

Лекція № 11

Тема: Правила проведення робіт з використанням лабораторних тварин

План:

1. Використання тварин в експериментах
2. Критерії відбору лабораторних тварин для медико-біологічного моделювання.
3. Відбір і підготовка тварин до експерименту
4. Порядок проведення процедур на тваринах

1. 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.

2. Критерії відбору лабораторних тварин для медико-біологічного моделювання

2.1 Видовий критерій. Вибір представників певного виду лабораторних тварин диктується перш за все морфо функціональними особливостями, які дають у максимально короткий строк і з граничною точністю побудувати модель біологічного процесу, захворювання тощо. Історія використання лабораторних тварин привела до того, що майже для кожного напрямку медико-біологічних досліджень підбір виду став традиційним. Проте є тенденція до розширення застосування зоооб'єктів. Як правило, залучання нових видів у якості лабораторних об'єктів обґрунтовано можливістю отримати модель, більш адекватну явищу, що вивчається, ніж система з традиційними тваринами.

Наприклад: Є спроба моделювання захворювання лепри на броненосці. На відміну від інших лабораторних тварин у броненосця низька температура тіла та шкіри і більша тривалість життя, що створює більш сприятливі умови для розвитку збудника та вивчення прогресуючих форм захворювання.

2.2 Віковий критерій. В процесі індивідуального зростання в різних екологічних умовах тварини відчувають вплив багатьох факторів, які приводять до того, що в одному і тому ж віці їх вага варіює у широких межах. До цих факторів належать генотип і стать, кліматичні умови, мікроклімат у приміщеннях, частота переробки і сортування тварин протягом доби, неоднорідність і якість харчування.

Наприклад: вага щурів у 2-місячному віці, які отримували гранульовані корма, була у самиць у середньому 137 г, у самців – 179 г, тоді як молодняк того ж віку на звичайній дієті із зерносуміші важив відповідно 86 та 91 г. Таким чином одна й та ж вага тварин може не відповідати їх віку з відхиленням на 30 діб. Для таких швидкозростаючих видів, як лабораторні гризуни, ця різниця дуже суттєва. Тому треба краще враховувати вік тварин. Вага є лише частковою та достатньо змінною ознакою, проте повинна враховуватися тоді коли це необхідно за умовами експерименту.

2.3 Критерій генотипу:

2.4 Мікробіологічний статус

3. Вибір і підготовка тварин до експерименту

Важливим значенням при виконанні експерименту є методика його постановки, тобто правильний вибір тварини, форма здійснення експерименту (гострий або хронічний дослід), використання відповідних приборів, інструментарію та правильна організація контрольних дослідів.

Вибір тварин має виключно важливе значення для успішного вивчення закономірностей розвитку патологічних процесів. Наприклад, експериментальні виразки шлунку потрібно викликати у щурів, а не в кроликів, оскільки в останніх часто спостерігаються спонтанні виразки шлунку. Інфекційні процеси не слід вивчати на щурах – вони стійкі до інфекцій (краще вивчати на кроликах, мишах). Алергію, анафілактичний шок краще моделювати на морських свинках, неврози – на собаках, пухлинний процес – на лінійних мишах.

Окрім виду тварин та методу дослідження, важливе значення має вид наркозу, вибір приборів та відповідного інструментарію. Наприклад, обмінні процеси вивчають з використанням спектрофотометра, флюориметра, хроматографа, тощо. Структуру вивчають за допомогою світлових та електронних мікроскопів. Функції – за допомогою електроенцефалографа, електрокардіографа, тощо.

Паралельно ставляться контрольні експерименти, які повинні відрізнятися від дослідів лише однією умовою. Якщо експеримент відрізняється від дослідів за двома та більше умовами, то експеримент брудний.

В експерименті, на відміну від спостереження, намагаються відтворити патологічні процеси, синдроми, хвороби; створюють особливі умови; вивчають причини та наслідки, патогенез; посилюють одні функції та послабляють інші; апробують нові лікарські препарати. Експериментальне моделювання патологічних процесів у тварин залишається могутньою зброєю для з'ясування закономірностей виникнення, розвитку та результату хвороб у людини. Результати експерименту – засіб для більш глибокого аналізу

механізмів розвитку хвороб у людини.

Для проведення експериментів слід відбирати здорових тварин однієї статі і віку з однаковою масою тіла. Відступ від цього правила можливий у випадку, якщо використання різностатевих, різновікових тварин чи тварин, що різняться за іншими ознаками входить у завдання експерименту. Для зменшення статистичного розкиду експериментальних даних бажано використовувати тварин чистих ліній, вільних від патогенної мікрофлори. Вид тварини повинен бути адекватний цілям експерименту. Кількість тварин має бути мінімальною, але достатньою для отримання достовірних результатів.

У період підготовки до експерименту і після його закінчення тварини повинні утримуватися в стандартних умовах віварію і отримувати харчування відповідно до встановлених норм.

Транспортування експериментальних тварин повинно здійснюватися з використанням спеціальних контейнерів і дотриманням нормальних умов існування і годування тварин.

Якщо тварини погано переносять умови тривалого транспортування слід визначити проміжні пункти транспортування, на яких тварини могли б відпочити і адаптуватися до нових кліматичних або інших умов навколишнього середовища. Після завершення транспортування тваринам необхідний період адаптації.

4. Порядок проведення процедур на тварин.

Всі процедури на тваринах проводяться суворо відповідно до вимог, викладених в «Правилах проведення робіт з використанням експериментальних тварин за № 755 від 12.08.1977»).

Премедикація тварин проводиться відповідальним виконавцем експерименту або під його наглядом. Якщо тварина злякана або наркоз ще не подіяв, необхідно почекати, поки тварина заспокоїться або засне.

Фіксувати тварину слід тільки після того, як подіє наркоз.

При іммобілізації бадьорих тварин дозволяється прив'язувати їх до дошки тільки на нетривалий час. Пов'язки на кінцівках прив'язаної тварини повинні бути м'якими і не порушувати кровообіг.

Експериментальні втручання, в тому числі і хірургічні операції, слід виконувати із застосуванням седативних, аналгетичних та наркологічних препаратів відповідно до норм, прийнятих у ветеринарній практиці. Не можна проводити хірургічні операції і інші хворобливі процедури на знерухомлених за допомогою міорелаксантів тваринах, які не отримали наркозу. Після подачі тварині наркозу необхідний постійний контроль за його рівнем і при перших ознаках ослаблення наркозу він повинен бути поглиблений. (Доза і час введення наркотичних речовин фіксується в журналі експерименту).

При проведенні експериментів і процедур з підвищеним ризиком нанесення тварині хворобливих подразнень обов'язкова присутність ветеринара чи відповідального виконавця і контроль з їхнього боку за адекватним знеболенням.

Тварини можуть зазнавати тільки однієї серйозної операції, якщо повторне оперативне втручання не передбачено переконливо обґрунтованими завданнями експерименту. Повторне використання тварин допускається тільки в особливих випадках з дозволу Комісії з біоетики.

Умови утримання та харчування тварин під час експерименту визначаються цілями останнього, але не повинні завдавати тварині біль і страждання.

Великі експериментальні тварини повинні мати індивідуальну експериментальну карту, в якій відбиваються всі маніпуляції по ходу експерименту аж до його завершення. Карта зберігається протягом 1 року після опублікування статті або подання звіту. У разі не передбаченої експериментом загибелі тварини воно підлягає патологоанатомічному розтину в присутності відповідального виконавця, ветеринара і незалежного експерта.

У післяопераційному періоді тварина повинна отримувати кваліфікований догляд і ветеринарну допомогу. Тварина, що опинилося після експерименту нежиттєздатною або зазнає фізичні страждання, що не піддаються усуненню, повинна бути своєчасно піддана евтаназії.