, бинты, салфетки, вату, имплантируемые материалы), должны быть простерилизованы.

Оборудование и материалы, применяемые в операции, но прямо не контактирующие с операционным полем (хирургический столик, стереотаксис и др.) необходимо обработать дезинфектантом.

Набор инструментов перед проведением операции необходимо простерилизовать. При проведении подряд серии операций заранее готовят (стерилизуют) как минимум два набора инструментов, которые поочередно дезинфицируют методом погружения в раствор дезинфектанта на время проведения очередной операции. Перед дезинфекцией инструмент очищают от крови и других органических загрязнений с помощью тканевых салфеток.

Стерилизовать инструмент можно кипячением и автоклавированием, дезинфицировать – погружением в раствор дезинфектанта (например, в 0,5% раствор хлоргексидина биглюконата⁴ на 70% этиловом спирте) с последующим ополаскиванием стерильной (кипяченной) водой.

Не следует использовать для стерилизации и дезинфекции растворы этанола, т.к. он неактивен в отношении споровых форм бактерий и многих вирусов, плохо проникает через клеточные барьеры, требует продолжительного времени воздействия.

Предоперационная подготовка:

Для проведения операций выбирают здоровых животных без каких-

⁴ **Хлоргексидин** (Chlorhexidinum, 1,6-Ди(пара-хлорфенилгуанидо)гексан) — лекарственный препарат, антисептик. Выпускается в виде биглюконата (Chlorhexidini bigluconas).

либо клинических признаков заболевания. Только что прибывшие животные должны пройти период акклиматизации до проведения операции.

Перед проведением полостных операций животных лишают корма на период: как минимум 4 часа – для мыши, 6 часов – для крысы, но не более 24 часов. Для проведения малых операций лишать корма необязательно, однако, этот прием может улучшить всасывание анестетика при его внутрибрюшинном введении.



Доступ к воде перед операцией не ограничивается.

Непосредственно перед проведением операции животное анестезируют. После введения анестетика необходимо проверить глубину анестезии: при глубокой анестезии скелетные мышцы должны быть расслаблены, должны отсутствовать рефлексы (не должно быть реакции на пощипывание кончика хвоста, пальцев, прикосание к носу и роговице глаза).

При необходимости животное фиксируют на хирургическом столике, привязав петлевидными узлами за лапы, или приклеив скотчем.

Для предотвращения высыхания роговицы рекомендуется закапать в глаза глазной гель (офтагель или др.).

В местах планируемых разрезов удаляют шерсть выщипыванием (при этом слегка натягивают кожу, не щипая ее) или сбриванием с помощью *клиппера*. Удаленную шерсть тщательно собирают с животного и с рабочих поверхностей в закрывающуюся емкость для отходов.

Обработка операционного поля (кожи) выполняется на месте проведения операции перед выполнением разреза. Обработку выполняют тампонами, смоченными дезрастворами, при этом обработку ведут от центра к периферии.

После обработки операционное поле изолируют стерильными салфетками. Для этого используют несколько маленьких или одну большую салфетку с разрезом. Из-за малого размера грызунов салфетка может укрыть все животное и затруднять визуальное наблюдение его состояния, но при этом должен сохраняться свободный доступ воздуха к дыхательным путям.

Если операция будет длиться более 30 мин, рекомендуется обеспечить подогрев животного, т.к. анестезия вызывает гипотермию. Для подогрева можно использовать электрическую или водную грелки, которые кладут под операционный столик. Нельзя класть животное непосредственно на средства подогрева. Для подогрева можно использовать специальный подогреваемый металлический столик.

Рекомендации по проведению операций:

- ✚ Операцию начинают, убедившись, что степень анестезии соответствует предполагаемому оперативному вмешательству.
- ✚ При проведении операции необходимо постоянно контролировать состояние животного: наличие и частоту дыхательных движений, признаки гипотермии.
- ✚ Разрез для операционного доступа должен быть минимальным, но достаточным для достижения цели операции.
- ✚ Необходимо избегать пересыхания тканей операционного поля – периодически орошать их стерильным изотоническим раствором (физиологическим, фосфатно-буферным). Возможно применение для орошения 0,5% раствора новокаина, который не только предохраняет ткани от пересыхания, но и обеспечивает местную анестезию.

Принципы наложения швов:

- ✚ Используют шовный материал и хирургические иглы соответствующего размера. Рекомендуется по возможности

применять атравматические иглы, которые значительно меньше повреждают ткани.

- ✚ При наложении швов используют стерильный шовный материал. При использовании нестерильного шовного материала его стерилизуют автоклавированием, кипячением или замачиванием в дезрастворе в условиях лаборатории перед проведением операции. При использовании коммерческого стерильного материала обращают внимание на состояние упаковки, при необходимости стерилизуют в условиях лаборатории.
- ✚ Выбор шовного материала (абсорбируемый/неабсорбируемый, монофиламентный/полифиламентный) зависит от целей операции, места наложения шва, срока, в течение которого прооперированное животное будет жить. При полостных операциях, предполагающих жизнь животного в течение длительного времени после операции, на разрез мышечной ткани полости предпочтительно накладывать шов из абсорбируемого материала.
- ✚ Использование шовного материала с антимикробной пропиткой позволяет снизить риск инфицирования операционной раны, однако влияние этих веществ на результаты исследования следует учитывать при планировании эксперимента. Следует избегать использования шелковых нитей для наложения швов на кожу, т.к. эти нити плетеные, что облегчает проникновение бактерий и инфицирование раны.
- ✚ Разрез мышечной ткани зашивается непрерывным швом, разрез кожи – чаще прерывистым, однако допустимо накладывать также непрерывный шов, особенно на местах, доступных зубам грызуна.
- ✚ При проведении полостных операций (лапаротомия и торакотомия) накладывают 2х этажный шов: на глуболежащие ткани и, отдельно – на кожу.
- ✚ Для зашивания кожи используют режущие иглы (трехгранные в сечении), для мышечной ткани – иглы, округлые в сечении.

✚ После наложения швов рану целесообразно обработать антисептиком: спиртовым раствором бриллиантовой зелени, тетрациклином или алюминий – содержащим спреем, либо другими средствами. Применять йодную настойку не рекомендуется, т.к. это вызывает раздражение и ожог тканей.

Шовный материал:

ПОЛИКОН. Полиамидная антимикробная хирургическая нить, обеспечивает биологическую герметичность хирургического шва и полностью резорбируется, гарантируется биологическая чистота хирургической нити в открытой упаковке.

КАПРОАГ. Полиамидная псевдомонофиламентная абсорбируемая нить с хлоргексидином биглюконатом.

PROLENE. Полипропиленовая монофиламентная неабсорбируемая инертная нить.

ETHILON. Полиамидная монофиламентная абсорбируемая нить

VICRYL. Абсорбируется в течение 60-90 дней

Нейлон. Неабсорбируемая монофиламентная инертная нить.

Шелк. Неабсорбируемая нить. Удобна и доступна для применения. Не рекомендуется для кожных швов.

Послеоперационный уход:



Ответственность за послеоперативный уход целиком лежит на руководителе исследования.

После проведения хирургического вмешательства животное должно быть помещено в теплое чистое место до полного выхода из наркоза. Во избежание дегидратации, особенно при кровопотерях, после окончания операции рекомендуется ввести внутривенно или подкожно 1-2мл/100г веса тела теплого (35-37 °С) стерильного изотонического раствора (физ. раствор, раствор Рингера или Рингера-Локка). Дальнейший

послеоперативный уход включает введение анальгетиков, противомикробных препаратов, ежедневный мониторинг состояния животных на предмет обнаружения признаков боли и дистресса, особое внимание уделяют состоянию швов.

15. Получение и использование генетически модифицированных животных.

При заполнении протокола-заявки в Университетскую Комиссию по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных на исследование, предполагающее работу с генетически-модифицированными животными, необходимо заполнять Приложение 3 (Генетически модифицированные животные).

В том случае, если исследователь планирует работать с животными известных генетически модифицированных линий, то он должен указать в Приложении 3 протокола-заявки все физиологические отклонения, присущие данным животным, и то, как он планирует поступать с животными, испытывающими вследствие таких отклонений боль, страдания и дискомфорт. Например, качество жизни генетически модифицированных животных, имеющих аномалии зубов, можно улучшить путем кормления их мягкими кормами; а жизнь животных с диабетом – путем использования большего количества подстилочного материала для абсорбции избыточного количества выделяемой ими мочи и т.д.

В том случае, если планируется получение новой генетически модифицированной линии и поэтому отсутствует информация о возможных физиологических аномалиях у животных, в протоколе-заявке и Приложении 3 необходимо указать основные критерии для проведения эвтаназии, если в процессе процедуры будут появляться животные с очень ослабленным фенотипом.

16. Гуманное завершение эксперимента

Принципы гуманности должны лежать в основе любых экспериментов с использованием животных. В тех случаях, когда экспериментальное воздействие причиняет животному боль и дистресс, которые нельзя устранить или уменьшить (например, опухолевый рост, заражение инфекциями, токсикологические исследования и т.д.), необходимо определить критерии для гуманного окончания эксперимента, когда все данные уже собраны и нет необходимости продолжать страдания животного.

При обнаружении таких критериев животных следует либо обезболить и провести необходимое лечение (если эксперимент предполагает оставление животного в живых), либо подвергнуть эвтаназии (если эксперимент предполагает смерть животного). Примеры критериев приведены в Таблице 12.

Есть виды исследований, в которых традиционно дожидаются смерти животного: исследование биологии опухолей и эффективности противоопухолевой терапии, исследования инфекционных заболеваний и их терапии, токсикологические исследования новых веществ. Однако современные международные стандарты рекомендуют даже для таких исследований использовать эвтаназию по достижению животным агонизирующего состояния, а не дожидаться, пока животное умрет самостоятельно.

Таблица 12. Примеры критериев для гуманного завершения эксперимента (указаны часто встречающиеся критерии, но не все)

Критерий	Описание	Применение
Размер опухоли и эффекты опухоли на организм	Опухоль достигает 10% нормального веса тела; некротические изменения в опухоли; инфицирование опухоли, изъязвление ее; неспособность животного передвигаться, пить/есть	Подкожные и внутрибрюшинные опухоли, гибридомы (асциты)

Продолжение табл. 12.

Критерий	Описание	Применение
Продолжительные периоды отказа от приема пищи/кахексия	Быстрая потеря веса (>20% от нормального веса тела) и/или кондиции	Метастазы, хронические инфекционные заболевания
Неспособность передвигаться	Продолжительная неподвижность	Много примеров
Признаки серьезного повреждения органов и систем	Респираторная система: частое или затрудненное дыхание, кашель, хрипы. Сердечнососудистая система: шок, кровотечения, анафилаксия. Пищеварительная система: непрекращающаяся диарея и рвота. Периферическая нервная система: параличи. Центральная нервная система: кружение, слепота, слабоумие, конвульсии	Токсикологические исследования; системные заболевания
Прогрессирующая гипотермия	Снижение температуры тела на 4-6°C	Инфекционные заболевания; исследования эффективности вакцин

17. Эвтаназия



Под эвтаназией понимают гуманное умерщвление животного, причиняющее минимальное количество боли, страха и дистресса.

Причины, по которым проводят эвтаназию в лабораториях и питомниках обычно следующие:

- ✚ В конце эксперимента или когда проявляются побочные эффекты;
- ✚ Для отбора крови и других тканей для решения различных научных задач;
- ✚ Когда животное нужно избавить от боли, дистресса и страдания;
- ✚ Когда состояние здоровья и благополучия животных вызывает беспокойство;

- ✚ Когда они больше не годятся для разведения;
- ✚ Нежелательный сток или сток с нежелательными свойствами, например, не тот пол, что необходим.

Для того, чтобы метод умерщвления был признан гуманным, он должен соответствовать следующим требованиям: быть безболезненным; вызывать быструю потерю сознания и смерть; требовать минимального обездвиживания животного (фиксации); не вызывать волнения у животного; соответствовать возрасту, виду, состоянию здоровья животного; минимализировать испуг (страх) и физиологический стресс; быть надежным, необратимым, легким в исполнении (желательно в малых дозах), безопасным и по возможности эстетически приемлемым для персонала, проводящего процедуру. Примеры способов эвтаназии для различных видов грызунов и кроликов приведены в Таблице 13.

Таблица 13. Методы, приемлемые для эвтаназии грызунов и кроликов (из наиболее доступных в Университете)

Метод	Грызуны	Кролики
Цервикальная дислокация	+	+
	(для грызунов весом < 150 г)	(только для кроликов весом < 1 кг)
СО₂	+	+
Декапитация	+	+
		(только для кроликов весом < 1 кг)

Сознание – это состояние нормального животного, в котором оно может воспринимать стимулы из внешней среды и отвечать на них нормальным поведением бодрствующего индивидуума.

Бессознательное состояние – состояние, при котором отсутствует реакция на внешние стимулы, например, кома или общая анестезия.

Оборудование для эвтаназии (например, СО₂-камера, гильотина) должны быть сконструированы таким образом, чтобы вызывать быструю потерю сознания и смерть. Их следует держать в чистоте, потому что остатки крови, мочи и фекалий могут вызывать беспокойство у животных.



Пожалуйста, обратите внимание на то, что усыпление диэтиловым эфиром⁵ и хлороформом⁶ не являются подходящими методами эвтаназии.

Эфир оказывает раздражающее воздействие на слизистые оболочки. Он значительно повышает глюкозу крови животного, и вреден для персонала. Хлороформ угнетает центральную нервную систему и вызывает сердечную и дыхательную недостаточность. Он гепатотоксичен, нефротоксичен и канцерогенен для других животных и персонала.

Подтверждение наступления смерти:

Необходимо знать признаки, подтверждающие наступление смерти животного. К ним относят:

-  прекращение сердцебиения и дыхания;
-  отсутствие рефлексов;
-  снижение температуры тела ниже 25⁰ С (у мелких грызунов).



Если имеются сомнения в том, что смерть наступила, необходимо немедленно использовать другой метод эвтаназии!

18. Утилизация отходов (трупы животных, шприцы, иглы).

Все отходы вивария (трупы лабораторных животных и патматериалы, использованные шприцы и иглы, использованный подстилочный материал) относятся к биологически опасным отходам класса Б.

⁵ **Диэтиловый эфир** (этиловый эфир, серный эфир). Химическая формула: $(C_2H_5)_2O$. По химическим свойствам — типичный алифатический простой эфир.

⁶ **Хлороформ** (трихлорметан, метилтрихлорид, хладон 20) — органическое химическое соединение с формулой $CHCl_3$. При н.у. бесцветная летучая жидкость с эфирным запахом и сладким вкусом. Практически нерастворим в воде — образует с ней растворы с массовой долей до 0,23 %. Смешивается с большинством органических растворителей. Негорюч. Возможны отравления фосгеном при работе с хлороформом, который долго хранился на свету в тёплом месте

Правила их сбора и утилизации регламентированы Санитарными правилами и нормами СанПиН 2.1.7.728-99 «Правила сбора, хранения и удаления отходов лечебно-профилактических учреждений», утвержденных постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 22 января 1999 г. N 2.

Пожалуйста, следуйте следующим правилам:

- Использованные иглы сбрасывайте в специальные контейнеры с дезинфицирующим раствором (должны находиться на столе в комнате для содержания животных).
 - Шприцы (**без игл!**) и ампулы выбрасывайте только в предназначенные для этого мусорные корзины (должны быть подписаны: **ДЛЯ ШПРИЦЕВ**).
 - Трупы лабораторных животных и патматериалы в черных мешках (пакетах) выносите в предназначенный для этого морозильник.
 - Категорически запрещается оставлять трупы животных на полу, столах и в любых непредназначенных для этого местах.
-

19. Список литературы

1. Institutional Animal Care and Use Committee Guidebook, 2nd edition, ARENA, 2002
2. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, National Research Council, National Academy Press, 2011
3. Recognition and Alleviation of Distress in Laboratory Animals. Washington (DC): National Academies Press (US); 2008.
4. Recognition and Alleviation of Pain in Laboratory Animals. Washington (DC): National Academies Press (US); 2009.
5. Suckow M.A. The laboratory rabbit, CRC Press, 2010
6. Waynforth H.B., Flecknell P.A. Experimental surgical techniques in the rat, 2nd edition. London: Academic Press, 1992.
7. Forsythe DB, Payton AJ, Dixon D, Myers PH, Clark JA, Snipe JR. Evaluation of Telazol-xylazine as an anesthetic combination for use in Syrian hamsters. Lab Anim Sci. (1992), 42(5): 497-502.
8. Palmer D., Masters A., Deol H., Polyclonal antibody production and adjuvants- a dilemma. ANZCCART News (1997),10: 2-5
9. Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 1, Laboratory Animals (1996), 30: 293-316
10. Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 2, Laboratory Animals (1997), 31: 1-32
11. Refining procedures for the administration of substances. Report of the BVAAWF/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement. Lab Anim. (2001), 35(1): 1-41.
12. Removal of blood from laboratory mammals and birds. First report of the BVA/FRAME/RSPCA/UFAW joint working group on refinement. Laboratory Animals (1993), 27: 1-22
13. Silverman J, Huhndorf M, Balk M, Slater G. Evaluation of a combination of tiletamine and zolazepam as an anesthetic for laboratory rodents. Lab Anim Sci. (1983), 33(5):457-60.