

Лекція № 8

Тема: Правила утримання лабораторних тварин у віварію, їх розведення та використання

План:

1. Структура віварію.
2. Правила утримання дослідних тварин у віварію.
3. Прибирання і дезінфекція віварію.
4. Правила особистої гігієни працівників віварію.
5. Правила годування лабораторних тварин.
6. Методи розведення лабораторних тварин
7. Племінний добір лабораторних тварин
8. Використання тварин в експериментах

1. Структура віварію

В структуру віварію входять:

- 1) кімната для обслуговуючого персоналу з індивідуальними шафами для спецодягу.
- 2) відділення для карантину та адаптації тварин, які тільки поступили з розплідника.
- 3) ізолятори для підозрілих на інфекційні захворювання та завідомо хворих тварин, знищення яких небажано за умовами досліду.
- 4) приміщення для утримання здорових тварин.
- 5) експериментальна кімната, обладнання та оснащення якої визначається у кожному конкретному випадку задачами та умовами наукових досліджень, які проводяться.
- 6) ізольовані приміщення для тварин, що вакциновані або інфіковані різними видами збудників.

Також у віварію повинні бути:

- 1) кормокухня - з двох суміжних приміщень для переробки та виготовлення кормів із самостійними виходами у коридор із кожного приміщення, комора із спеціально обладнаними ларями та холодильниками для збереження запасу кормів.
- 2) дезінфекційно-мийне відділення з двох кімнат, що об'єднані перехідним автоклавом або сухожаровою камерою. Інфікований матеріал, наприклад клітини, підстилка, годівниця, спочатку дезінфікують, а потім механічно чистять та миють. Матеріал, що не представляє небезпеки для зараження, спочатку підлягає механічному очищенню, а потім (при необхідності) стерилізації. Мийне приміщення має смітєпровід.
- 3) склад чистого інвентарю з клітками, поїлками, годівницями;
- 4) Побутові приміщення і санітарний блок для обслуговуючого персоналу.
- 5) Віварій розміщується в окремо розташованому будинку або на верхньому поверсі лабораторного корпусу. У цьому випадку він повинен бути повністю ізольованим від усіх інших приміщень.
- 6) Карантинне відділення, відділення для піддослідних та ізолятор для інфікованих тварин розміщуються в приміщеннях, які суворо ізольовані одне від одного та від усіх інших приміщень віварію
- 7) Приміщення для тварин повинно бути теплим, світлим і сухим, з природнім та штучним освітленням, вентиляцією, підводкою гарячої та холодної води.
- 8) Підлога із водонепроникного матеріалу без плінтусів. Стіни покривають глазурованою плиткою, стелю та двері фарбують масляною фарбою.

2. Правила утримання дослідних тварин у віварію

Мишей, щурів, морських свинок і кролів утримують у клітинах, встановлених на металевих стелажах. Гризуни утримуються в клітках зі суцільним дном на підстилці або із сітчастим дном-підлогою. В якості підстилки використовуються деревинна тирса, стружка, волокнистий торф, м'яка солома. Підстилки заздалегідь автоклавують або дезінфікують у сухо жаровій шафі при температурі 150-180° С

протягом 15-20 хв.

Норми площі для утримання лабораторних тварин

Вид тварин	Мінімальна площа дна клітки на одну тварину, см	Максимально припустима кількість тварин в клітці	Число тварин на 1 м ² площі полу приміщення
Миші	40	15	65 дорослих або 240 молодняку
Щури	150	10	20 дорослих або 100 молодняку
Мурчаки	300	5	15-18
Кролі	2000	1	3-4

- Стелажі розміщуються упродовж стін і повинні займати близько 0,4 м² виробничої площі.
- У кожному окремому приміщенні віварію рекомендується утримувати 1 вид тварин.
- Якщо за умовами досліду в одній секції разом утримуються тварини різних видів, розміщувати їх треба на різних стелажах. На кожній клітині з тваринами вивішують етикетку:

Відділення (лабораторія)	Прізвище дослідника
Клітка №...	Початок експерименту
Вид, лінія, стать тварин	Закінчення експерименту
Вік...	Особливі позначки
Дата надходження	

3. Прибирання і дезінфекція віварію

Прибирання віварію проводять **кожний** день вранці. Починають з **огляду тварин**, виявляючи захворівши та загинувши. Із клітин **виймають кормушки та поїлки**. Підлогу кожної клітки **чищать** віником та металевим скребком. **Залишки** їжі та калу зіскрібають совком і зкидують у металевий бак із щільної кришкою. Після всього скребок **знезаражують**. Кормушки, поїлки миють гарячою водою із зольним лугом або содою, а потім обдають окропом. Переставляти кормушки та поїлки із однієї клітини в іншу не можна.

Потім протирається підлога, стіни, підвіконня гарячою водою або дезінфікуючим розчином.

- Прибирання проводять у спеціальному одязі: халаті, фартусі, косинці та резинових рукавичках.
- Один раз на 1,5-2 тижні, клітини тварин миють гарячою водою і дезінфікують гарячим зольним лугом або прожигают полум'ям паяльної лампи з метою профілактики інфекційних паразитарних захворювань і розмноження комах.
- Під час поточної дезінфекції тварин пересаджують у чисті, заздалегідь продезінфіковані клітки з підготовленими підстилками, кормушками і поїлками. Попередні клітки дезінфікують.
- Після закінчення прибирання, зібране сміття спалюють

4. Правила особистої гігієни працівників віварію

Кожний працівник віварію забезпечується **персональним** спецодягом спецвзуттям, рушником та милом. В нього повинна бути **індивідуальна** шафа з двома відділеннями. В одному - зберігаються протягом дня домашні речі, які робітник повинен зняти, приходячи на роботу; в іншому відділенні знаходиться спецодяг. **Кожний місяць індивідуальна шафа дезінфікується**. Після закінчення кожного етапу роботи, а також перед прийняттям їжі треба обов'язково **мити та дезінфікувати руки** (біля раковини рукомийника знаходяться бутили з 2% розчином лізолу або хлораміну), а потім протирати вазеліном або дитячим кремом для попередження появи тріщин на шкірі.

- Після закінчення роботи персонал віварію повинен пройти обробку в санітарному блоці (душ).
- Всі особи, які приймаються на роботу з лабораторними тваринами, проходять медичне обстеження, включаючи на носії збудників туберкульозу та всієї групи кишкових інфекцій. У подальшому обстеження проводять не менше як 1 раз на рік. При виконанні робіт на тваринах

експериментів із збудниками, які небезпечні для людей, обслуговуючий персонал віварію підлягає профілактичній імунізації.

- Для співробітників віварію проводиться інструктаж із техніки безпеки та охорони праці, правил внутрішнього розпорядку. Відповідальність за проведення інструктажу лежить на завідувачу віварієм.

5. Правила годування лабораторних тварин

Порушення режиму і раціону харчування, невиконання гігієнічних заходів при годуванні, сприяє послабленню організму тварин і підвищенню їх сприйняття різних інфекційних та соматичних захворювань. Виникнення їх протягом досліду може привести до невірних результатів експерименту та не вірним висновкам.

Лабораторних тварин годують 2-3 рази на добу у суворо встановлені години. Денний раціон треба розподіляти так, щоб різні види кормів чередувалися протягом дня

Основним видом харчування лабораторних тварин (гризунів) є зерна злакових олійних та бобових культур: овес, пшениця, кукурудза, просо, горох, соняшник, льон. Кукурудзу та горох треба давати подрібленими. Перед вживанням зернову суміш стерилізують в автоклаві при температурі 105 °С або в сухожаровій шафі протягом 40 хв. Поряд із зернами та насінням використовують продукти їх переробки: крупу, борошно, висівки, жмих. Висівки та жмих зволожують або змішують із вареною картоплею. Висівки кролям особливо молодняку уводити не можна - це визиває в них розвиток кокцидій (паразитує в епітеліальній тканині кишечника).

В останні часи використовують комбіновані корми у брикетах та грану пах кожний вид корму складений на певний вид тварин. Він містять постійну кількість білків, жирів, вуглеводів, мінеральних солей, мікроелементів і вітамінів. Обов'язковою умовою переходу на гранульовані корма є безперебійне забезпечення тварини чистою водою.

Для забезпечення водою тварин використовують *автопоїлки*. Це скляний флакон ємністю 200-250 мл із резиновою пробкою, в отвір якої вставлена зігнута під кутом 120-140° скляна або металева, трубка з внутрішнім діаметром 6 мм. Поїлку кріплять на боковій стороні клітки або на кришці під невеликим ухилом, щоб кінець трубки заходив в клітку на відстань, зручну для злизування тваринами краплі, яка висить на кінці трубочки. Якщо автопоїлок немає, у клітках мишей та щурів повинні знаходитися мисочки з чистою водою. Кролів та морських свинок треба поїти 2 рази на добу, а у спеку - не менше 3 раз.

6. Методи розведення лабораторних тварин

Існує:

А) внутрішньопорідне розведення (чисте). Спарюються самці та самки тільки однієї породи. Метод розведення – лінійний, коли тварини гомозиготні за всіма генами.

Б) міжпорідне. Спарюються самки з самцями різних порід. В залежності від поставленої мети застосовують поглинове, увідне («прилиття крові»), відтворюване, промислове та змінне схрещування.

В) гібридизація (схрещування окремих видів, а не порід). Беруть самок та самців різних видів тварин.

Для лабораторних тварин може бути застосоване як внутрішньопорідне, так і міжпорідне розведення.

А) Внутрішньопорідне розведення

При тривалому внутрішньопорідному розведенні практикується лінійний метод і метод крос-ліній (схрещування тварин різних ліній). Застосуванням лінійного методу вдається закріпити і надалі удосконалювати цінні якості тварин.



При внутрішньопорідному розведенні і розведенні по лініям застосовують **родинні спаровування тварин**, у тому числі близькородинне, або тісний інбридинг (спаровують братів та сестер, батька з доньками тощо) та **помірне родинне спаровування**. Проте тривале застосування тісного інбридингу може привести до депресії, тобто отримання приплоду з низькою життєздатністю та послабленою конституцією. Депресія проявляється у третьому поколінні та найбільше зазвичай вона виражена на 5-7 поколіннях.

Для послаблення шкідливого впливу близькородинного спаровування, тварин для спаровування беруть з різних сезонів народження, наприклад самців зимового, а самок – літнього або весняного періоду народження. Також, самців слід годувати більш концентрованими кормами, а в раціон самок вводити більше соковитих кормів.

Для отримання здорового приплоду із високою життєздатністю при тривалому внутрішньопорідному розведенні застосовують метод «освіження крові». Суть – маточне поголів'я тварин покривають самцями тієї ж породи, але не спорідненими самкам та вирощеними в інших умовах. Кращі результати можна отримати, якщо для «освіження крові» самців і самок беруть із різних розплідників і різних сезонів народження.

Б) Міжпорідне розведення

Мета міжпорідного розведення – отримати схрещуванням тварин двох або декількох порід нові форми тварин зі збагаченою, але розхитаною спадковістю або підвищити якість тварин однієї породи за рахунок іншої.

Для покращення якості, тобто підвищення продуктивності однієї низькопродуктивної породи, застосовують поглиновий метод схрещування. При цьому самиць низькоякісної породи покривають самцями іншої, високоякісної або породи що покращує. Приплід від такого спаровування називається помісю першого покоління. Самців першого покоління усувають із розведення, а самок цього ж покоління знову спаровують з іншими самцями, але тієї ж породи, що покращує. Третє покоління розводять у собі, тобто самиць третього покоління покривають самцями того ж третього покоління.

Увідним схрещуванням, або «прилиттям крові», переслідується мета підвищити якусь одну якість породи, виправити якийсь один її недолік її.

Приклад: **кролик російський горностаєвий** є цінною породою, проте має недолік – тварина мілка. Жива маса дорослого кролика – біля 2 кг.



Ставиться задача зберегти цю породу у чистоті, тобто зберегти її цінні якості – гарне хутро, міцну конституцію, високу скоростиглість і велику стійкість проти захворювань, але підвищити живу масу. Для цього самок горностаєвої породи спарюють із самцями близькою до неї за якістю, але великої породи білий велетень, жива маса якої 6 кг.



Від такого схрещування помісі першого покоління будуть мати усі якості, що притаманні породі горностаєвого кролика, але їх маса буде вже не 2, а 3 чи 4 кг. У подальшому тварин цього першого покоління розводять у собі. Таким чином, порода горностаєвого кролика зберігається у чистоті, але шляхом «прилиття крові» білого велетня жива маса підвищилася майже у 2 рази.



Відтворюване схрещування застосовують при виведенні нових порід. Відтворюване двох порід є простим, трьох та більше порід – складним. У лабораторному тваринництві воно застосовується рідко.

Порода «український левкой» була виведена на основі мутації генів безшерстості і висловухості. Такий кіт з'явився за допомогою схрещування шотландської висловухої кішки з донським сфінксом.



Донський сфінкс

+

шотландська висловуха кішка

=

український левкой

У 1980-х роках одеськими кінологами проводилися спрямовані в'язки між породами — жорсткошерстий фокстер'єр, карликовий пудель, мальтійська болонка. В результаті цієї селекційної роботи до кінця 1990-х років утворилася група собак, які мали спільних предків і близьких за екстер'єром.

Порода собаки «Одіс»



+



+



=



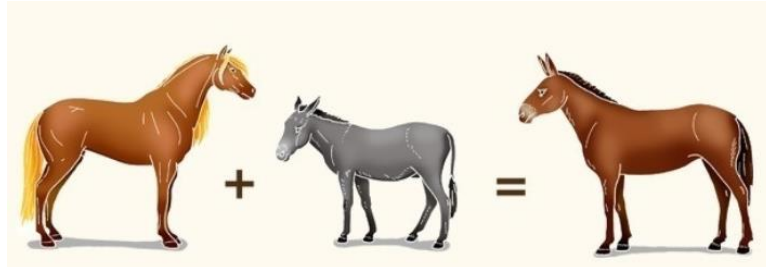


В) Гібридизація

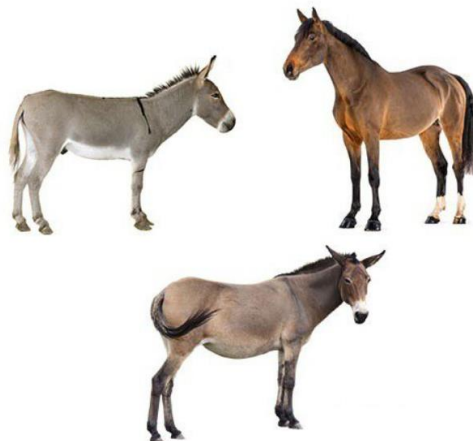
Промислове схрещування базується на біологічному явищі гетерозису (пишний розвиток). Гетерозис характеризується різким підвищенням ознак у потомстві першого покоління порівняно із батьками, які відрізняються один від іншого спадковими задатками. Помісі від такого схрещування відрізняються від своїх батьків підвищенням життєвістю: міцним здоров'ям, підвищеним апетитом, скоростиглістю, плодовитістю та іншими цінними якостями. При подальшому розведенні таких помісів першого покоління у собі гетерозис втрачається та усі вказані якості приходять до початкових. Цей метод схрещування також може бути застосованим й у лабораторному тваринництві.

МУЛ:

Отримують від кобили та віслюка. Мули переймають риси та характеристики обох батьків. Вони великі, як кобили, і можуть швидко пересуватися. Від батька-віслюка їм дістаються витривалість та працездатність. У більшості випадків мули більші за своїх батьків. На розміри впливає мати. Тож для отримання великого потомства відбирають найвищих коней. Для мулів характерний зворотний диморфізм – представники жіночої лінії більші, ніж чоловічої.



Кобила (64 хромосоми) віслюк (62 хромосоми) мул (63 хромосоми)



ЛОШАК:

Отримують від ослиці та жеребця. Зовні ближче до коня, ніж до віслюка. Лошак зазвичай дрібніше за мула та менш сильний. Особливого інтересу такі гібриди не мають, вони набагато дрібніші і слабші за мулів, ослів і коней.



У коней хромосом однією на пару більше, ніж в ослів, тому мул має непарну кількість, отже, рівного їх розподілу статися не може. Відомі кілька поодиноких випадків, коли самки мулів народжувалися не безплідними і народжували лошат, але тут йдеться якраз про відхилення. Ще рідше це явище зустрічається серед самок лошаків. Фактів про плодючість самці серед обох гібридних різновидів сучасна наука не має.

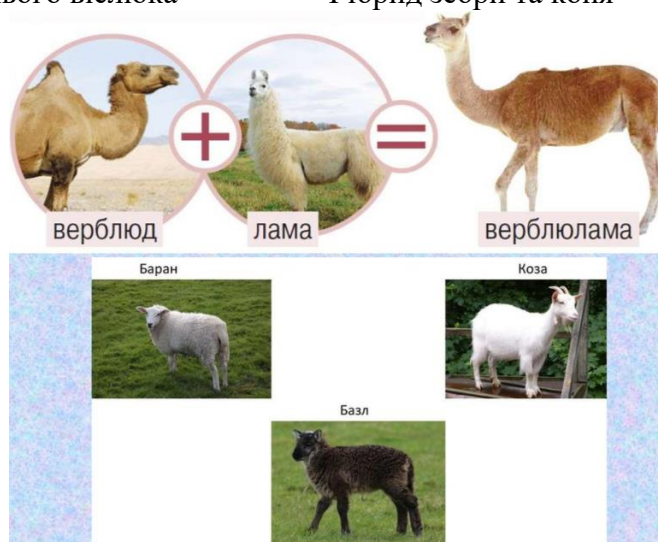
Ослиці та жеребці є більш розбірливими у партнерах, ніж кобил та осли. Тому часто відмовляються спарюватись.



Гібрид зебри та домашнього віслюка



Гібрид зебри та коня



7. Племінний добір лабораторних тварин.

Для того, щоб підвищити корисні якості лабораторних тварин (плодовитість, міцну конституцію, підвищену стійкість до захворювань тощо), необхідно проводити відповідний племінний добір. На плем'я відбирають найкращих тварин.

Методи штучного добору:

- 1) Методичний (системний). Застосовується більше у великому тваринництві. Для цього розробляється методика селекції, встановлюється бажаний тип тварини та у ряді поколінь відбирають тварин, що найбільше відповідають цьому типу. він застосовується більше при створенні нових порід тварин
- 2) Безсистемний. Застосовується у лабораторному тваринництві. Без усякої методики відбирають на плем'я більш цінних тварин, а менш цінних реалізують.

3) Індивідуальний. Відбирають тварин за їх індивідуальним племінним та продуктивним якість і за потомством, тобто за якістю їх приплоду.

4) Масовий. Відбирають тварин за якоюсь ознакою, наприклад, за екстер'єром. Для відбору лабораторних тварин на плем'я необхідно проводити їх бонітування.

Бонітування – якісна оцінка придатності тварин для племінної роботи за комплексом ознак: за екстер'єром і конституцією (статура, розвиток), продуктивністю, походженням, за здатністю передавати своїм нащадкам цінні якості. Бонітування проводять один раз на рік (з вересня по грудень) відносно тільки здорових тварин. Усіх хворих тварин видаляють із стада. Перед бонітуванням усі тварини потрібно помітити.

В результаті великих тварин ділять на 4-5 класів, а мілких (лабораторних) на 3 класи – I, II, III.

Тварин I класу беруть на плем'я у першу чергу, а інших – в експеримент.

Для всіх тварин – необхідний огляд з лівого та правого боку, спереду, зверху, знизу (щоб було видно статеві органи та кінцівки), на терезах (щоб було чітко видна вага). Для тварин, у яких є специфічні параметри (прикус, довгий хвіст тощо), необхідно зробити додатковий огляд.

Приклади:



БОНІТУВАННЯ КРОЛИКІВ

Бонітування проводять щорічно, зазвичай у листопаді, грудні. На племінних фермах бонітування підлягає; всі самці та кролиці основного стада, разові (перевірені) кролиці та весь молодняк селекційної групи, який оцінюють у віці трьох місяців і при залишенні на плем'я у листопаді-грудні, а також молодняк, що реалізується на плем'я в інші господарства.

На товарних фермах бонітують всіх самців племінного ядра основного стада, ремонтний молодняк при відборі у віці трьох місяців і залишенні на плем'я в листопаді-грудні.

Бонітування проводять зоотехніки за участю ветеринарних працівників, а також завідувачі ферм або бригадирів.

При бонітуванні враховують: у ремонтного молодняка у віці трьох місяців і при продажу на плем'я молодняка у віці двох місяців і старше породність, живу масу, статуру, густоту волосяного покриву (по опушеності лап), у звірів основного стада породність, живу масу, статуру, густоту та зрівняність волосяного покриву (м'ясо-шкуркові та м'ясні породи), пухову продуктивність (пухові породи), забарвлення волосяного покриву (м'ясо-шкуркові породи).

З бонітування звірів поділяють на класи: еліта, I, II, III.

Породність встановлюють виходячи з відповідних зоотехнічних документів. До чистопородних відносять кроликів, що походять від батьків однієї породи, а також помісей (починаючи з IV покоління), отриманих шляхом поглинального схрещування, при добре вираженому для цієї породи типі тварин.

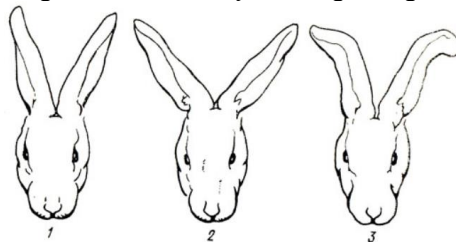
Деякі приклади бонітування кроликів:

Жива маса. Її встановлюють шляхом індивідуального зважування з точністю до 100 г.

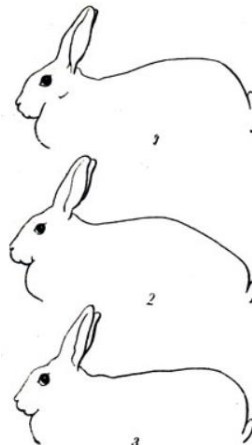
Мінімальні вимоги до живої маси кроликів м'ясних порід (кг):

Вік (місяць)	Клас	Біла новозеланська	Вік (місяць)	Клас	Біла новозеланська
2	Еліта	1,8	5	Еліта	3,7
	I	1,6		I	3,2
	II	1,5		II	2,8
	III	1,3		III	2,3
3	Еліта	2,6	6	Еліта	4,0
	I	2,3		I	3,5
	II	2,1		II	3,1
	III	1,8		III	2,5
4	Еліта	3,2	7 і більше	Еліта	Від 4,0 до 5,0
	I	2,8		I	Від 3,5 до 3,9
	II	2,5		II	Від 3,0 до 3,4
	III	2,1		III	Менше 3,0 і більше 5,0

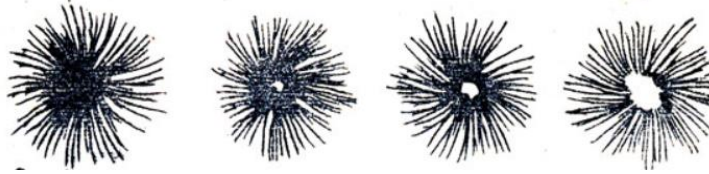
Постановка вух у кроликів: 1 – нормальна; 2 - вуха широко розставлені; 3 - свислі вуха:



Недоліки спини та крупа: 1 – горбата спина; 2 - свислий круп; 3 - обрубаний круп:



Визначення густоти хутряного покриву розеточним методом:



Дуже густий густий менш густий рідкий

Племінний добір повинний здійснюватися за принципом однорідності: «гарне з гарним дає гарне». Тобто до найкращих самиць необхідно підбирати для спаровування найкращих самців. Відомо, що один й той самий самець з одними самицями дає гарний приплод, а з іншими – значно гірший.

У селекційній кімнаті самки утримуються по одній у клітці. На клітці є трафаретка, на якій вказаний номер самки, дати народження й окотів, кількість народжених та віднятих дитинчат. Спаровування проводять у клітці самця, куди по черзі підсаджують самиць. Після спаровування самку відсаджують в її клітку. Потім молодняк після віднімання відсаджують та сортирують на дві групи. **У першу групу** відбирають тварин, які підуть у селекційну та племінні кімнати. Сюди відбирають молодняк 2-4 окотів і виключно від самиць, що дали приплід 9-10 голів і повністю їх викормили. **У другу групу** йде приплід від самиць із меншою плодови́тістю і збереженням молодняка менше 100 %. Тварин другої групи використовують на реалізацію. Відібраний молодняк розсаджують за статтю на дорощування.

8. Використання тварин в експериментах

Тварини інбредних ліній є ефективним інструментом для медичних і біологічних досліджень. Відбір тієї чи іншої лінії ґрунтується на інформації про генетичні і біологічні особливості кожної лінії, а також визначається метою і характером самого дослідження.

Медико-біологічні експерименти з використанням тварин можна розділити на наступні основні групи:

1. Експерименти, в яких лабораторні тварини слугують інструментом вимірювання будь-яких речовин, препаратів і т.д. (вакцин, сироваток і гормональних препаратів). Для подібних дослідів генотип неістотний, тому для «біопроби» можна використовувати гібриди лінійних тварин і навіть нелінійних.
2. Моделювання патологічних станів (онкологічні дослідження, вивчення процесів запалення, імунітету). Для цих експериментів істотно, наскільки велика роль генетичних факторів у розвитку досліджуваного стану. Якщо роль досить велика (як, наприклад, у виникненні злоякісних пухлин), то їх можна проводити тільки на певних лініях. Якщо вони безпосередньо залежать від генетичних факторів - різні людські хвороби, то для їх вивчення придатні тільки аналогічні мутантні форми мишей.
3. Дослідження впливу різних речовин і факторів зовнішнього середовища, коли вивчається реакція живою організму на ці дії і в кінці дослідження можлива постановка питання про екстраполяцію на людську популяцію. Для подібних досліджень обмежитися вибором однієї лінії або гібридної комбінації можна тільки в тому випадку, коли роль генетичних факторів у досліджуваному процесі дуже мала. Іноді вибір ліній полегшується тим, що по досліджуваному питанню є інформація, що входить в характеристику лінії.