

**Государственное образовательное учреждение  
«Приднестровский государственный университет им. Т. Г. Шевченко»  
Естественно-географический факультет  
Кафедра физиологии и санокреатологии**

**Л.А. Листопадова**

**Лабораторные животные (крысы) при проведении  
практикума по физиологии и НИР**

Тирасполь, 2025

Лабораторные животные (крысы) при проведении практикума по физиологии и НИР / Листопадова Л.А. -Тирасполь: ПГУ им. Т.Г. Шевченко, 2025. - 80 с.

учебно-практическое пособие подготовлено в соответствии с требованиями учебной программы дисциплины «Практика по профилю профессиональной деятельности» для студентов биологов. Учебно-методическое пособие содержит основные сведения о правилах содержания, ухода, а также проведения экспериментов на лабораторных животных.

Учебно-методическое пособие **Лабораторные животные (крысы) при проведении практикума по физиологии и НИР** может быть использовано обучающимися при подготовке бакалаврских и магистерских выпускных работ, а также аспирантами и всеми, кто использует в своих научных исследованиях лабораторных теплокровных животных (крыс).

**Рецензенты:**

доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующий виварием Института физиологии и санокреатологии Молдавского государственного университета Ф.А. Струтинский

доктор биологических наук, заведующий, профессор кафедры физиологии и санокреатологии естественно-географического факультета Приднестровского государственного университета им. Т.Г. Шевченко В.А. Шептицкий

Рекомендовано к изданию Научно-методическим Советом ПГУ им. Т.Г. Шевченко от 19 марта 2025 г. №7

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	5
<b>1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ (КРЫС)</b>	7
1.1. Общие биологические и физиологические данные	7
1.2. Области применения крыс в исследованиях	8
1.3. Классификация лабораторных животных в зависимости от генетического фона	8
1.4. Известные линии крыс	9
1.5. Ключевые моменты в развитии лабораторной крысы	14
1.6. Эстральный цикл самок крыс	16
1.7. Поведение и здоровье крыс	21
<b>2. ЗАКОНОДАТЕЛЬНЫЕ НОРМЫ ПРИМЕНЕНИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ (БИОЭТИКА)</b>	22
2.1. Национальные и международные законы	22
2.2. Стандарт GLP	23
2.3. Концепция 3R	24
<b>3. ПРАВИЛА СОДЕРЖАНИЯ ТЕПЛОКРОВНЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ (КРЫС)</b>	25
3.1. Требования к показателям микроклимата в помещении для лабораторных животных (крыс)	25
3.2. Требования к размещению лабораторных крыс	25
3.3. Требования к кормлению лабораторных крыс	26
3.4. Размножение лабораторных крыс	28
<b>4. ПЛАНИРОВАНИЕ И ПРОВЕДЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТА</b>	33
4.1. Выбор животных	33
4.2. Формирование групп животных для исследования	33
4.3. Методы индивидуальной идентификации животных.	37
4.4. Определение массы тела лабораторных животных	38
4.5. Взятие грызунов в руки и перенос из клетки	39
4.6. Фиксация животных	40
4.7. Техника выполнения инъекций крысам	46
4.8. Орогастральное зондирование	52
4.9. Анестезия	55
4.10. Взятие крови	61
<b>5. МЕТОДОЛОГИЯ ХИРУРГИЧЕСКИХ ОПЕРАЦИЙ НА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ</b>	70
5.1. Этапы подготовки к любому виду хирургических операций	70
5.2. Техника проведения хирургических операций	71
5.3. Техника наложения швов	72
5.4. Послеоперационный уход за животными	73

<b>6. НАБЛЮДЕНИЕ ЗА ЖИВОТНЫМИ ВО ВРЕМЯ ЭКСПЕРИМЕНТА</b>	<b>76</b>
<b>6.1. Диагностика болевых синдромов</b>	<b>76</b>
<b>6.2. Предотвращение чрезмерного дистресса у экспериментальных животных</b>	<b>78</b>
<b>6.3. Техника получения биологического материала путем эвтаназии</b>	<b>79</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ 1. Биологические характеристики крысы, зоотехнические параметры, параметры микроклимата, физиологические и биохимические показатели лабораторных животных (крыс)</b>	<b>82</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ</b>	<b>84</b>

## **ВВЕДЕНИЕ**

Лабораторные животные занимают важнейшее место в научных исследованиях, охватывающих широкий спектр дисциплин, от медицины до биологии. Они служат незаменимым инструментом для изучения физиологических процессов, разработки и тестирования медицинских препаратов, а также для моделирования различных патологических состояний. Одним из наиболее широко используемых объектов в экспериментальной физиологии является лабораторная крыса. Этот вид стал стандартом в научных исследованиях благодаря своим уникальным биологическим и физиологическим характеристикам, а также высокой воспроизводимости результатов экспериментов.

Для кафедры физиологии и санокреатодогии лабораторные крысы представляют собой не только объект изучения физиологических и биохимических процессов, но и ключевое средство для тестирования гипотез в различных областях медицины и биологии. На их основе тестируются фармацевтические препараты, изучается влияние внешних факторов на здоровье и развитие.

Кроме того, крысы являются важным объектом для изучения основ физиологии, так как их организмы по многим аспектам схожи с человеческим. Это позволяет проводить сравнительные исследования, углубляясь в механизмы различных физиологических. В рамках кафедры физиологии человека и животных использование лабораторных крыс способствует более глубокому пониманию процессов жизнедеятельности как у животных, так и у человека.

Данное пособие ориентировано на студентов и преподавателей кафедры физиологии и санокреатодогии и призвано стать практическим руководством для работы с лабораторными крысами в условиях научных исследований. В нем будут рассмотрены основные биологические, физиологические и зоотехнические параметры лабораторных крыс, а также требования, предъявляемые к условиям их содержания, ухода и эксплуатации в научных

целях. Мы также уделим внимание этическим аспектам работы с животными, что является важной частью научной деятельности, направленной на улучшение качества жизни и развитие медицины.

# **1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ (КРЫС)**

## **1.1. Общие биологические и физиологические данные:**

- Обыкновенная лабораторная крыса, *Rattus norvegicus*, принадлежащие к роду *Rattus* и семейству *Muridae* (мышиные), выведена из серой крысы.
- Наиболее активны ночью (ночные животные)
- Любопытное и исследовательское поведение
- Плохое зрение, острое чувство слуха и обоняния, особенно чувствительны к ультразвуку
- Социальные животные
- Температура тела: 37°C
- Частота дыхания: 75-115 вдохов/мин
- Частота сердечных сокращений: 260-400 ударов/мин
- Суточное потребление воды: 10-12 мл/100 г массы тела
- Суточное потребление пищи: 10 г/100 г массы тела
- Эстральный цикл: 4-5 дней
- Продолжительность эструса: 12 часов
- Размер помета: 6-12
- Беременность: 20-22 дня
- Вес при рождении: 5 г
- Возраст отлучения от груди: 21 день
- Половая зрелость: 7 недель
- Период размножения: 12-16 месяцев
- Вес взрослого самца: 450-550 г
- Вес взрослой самки: 250-300 г
- Продолжительность жизни: 2,5-3,5 года

Крысы являются идеальным экспериментальным животным по некоторым причинам:

- схожесть с человеческим организмом,
- обилие опубликованной литературы, посвященной им,
- легкость обращения,
- высокая плодовитость,
- короткий период беременности,
- низкие требования к содержанию,
- хорошая модель болезни для различных заболеваний и расстройств человека.

Во многом схожи с мышами, но более крупных размеров, что требует особой осторожности при работе с ними.

### **1.2. Области применения крыс в исследованиях:**

Крысы — это универсальные модели для самых разных видов исследований. Они часто применяются для изучения различных физиологических процессов, для изучения кардиоваскулярной, дыхательной, пищеварительной, нервной и др. систем, для моделирования различных заболеваний. Их использование в научных экспериментах позволяет получать важную информацию, необходимую для разработки новых методов лечения заболеваний, а также для оценки безопасности и эффективности различных химических веществ и медикаментов.

### **1.3. Классификация лабораторных животных в зависимости от генетического фона:**

*Инбредные или линейные животные:* получают искусственно путем братско-сестринских скрещиваний на протяжении >20 поколений. 100% гомозиготность, максимальная гомогенность данных.

*Аутбредные или нелинейные.* Для разведения требуется большое количество животных, процент инбридинга не более 1%. Характеризуются понятием «сток». Дают максимальное разнообразие.

*Генномодифицированные (биомодели): нокауты, трансгены, нокдауны и тд.*

#### **1.4. Известные линии крыс**

Для того, чтобы удовлетворить специфические потребности в научных исследованиях были выведены различные линии лабораторных крыс. Каждая линия крыс обладает уникальными генетическими, физиологическими и поведенческими характеристиками, которые делают их более подходящими для определённых типов экспериментов. Создание и поддержание этих линий имеет важное значение для обеспечения воспроизводимости исследований, точности результатов и улучшения понимания механизмов различных биологических процессов.

*Wister - лабораторные крысы-аутбреды (Вистар),* также известные как крысы дикого типа, имеют белый окрас с красными глазами (альбиносы), является одной из самых популярных и универсальных моделей в научных исследованиях. Характеризуются высоким уровнем генетического разнообразия, что важно для того, чтобы результаты исследований были более репрезентативными и приближенными к реальной популяции. Аутбредность также позволяет минимизировать наследственные заболевания, которые могут возникать в случае инбридинга (близкородственного скрещивания). Характеризуются устойчивым здоровьем, хорошей репродуктивной способностью и спокойным, послушным поведением, что делает их удобными для работы в лабораторных условиях. Они также обладают высокой адаптивностью к различным условиям содержания и экспериментов. Это крысы среднего размера, с хорошо развитой мышечной массой, что также делает их удобными для различных экспериментов, включая физиологические исследования и тестирование медицинских препаратов. Ее используют в самых разных областях, включая физиологию, токсикологию, фармакологию, медицинские исследования и поведенческие эксперименты (Рис.1).



**Рис.1.** Лабораторная аутбредная крыса дикого типа, Wister

*Sprague-Dawley* (*Sprague-Dawley*, или *SD*) альбиносы, аутбреднговая линий лабораторных крыс. Активно используются в научных исследованиях. Крысы имеют большой размер, спокойный и неагрессивный характер, высокую плодовитость и быстрое время от рождения до половой зрелости, характеризуются хорошим состоянием здоровья и долгим сроком жизни (обычно до 2-3 лет). Крысы применяются для тестирования химических веществ, лекарств, изучения их побочных эффектов, оценки фармакокинетики и фармакодинамики, для создания моделей различных заболеваний, исследования старения и возрастных заболеваний, исследования питания и метаболизма, в экспериментах по трансплантации органов и клеточной терапии, являются важной моделью для изучения поведения, когнитивных функций, нейропластиности (Рис.2.).



**Рис.2.** Лабораторная крыса: Sprague-Dawley

*Rowett (с SCID), Fuzzy, Shorn* — это линия иммунодефицитных крыс, с врождённым дефектом в области иммунной системы. Эти крысы часто используются для тестирования новых антибиотиков, вакцин и противовирусных препаратов, в исследованиях, связанных с трансплантацией органов, для изучения методов генной терапии, трансплантации стволовых клеток и воздействия новых терапевтических подходов на клетки (Рис.3.).



**Рис.3.** Лабораторная крыса иммунодефицитная: Rowett, Fuzzy, Shorn

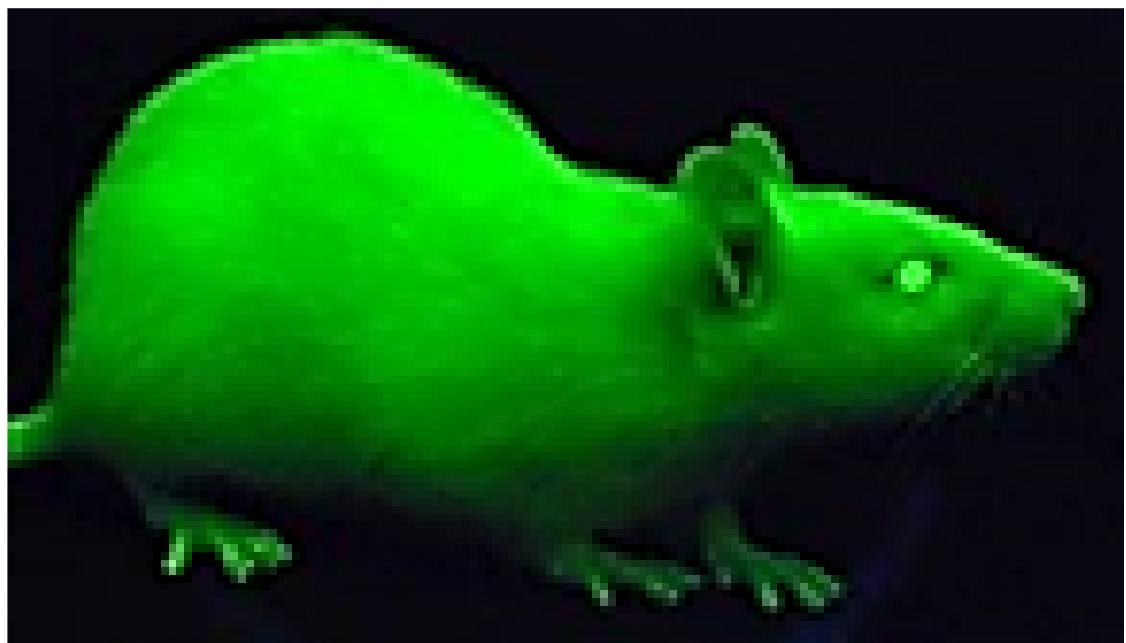
*Zucker* линия крыс, имеющих мутацию в гене *fa*, который регулирует чувство насыщения и метаболизм жиров. Крысы Zucker делятся на два типа: с

дефектным геном - у них развивается ожирение и с нормальным геном (контроль) - ожирение не развивается. Эти крысы широко используемы для исследования ожирения, метаболических заболеваний, а также связанных с ними нарушений, таких как диабет, гиперлипидемия и сердечно-сосудистые заболевания. Крысы Zucker обладают метаболическими характеристиками, схожими с человеческими, такими как инсулинерезистентность, что делает их идеальными моделями для тестирования новых методов лечения ожирения, диабета и других сопутствующих заболеваний (Рис.4.).



**Рис.4.** Лабораторная крыса с ожирением: Zucker

*Wistar GFP* - это специализированная трансгенная модель лабораторной крысы, которая была генетически модифицирована для экспрессии зелёного флуоресцентного белка (GFP). GFP является белком, который обладает уникальной способностью светиться зелёным цветом при воздействии ультрафиолетового или синего света. Эти крысы используются для широкого спектра биомедицинских и генетических исследований, так как GFP позволяет отслеживать клеточные процессы, визуализировать живые ткани и мониторить различные биологические процессы в реальном времени (Рис.5.).



**Рис.5.** Лабораторная крыса трансгенная со специальными свойствами: Wistar GFP.

*BB/Wor* — это инсулинрезистентная линия лабораторных крыс, используемая для исследования метаболических расстройств и диабета 2 типа, для изучения патофизиологии заболевания и поиска новых методов лечения.

*Lewis* — это один из типов лабораторных крыс, которые обладают определенными генетическими характеристиками, подходящими для моделирования рака. Крысы этого типа имеют склонность к развитию различных опухолей, особенно при введении канцерогенов или других внешних факторов. Они часто используются для изучения механизма канцерогенеза, а также для тестирования новых противоопухолевых препаратов и терапии.

*Нокаутные крысы* — это особая группа лабораторных животных, у которых определённый ген был искусственно выведен из функции (нокаутирован). Этот подход позволяет учёным исследовать роль конкретных генов в различных биологических процессах, таких как развитие заболеваний,

метаболизм, поведение, иммунитет и др. Создание нокаутных крыс является важным инструментом для биологии, генетики и медицины.

## **1.5. Ключевые моменты в развитии лабораторной крысы**

Развитие лабораторной крысы включают несколько стадий, которые охватывают весь жизненный цикл животного — от рождения до взрослой особи. Каждый этап в развитии крысы имеет свою специфику, которая важна как для понимания биологии животного, так и для применения в научных исследованиях. Вот основные этапы:

### *1. Рождение и неонатальный период (первые 10–14 дней)*

Новорожденный: слепые, глухие и без шерсти, вес 6-8 г., полная зависимость от матери, получают питание через сосание молока.

В первые недели жизни крысы активно растут. Развиваются основные органы и системы.

На 2-й день появляется пигментация.

На 3-й день на теле слегка заметный пушок, начинают ползать.

На 4-й день появляются первые признаки шерсти.

На 7-й день появляется короткая шерстка и усы, приоткрываются глаза.

На 10-й день открываются глаза.

### *2. Период ювенильного роста (2–4 недели)*

В этот период крысы начинают проявлять большую активность, начинают исследовать окружающую среду.

На 2-й неделе начинают развиваться зубы, у всех открываются глаза.

На 3-й неделе начинают есть твердую пищу, активируется поведение, связанное с социальной иерархией (например, доминирование среди сиблиングов).

На 4-й неделе перестают пить материнское молоко.

В возрасте 3–4 недель крысы становятся более независимыми от матери и начинают вести более активный образ жизни.

На 6-й неделе можно отсаживать в отдельную клетку.

### *3. Половозрелость (приблизительно 6–8 недель)*

В возрасте около 6 недель крысы достигают половой зрелости. В этот момент они начинают проявлять половое поведение, и самцы начинают демонстрировать свою территориальность.

Самки становятся способными к размножению в возрасте около 6 недель, а самцы — немного позже.

### *4. Взрослая особь (около 3 месяцев)*

После достижения половой зрелости крысы становятся полностью развитыми как физически, так и поведенчески.

В это время крысы достигают своей максимальной массы и длины, и их физиологические функции становятся стабильными.

В возрасте около 3 месяцев крысы начинают полностью взрослеть, с устойчивыми социальными и территориальными привычками.

### *5. Старение (начало после 12 месяцев)*

После 12 месяцев жизни крысы начинают стареть, и это сопровождается замедлением роста, ухудшением состояния здоровья, потерей активности и началом проявления возрастных заболеваний.

На этом этапе важно поддерживать правильное питание и условия для продления жизни животного.

В лабораторных исследованиях крысы часто используются в возрасте от 8 до 12 недель, поскольку это оптимальный период для проведения большинства экспериментов, связанных с физиологией, токсикологией, фармакологией и другими областями.

Развитие крысы можно разделить на этапы, которые сильно влияют на ее физиологические особенности, что важно для научных исследований, где возраст животного может оказывать влияние на результаты экспериментов.

Таким образом, ключевые моменты развития лабораторной крысы включают рождение и неонатальный период, период активного роста и развития, половую зрелость, взросление и старение. Эти этапы важны для правильного обращения с животными в научных исследованиях.

## **1.6. Эстральный цикл самок крыс**

Лабораторные грызуны относятся к полиэстральным животным. Эстральный цикл – период между двумя последующими овуляциями у крыс в среднем продолжается 4-5 суток. В течение этого цикла у крыс происходят заметные и предсказуемые гистологические изменения влагалищных мазков. Этот факт впервые был обнаружен английским исследователем Хиппом на основании морфо-функциональных изменений, происходящих в половом аппарате самки у морских свинок в 1917 году. Было установлено, что только в день эструса в мазках содержится большое количество ороговевших клеток.

На основании морфо-функциональных изменений влагалищных мазков выделяют пять последовательных стадий эстрального цикла:

- проэструс (предтечка),
- эструс (течка),
- метэструс I (послетечка I),
- метэструс II (послетечка II),
- диэструс (стадия покоя).

Спаривание происходит на стадии течки (эструса).

Каждой стадии эстрального цикла соответствует определенный клеточный состав влагалищного мазка (Рис. 6- 9).

*Проэструс* (предтечка, стадия возбуждения) — начало быстрого роста фолликулов.

Мазок почти исключительно состоит из эпителиальных клеток.

Эпителиальные клетки лежат поодиночке или группами.

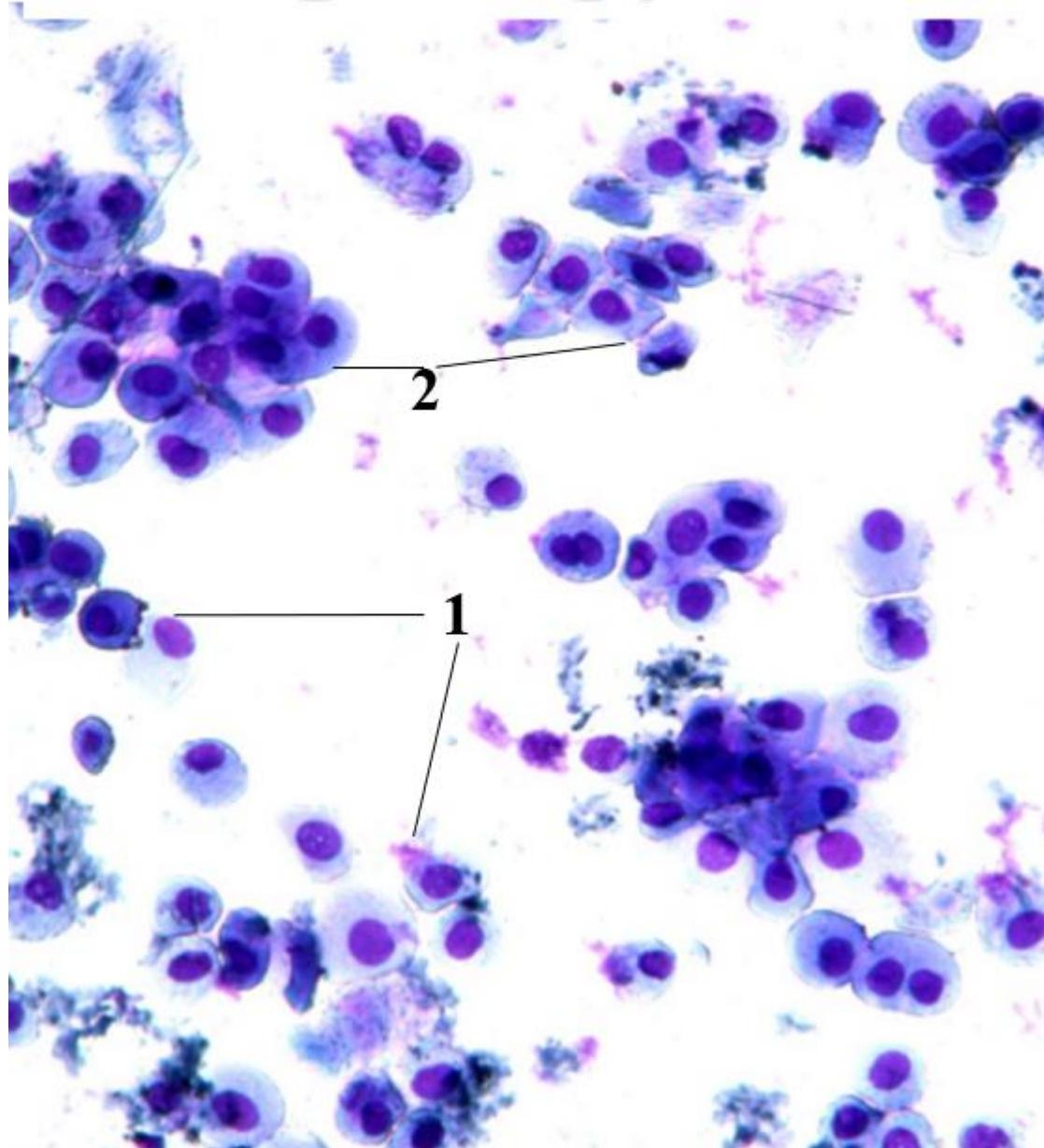
Одиночные клетки – овальной формы.

Расположенные в группах клетки, большой частью угольчатые.

Все эпителиальные клетки содержат ядра - незрелые клетки поверхностного слоя с хорошо выраженным ядрами,

Нейтрофилы отсутствуют. (Рис. 6.).

# Проэструс; 200x



**Рис. 6.** Стадия проэструс: 1 — лейкоциты, 2 — эпителиальные клетки.

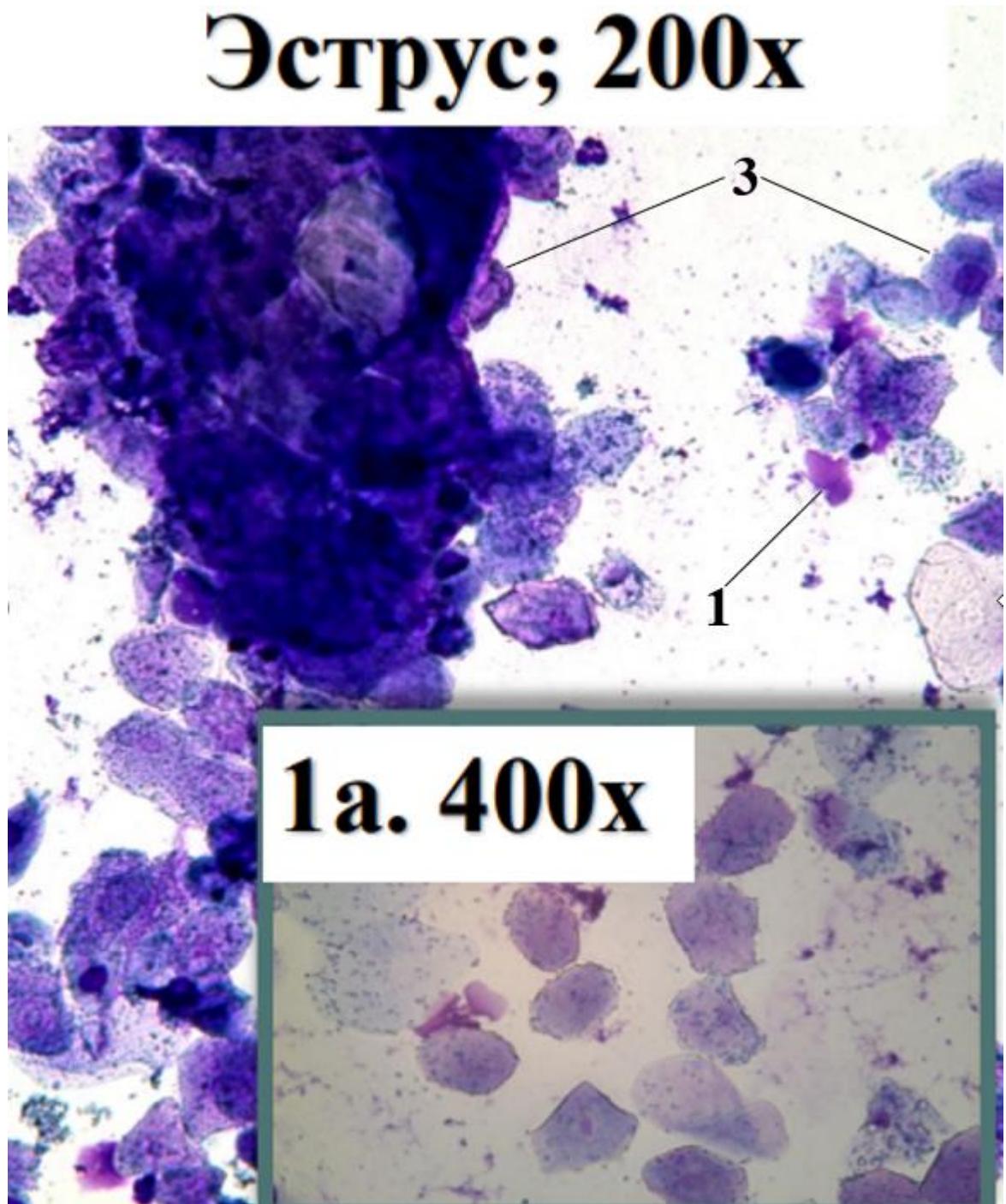
Эструс (*течка*) — стадия полового возбуждения — занимает господствующее положение.

Отмечаются расслабление канала шейки матки и вытекание из него слизи (отсюда название течка).

Завершается рост фолликула и происходит овуляция — его разрыв и выход яйцеклетки.

Животное стремится к спариванию и допускает садку.

Эпителиальные клетки исчезают, в поле зрения находятся только безъядерные кератинизированные клетки поверхностного слоя эпителия (ороговевшие чешуйки), лежащие небольшими группами. Чешуйки имеют угольчатую форму (Рис. 7.).

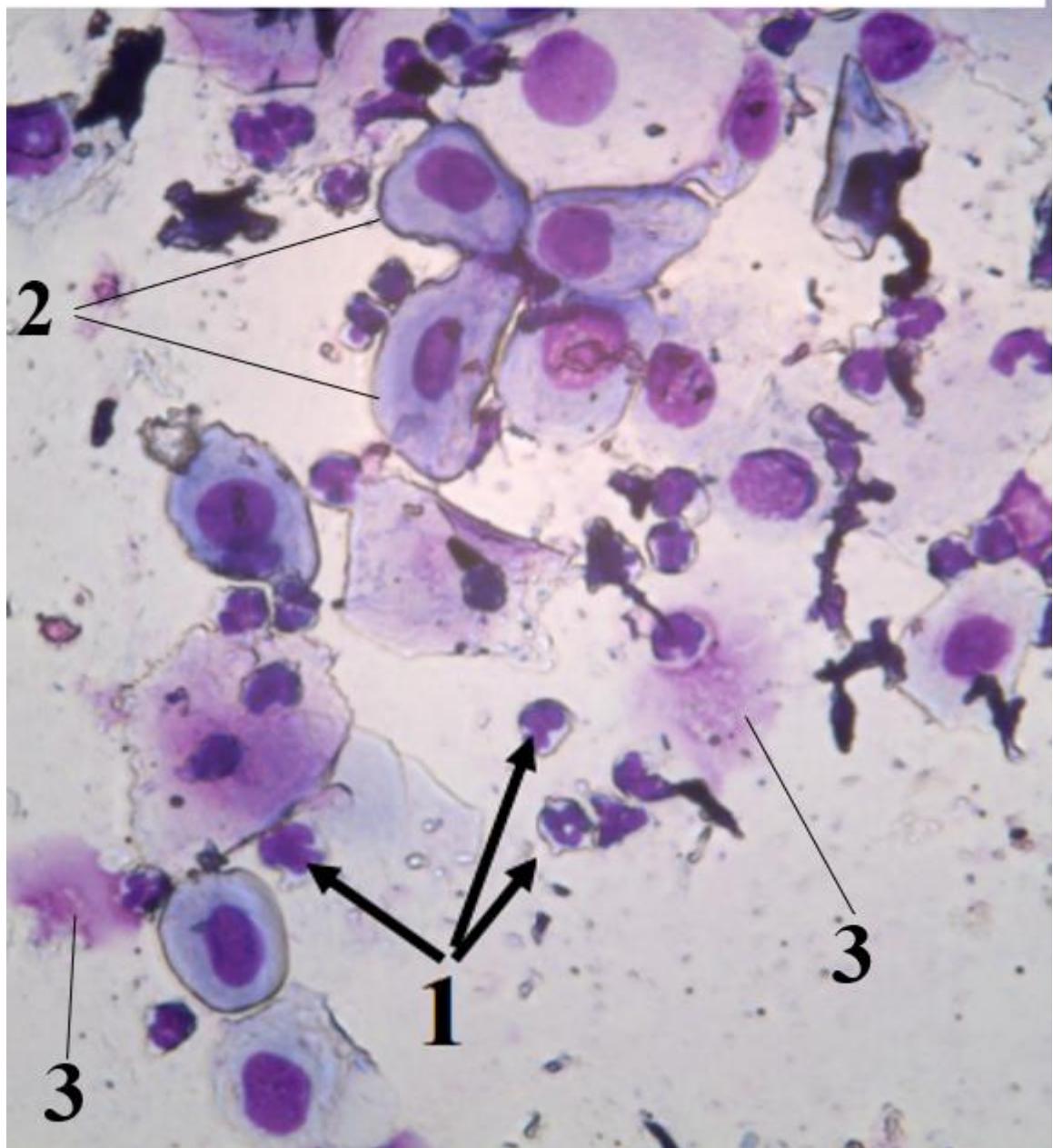


**Рис. 7. Стадия эструс**

1 — лейкоциты, 3 — спущенные безъядерные чешуйки.

*Метэструс* (послетечка, стадия торможения) — эпителиальные клетки вскрывшегося фолликула превращаются в лютениевые, формируется желтое тело.

## Метэструс; 400x



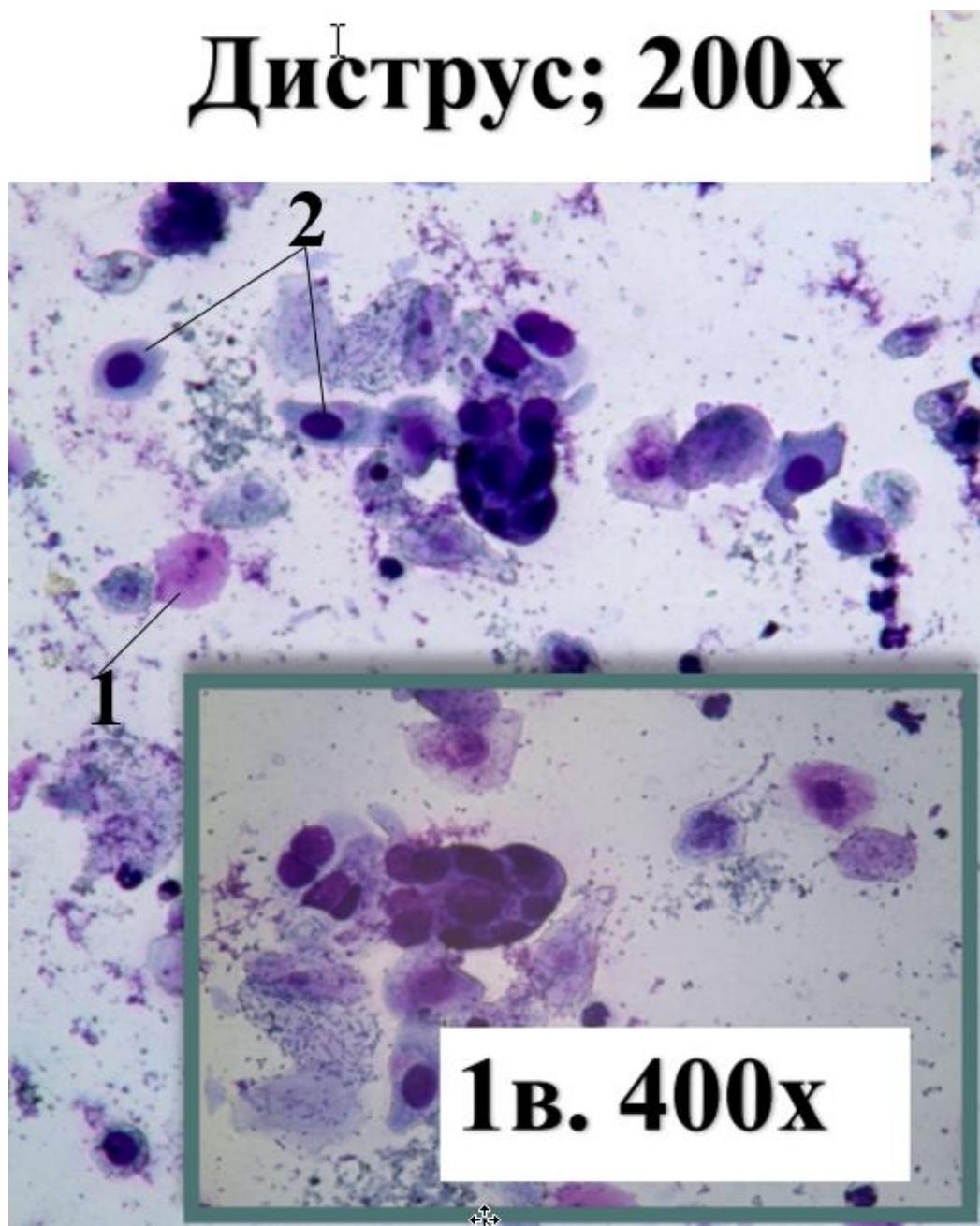
**Рис. 8. Стадия метэструс II**

1 — лейкоциты, 2 — эпителиальные клетки, 3 — спущенные безъядерные чешуйки.

На стадии метэструс I чешуйки образуют беловатые скопления, хорошо заметные на стекле при нанесении мазка (Рис. 8.).

На стадии метэструс II – среди массы ороговевших чешуек появляются лейкоциты и единичные эпителиальные клетки, т. е. могут иметься все три типа клеток. Большое количество нейтрофилов, безъядерные и ядерные клетки эпителия разной степени зрелости.

В конце стадии преобладают лейкоциты и появляется слизь, чешуйки постепенно исчезают.



**Рис. 9.** Стадия диэструс

1 — лейкоциты, 2 — эпителиальные клетки.

*Диэструс, стадия уравновешивания* — период между следующими один за другим циклами. В этот период отмечается доминирование желтого тела.

В поле зрения множество лейкоцитов, единичные эпителиальные клетки, значительное количество слизи (Рис.9).

Иногда за стадией диэструса следует стадия *анэструс* — длительный период полового покоя, в течение которого функция яичников ослаблена. Развитие фолликулов не происходит.

## **1.7. Поведение и здоровье крыс**

Крысы — в целом мирные и любопытные животные, которые хорошо реагируют на спокойное и бережное обращение. Обычно они не проявляют агрессии (за исключением некоторых пород), но могут укусить, если испуганы, что приводит к болезненным укусам.

Крысы — ночные существа. Их активность, включая поедание пищи, питье и спаривание, обычно происходит в темное время суток.

Крысы привыкают к регулярности в своей жизни, и повседневные события, как правило, не вызывают у них стресса или беспокойства. Однако манипуляции и сдерживание могут быть для них стрессовыми и сделать их более сложными в обращении. Привыкание к таким действиям (чтобы крыса не ассоциировала их с неприятными ощущениями) может облегчить работу с животным, снижая уровень стресса как для крысы, так и для исследователя.

## **2. ЗАКОНОДАТЕЛЬНЫЕ НОРМЫ ПРИМЕНЕНИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ (БИОЭТИКА)**

### **2.1. Национальные и международные законы**

Работа с лабораторными животными регламентируется рядом национальных и международных законов, стандартов и этических принципов, которые направлены на обеспечение их благополучия, минимизацию страданий и соблюдение научных и этических норм. Основные документы, которые регулируют работу с лабораторными животными, включают:

*Закон от 11 декабря 2008 г. №594 (САЗ 09-5) «Об утверждении ветеринарно-санитарных правил содержания опытных (лабораторных) животных в вивариях научно-исследовательских институтов, станций, лабораторий, учебных заведениях, питомниках в Приднестровской Молдавской Республике».*

*Федеральный закон "О защите животных" был принят в России 14 марта 2023 года для обеспечения защиты прав животных и установления обязательных норм, касающихся обращения с животными, в том числе в научных, медицинских и других сферах. Закон охватывает все аспекты жизни животных на территории России и направлен на минимизацию их страданий, улучшение условий содержания и обеспечение гуманного обращения с ними.*

*Директива 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях.*

*Декларация Хельсинкского соглашения (2000 г.) — регулирует этические принципы работы с животными в научных исследованиях. Основные принципы включают необходимость минимизации страданий животных и использование методов, которые оправданы научной значимостью.*

*Междуннародные рекомендации по использованию животных (International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals) — эти принципы, разработанные Международной ассоциацией лабораторных*

животных, подчеркивают важность научной значимости экспериментов и обязательное соблюдение этических стандартов.

*Good Laboratory Practice (GLP)* — международный стандарт для обеспечения качества и надежности научных экспериментов, в том числе с участием животных.

*3R принцип (Replacement, Reduction, Refinement)* — принцип, направленный на замещение использования животных (где это возможно), снижение их количества в экспериментах и усовершенствование методов работы с ними, чтобы минимизировать страдания.

## **2.2. Стандарт GLP**

«Good Laboratory Practice» Правильная Лабораторная Практика — система норм, правил и указаний, направленных на обеспечение согласованности и достоверности результатов лабораторных исследований.

Правила GLP включают в себя:

- Требования к организации испытаний;
- Требования к личному составу исследователей;
- Требования к помещениям, в которых проводятся испытания и содержатся животные;
- Требования к качеству животных, к условиям их содержания и кормления;
- Требования к лабораторному оборудованию и его калибровке;
- Требования к испытуемому и контрольному веществу;
- Требования к составлению и проведению подробной стандартной методики экспериментальных работ и к порядку проведения испытаний;
- Требования к регистрации данных и оформлению отчета.

### **2.3. Концепция 3R**

Концепция 3R была впервые представлена в книге У. Рассела и Р. Берча «*The Principles of Humane Experimental Technique*», опубликованной в 1959 году. В ней ученые обосновали необходимость гуманного обращения с животными в экспериментах и предложили свою концепцию 3R, которая включает следующие принципы:

*Replacement (Замещение):* использование альтернативных методов, заменяющих животных в опытах, когда это возможно. Это могут быть менее сложные живые организмы, культуры клеток и тканей, изолированные органы, микроорганизмы, растительные объекты или компьютерные и математические модели.

*Reduction (Снижение):* минимизация количества животных, используемых в исследованиях, при сохранении достоверности результатов. Это достигается за счет адекватного выбора животных, оптимального планирования эксперимента, применения статистических методов, а также обеспечения качественного питания животных для поддержания их здоровья.

*Refinement (Совершенствование):* улучшение условий содержания и ухода за животными, а также применение методов обезболивания, чтобы уменьшить их страдания. Важно, чтобы животные не испытывали боли или стресса в большей степени, чем это может выдержать человек.

Включение этих принципов помогает улучшить этичность научных исследований и снизить жестокость по отношению к животным.

### **3. ПРАВИЛА СОДЕРЖАНИЯ ТЕПЛОКРОВНЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ (КРЫС)**

#### **3.1. Требования к показателям микроклимата в помещении для лабораторных животных (крыс)**

В течение всего года, независимо от наружных климатических условий, в помещениях для лабораторных животных должны поддерживаться на требуемом уровне основные показатели микроклимата. Основные показатели микроклимата должны постоянно контролироваться и при необходимости – корректироваться.

**Таблица 1.** Рекомендуемые параметры микроклимата в помещении для лабораторных животных (крыс)

параметры	колебания	средняя
Температура, °C	18-22	20
Относительная влажность %	50-65	55
Максимально допустимая концентрация в воздухе аммиака, мг/л	0,01	0,01
Максимально допустимая концентрация в воздухе углекислоты, % по объему	0,15	0,15
Кратность воздухообмена (объем в час)	вытяжка 8	приток 10

#### **3.2. Требования к размещению лабораторных крыс**

Лабораторные крысы содержатся в отдельном помещении. Животные размещаются в групповых либо в индивидуальных клетках, предназначенных для содержания грызунов. Размеры клеток должны соответствовать размеру животного и особенностям состояния животного. В одну клетку (даже очень большую) можно помещать не больше 10 крыс (Таблица 2.).

**Таблица 2.** Размеры клеток для содержания крыс:

Минимальная площадь клетки, см <sup>2</sup>	350
Минимальная высота клетки, см	14
Минимальная площадь клетки для матери и потомства, см <sup>2</sup>	800
Минимальная площадь на одну крысу, см <sup>2</sup>	150

Клетки с крысами размещаются на металлических стеллажах, установленных в основном вдоль стен. Лабораторные животные содержатся в клетках со сплошным дном на подстилке или в клетках с сетчатым дном – полом. При содержании животных в клетках с сетчатым дном подстилка насыпается в поддон (противень).

В качестве подстилки применяются древесная стружка или подстилочный наполнитель для туалетов в основном на основе целлюлозы или древесины. Смена подстилки производится минимум один раз в 5-7 дней или по мере необходимости. При смене подстилки клетка обязательно моется и просушивается. Чистая подстилка рассыпается в клетки из расчета 0,5 л на 500 см<sup>2</sup>. Аксессуары клетки (решетка, разделитель для корма, карточкодержатели), стеллажи моются еженедельно.

На каждой клетке прикрепляется этикетка с указанием данных о животных, размещенных в ней (количество, пол (♀, ♂), дата рождения и др.).

Сведения обо всех животных регистрируются в специальном журнале учета поголовья животных. В отдельные графы вводится информация о самках, самцах и молодняке (до 40 дней от рождения). В журнале указывается:

- номер клетки,
- количество животных,
- дата рождения (месяц и год рождения),
- примечание (состояния здоровья, подсадка, участие в эксперименте и др.)

### **3.3. Требования к кормлению лабораторных крыс**

Рацион питания лабораторных крыс должен быть сбалансированным, чтобы удовлетворять их потребности в энергии, белках, углеводах, жирах, витаминах и минералах. Важно учитывать, что питание может варьироваться в зависимости от возраста, состояния здоровья и исследовательских целей.

Лабораторные крысы обычно кормятся специализированными сбалансированными кормами, которые обеспечивают все необходимые

питательные вещества. Это могут быть гранулированные или порошковые корма, разработанные с учетом потребностей животных или набор продуктов, соответствующих общепринятым нормам кормления для теплокровных лабораторных животных (крыс).

Основной корм должен содержать:

- Белки: 18-25% от общей массы корма (важны для роста и восстановления тканей).
- Жиры: 4-6% от массы корма (нужны для энергии и усвоения витаминов).
- Углеводы: 50-60% (основной источник энергии).
- Витамины и минералы: необходимы для нормальной функции организма (например, витамины А, Д, Е, кальций, фосфор).

В рационе питания лабораторных крыс должен быть свежие овощи и фрукты: овощи (морковь, свекла, кабачки и др.) и фрукты (яблоки, бананы), около 10% от общего рациона.

Для молодых или беременных очень важно добавление высококачественного белка, такого как творог, вареное яйцо и нежирное мясо.

Как источник углеводов и клетчатки в рацион должны добавляться зерновые смеси из овса, пшеница и др.

В среднем крыса съедает от 15 до 20 г корма на 100 г массы тела в день, что составляет около 5–10% ее массы тела.

Кормят крыс 1-2 раза в день в зависимости от условий. Обычно крысы едят небольшими порциями в течение дня и ночи, так как они являются ночными животными.

Лабораторным крысам обязательно необходимо обеспечить круглосуточный доступ к свежей и чистой воде. Для этого обычно используются поилки с автоматической подачей воды. Недостаток воды может привести к обезвоживанию, что негативно скажется на здоровье животных.

**Таблица 3.** Норма кормов для теплокровных лабораторных крыс (в граммах на 1 крысу)

наименование кормов	взрослое производственное поголовье суточная норма (г. на крысу)	взрослое производственное поголовье месячная норма (г. на крысу)	молодняк и экспериментальные животные суточная норма (г. на крысу)	молодняк и экспериментальные животные месячная норма (г. на крысу)
Смесь зерновая:				
пшеничка	15	450	5	150
перловка	10	300	5	150
семечки	10	300	5	150
Крупа овсяная (овес)	9	270	4,5	135
Молочные продукты	25	750	10	300
творог	5	150	5	150
молоко	20	600	5	150
Животный белок	10	300	7	210
мяса	5	150	4	120
Яйцо (1шт. -50г.)	5	150	3	90
Корма сочные	20	600	10	300
(морковь, свекла, кабачки, яблоки)	20	600	10	300
Соль поваренная	0,3	9	0,2	6
Жиры	0,5	15	0,2	6
масло раст.	0,4	12	0,1	3
рыбий жир	0,1	3	0,1	3
Мука костная	0,5	15	0,3	9
Зелень	15	450	10	300

### 3.4. Размножение лабораторных крыс

Размножение лабораторных крыс — важный процесс, требующий внимательного подхода для обеспечения здорового потомства, хорошего

состояния здоровья как самок, так и самцов, а также необходимого количества животных для исследовательских целей.

#### *Подбор животных для размножения.*

Оптимальный возраст для начала размножения у самок — 2–6 месяцев, к этому времени самки становятся половозрелыми.

Самцы могут быть использованы для размножения в возрасте около 2–3 месяцев.

Для разведения выбираются здоровые особи с хорошими генетическими характеристиками. Оба родителя должны быть здоровыми, без признаков заболеваний, чтобы предотвратить передачи наследственных или инфекционных заболеваний потомству. Для предотвращения проблем с генетической предрасположенностью или наследственными заболеваниями важно соблюдать генетический контроль при размножении, чтобы избежать инбридинга.

Обычно один самец может быть скрещен с несколькими самками.

#### *Условия содержания на подсадке.*

Для подсадки крыс важно использовать специально оборудованные клетки с достаточным пространством для комфортного проживания. Они должны быть чистыми, хорошо проветриваемыми и легко очищаемыми. Размер клетки должен соответствовать количеству животных, чтобы избежать стресса и агрессии.

Температура в помещении должна поддерживаться в пределах 20–24°C, оптимальная влажность воздуха 40-60%. Необходимо обеспечить 12-часовой цикл освещения и темноты (12 часов света, 12 часов темноты), чтобы поддерживать естественные биоритмы животных.

Крысы на подсадке должны получать сбалансированное питание, соответствующее установленным нормам. Используются кормовые смеси, содержащие все необходимые витамины и минералы.

После того как самка подтверждено забеременела, самца отсаживают, чтобы избежать стресса и вмешательства в развитие беременности. Обычно

самка становится беременной после одного спаривания, и через несколько дней самца следует изолировать. Самца нужно обязательно отсаживать до того, как самка начнет готовиться к родам, так как это может вызвать стресс у матери. Если самец остается в клетке с самкой после рождения, он может проявить агрессию к детенышам, в том числе съесть их.

### *Беременность и роды.*

У крысы беременность длится 21–23 дня (обычно 22 дня).

Беременную самку необходимо обеспечить оптимальными условиями для отдыха и питания. Важно, чтобы в клетке было достаточно места для комфортного размещения.

При подготовке к родам самка крысы проявляет несколько характерных признаков и изменений в поведении, которые помогают определить, что она скоро будет рожать. Самка становится более беспокойной и может искать укромные места в клетке. Она начинает строить гнездо, используя материалы, доступные в клетке (например, подстилку, бумагу или ткань). Это поведение является частью инстинкта подготовки к родам, и самка может тратить много времени на создание уютного и защищенного места для своих будущих детенышей.

Примерно за день или два до родов у самки начинает выделяться молоко (поэтому у неё могут быть видны более полные молочные железы). Это явление является одним из признаков того, что роды близки.

За несколько часов до родов самка становится менее активной. Она может чаще отдыхать и искать спокойное место в клетке. Перед родами самка часто начинает интенсивно лизать свой живот, что может быть частью подготовки к родам и очищения тела.

Беременную самку перед родами необходимо отсадить в отдельную клетку, чтобы обеспечить ей спокойную и тихую среду, минимизируя стресс.

В среднем самка рожает 6–12 детенышей (могут быть как меньшие, так и большие пометы). Крысы рождаются слепыми и безволосыми. В первые дни жизни они сильно зависят от матери.

Самка нуждается в повышенном питании (особенно в белках и витаминах) в период беременности и вскармливания. При недостаточном белковом питании во время вскармливания детеныш самки может испытывать дефицит энергии и питательных веществ, что может привести к ухудшению её здоровья и, в некоторых случаях, к поеданию детенышей.

После рождения самка кормит своих детеныш молоком до 21–25 дней. В это время детеныши начинают постепенно адаптироваться к твердой пище и становятся более активными и в возрасте 3–4 недели их можно отсаживать от матери и пересаживать в отдельные клетки.

Самки не должны размножаться слишком часто. Обычно рекомендуется давать самке период отдыха между пометами, чтобы она успела восстановиться. Оптимальный интервал — 2–3 месяца между пометами.

#### *Разделение полов.*

Как только крысенышам исполнится 4 недели, их нужно отселять по половому признаку, чтобы избежать инбридинга и нежелательных спариваний. Пол у крыс определяется:

1. Сравнением аногенитальной дистанции, то есть расстояния между мочеполовым отверстием и анусом. У самцов обычно это расстояние больше, чем у самок. (Рис. 10).
2. наличие сосков на животе у самки (Рис. 11),
3. наличие двух темных пятнышек у самцов, на месте которых потом появятся testикулы.

Разделение лабораторных крыс по полу — критически важный аспект проведения научных исследований. Это помогает предотвратить нежелательное размножение, которое может привести к перенаселению и стрессу у животных. В исследованиях, где нет возможности учитывать особенности организма связанные с эстральным циклом, разделение по полу является обязательным условием для получения достоверных результатов.

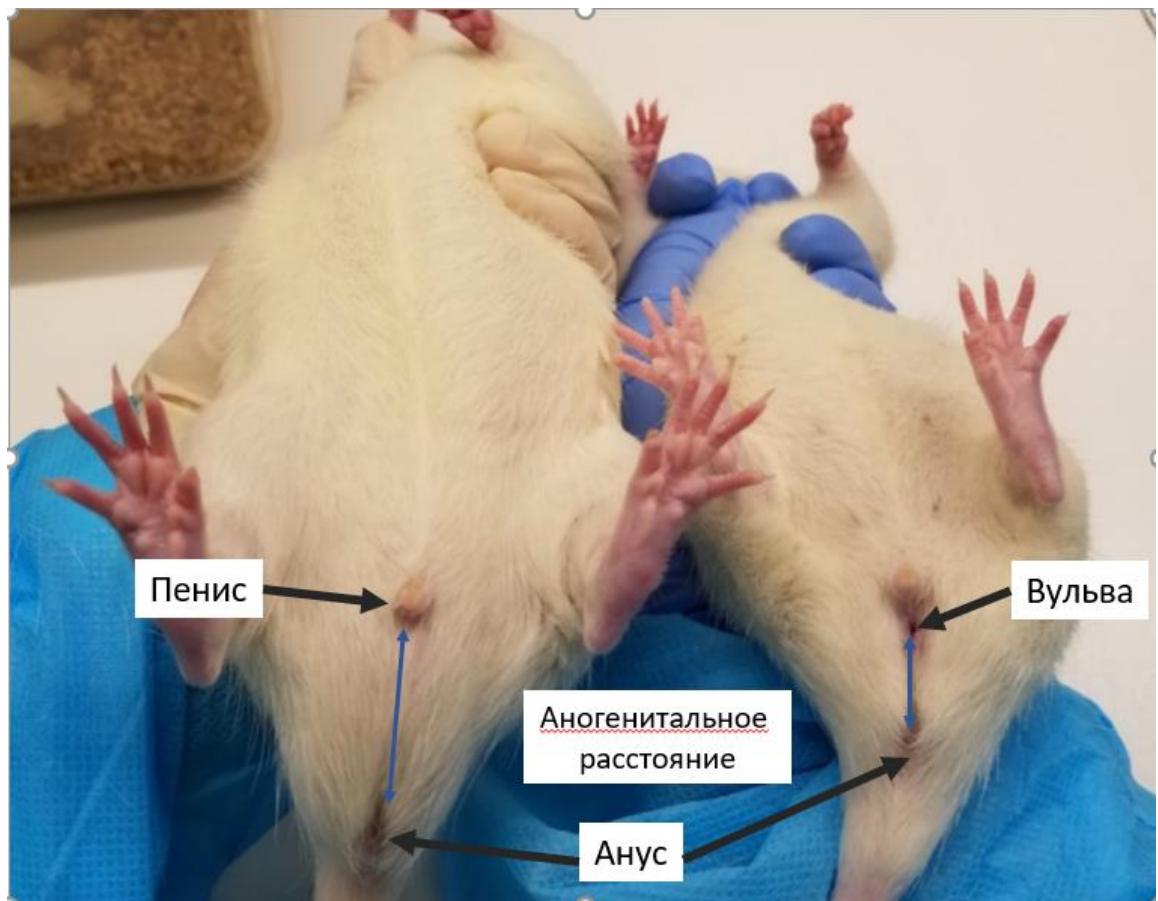


Рис. 10. Аногенитальная дистанция у самок и самцов (*Rattus norvegicus*).

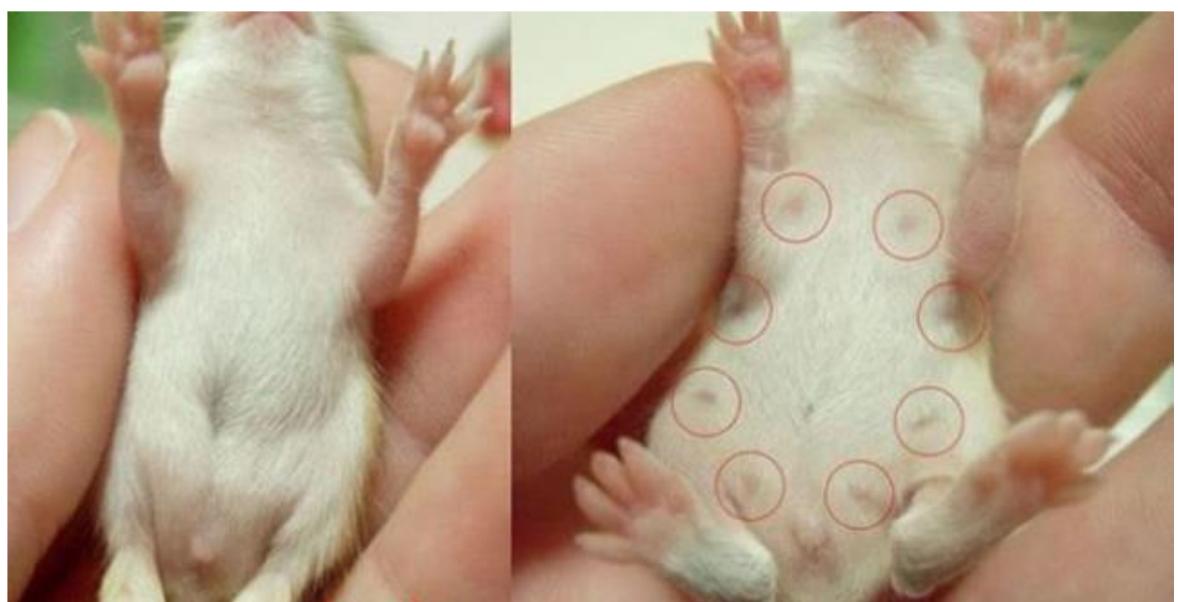


Рис. 11. Расположение сосков на животе самки крысы (*Rattus norvegicus*).

## **4. ПЛАНИРОВАНИЕ И ПРОВЕДЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТА**

### **4.1. Выбор животных**

Для каждого вида животных характерны определенная температура тела, частота дыхания, определенная масса тела, количество приплода, продолжительность жизни и т.п., что необходимо учитывать при подборе животных для опыта. Изменение физиологической нормы свидетельствует о заболевании и непригодности животного для исследований.

### **4.2. Формирование групп животных для исследования**

Формирование групп животных для исследования — это важный этап в проведении научных экспериментов и исследований. Этот процесс включает в себя подбор животных, распределение их по экспериментальным группам и обеспечение условий, которые позволяют достичь достоверных и надежных результатов.

Для минимизации биологических вариаций важно использовать животных одного возраста и пола.

В научных исследованиях часто используются самцы, поскольку самки могут испытывать изменения в поведении и физиологии из-за эстрального цикла (аналога менструального цикла). Эти гормональные колебания могут вводить дополнительные переменные в эксперименты, особенно в тех исследованиях, где точность и стабильность результатов имеют ключевое значение. Самцы, как правило, не испытывают таких регулярных гормональных изменений.

Самки чаще используются в исследованиях, связанных с изучением беременности, родов, лактации и материнского поведения, включая изучение влияния на них различных факторов (например, социальных, экологических или фармакологических). Самки используются для изучения гормональных циклов и их влияния на физиологию и поведение, для исследований заболеваний, которые чаще встречаются у самок (например, остеопороз, рак молочной железы), а также для изучения воздействия токсических веществ на репродуктивное здоровье.

В некоторых исследованиях важно включать как самцов, так и самок для оценки половых различий.

Для использования самок в эксперименте часто необходимо контролировать эстральный цикл особи.

В эксперименте лучше использовать животных одного генотипа, чтобы минимизировать генетическую вариативность. Это помогает снизить влияние случайных факторов и повысить воспроизводимость результатов.

Размеры групп зависят от статистической мощности эксперимента. Обычно для надежности результатов в каждой группе должно быть достаточно животных, чтобы можно было выявить статистически значимые различия.

Важно, чтобы все животные в группе содержались в одинаковых условиях (температура, влажность, освещение, питание). Это помогает исключить влияние внешних факторов на результаты исследования.

Для большинства исследований необходимо сформировать как экспериментальные группы (с воздействием на них исследуемого фактора), так и контрольные (которые не подвергаются воздействию), чтобы можно было сравнить результаты.

*Формировании групп животных для исследования с применением ANOVA.*

При формировании групп животных для исследования с применением ANOVA (анализ дисперсии) важно правильно организовать эксперимент, чтобы обеспечить статистическую значимость результатов и достичь цели исследования.

Для применения ANOVA нужно иметь несколько групп, которые будут сравниваться между собой:

- контрольная группа (группа без воздействия исследуемого фактора или с базовой дозой),
- экспериментальные группы (группы, которые подвергаются различным воздействиям или дозам).

Например, для изучения влияния трех доз препарата на уровень холестерина, необходимы следующие группы:

Контрольная группа (не получает препарата).

Группа с низкой дозой препарата.

Группа со средней дозой препарата.

Группа с высокой дозой препарата.

Для каждой группы необходимо вычислить достаточное количество животных, чтобы результаты были статистически значимыми. Это можно сделать с использованием формул для расчета размера выборки в ANOVA, учитывая следующие параметры:

Мощность исследования ( $\beta$ ): обычно выбирается 80% (или 90%).

Уровень значимости ( $\alpha$ ): обычно 0,05.

Ожидаемый эффект: разница между группами, которую вы хотите измерить (например, разница в уровне холестерина между группами).

Стандартное отклонение ( $\sigma$ ): вариативность внутри групп.

$$N = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 \cdot (\sigma_{\text{меж}}^2 + \sigma_{\text{внутри}}^2)}{\delta^2}$$

Где:

$N$  — общий размер выборки,

$Z_{\alpha/2}$  — критическое значение для уровня значимости  $\alpha$  (обычно для  $\alpha = 0.05$ ,  $Z_{\alpha/2} \approx 1.96$ ),

$Z_{\beta}$  — критическое значение для мощности теста  $1-\beta$  (например, для мощности 80%,  $Z_{\beta} \approx 0.84$ ),

$\sigma_{\text{меж}}^2$  — межгрупповая дисперсия,

$\sigma_{\text{внутри}}^2$  — внутригрупповая дисперсия,

$\delta$  — минимальный ожидаемый эффект (разница между средними, которую вы хотите обнаружить).

Для простоты анализа и точности результатов рекомендуется, чтобы группы были сбалансированными, то есть содержали одинаковое количество животных.

Например, 4 группы с одинаковым количеством животных в каждой группе - 10 животных.

Использование рандомизации — это ключевой аспект, который позволяет исключить влияние внешних факторов на результаты. Животных следует случайным образом распределить по группам. Это минимизирует систематические ошибки и способствует более объективным результатам.

Если в исследовании присутствуют дополнительные переменные (например, возраст животных, их состояние здоровья, пол), важно учитывать их при формировании групп. Для анализа влияния возраста и пола можно использовать многофакторный ANOVA, где одним из факторов будет возраст, а другим — пол.

Например, при исследовании влияние препарата на уровень глюкозы, могут быть группы с разными дозами препарата и подгруппы по возрасту и полу:

Контрольная группа (самцы) — 5 животных.

Контрольная группа (самки) — 5 животных.

Низкая доза (самцы) — 5 животных.

Низкая доза (самки) — 5 животных.

И так далее для каждой дозы препарата.

При сравнении одних и тех же животных в разные моменты времени, используется повторная ANOVA (или ANOVA с измерениями на одном объекте). Это тип анализа дисперсии, который применяется в случае, когда наблюдения относятся к одной и той же выборке объектов, измеряемых несколько раз в разные моменты времени.

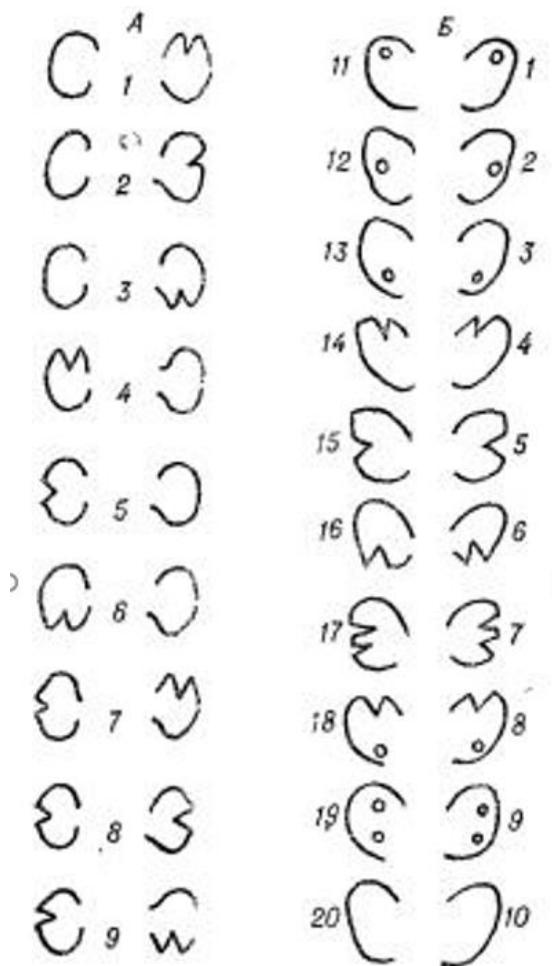
При формировании групп важно соблюдать этические принципы, минимизируя стресс и вред для животных. Эксперимент должен быть обоснован с научной точки зрения, должны быть приняты меры для обеспечения благополучия животных, и необходимо следовать стандартам, таким как принцип "3R" (замещение, сокращение, улучшение), который предполагает замену животных альтернативными методами, сокращение их числа и улучшение условий содержания.

Животных следует содержать в стандартизованных условиях, которые соответствуют требованиям для конкретного вида.

Корректно организованный эксперимент с тщательно подобранными группами позволит получить надежные и достоверные результаты, которые можно будет анализировать с помощью метода ANOVA.

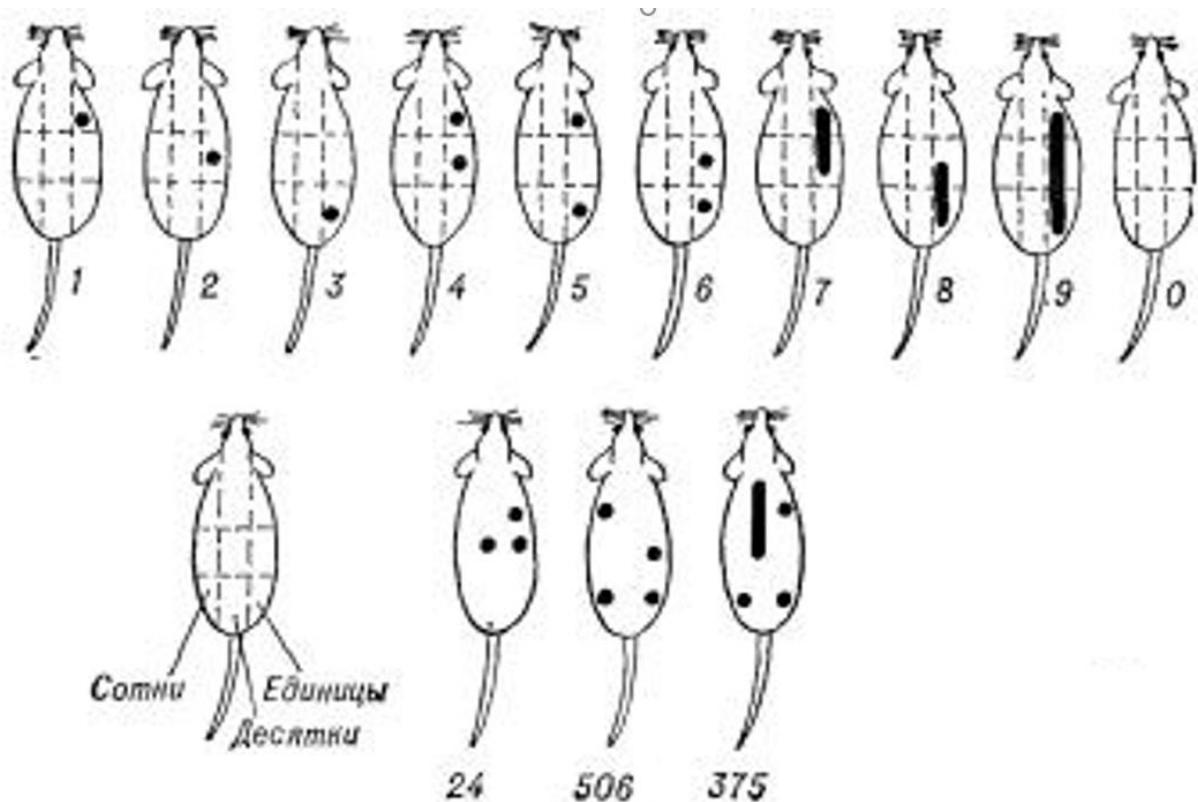
#### 4.3. Методы индивидуальной идентификации животных

Для животных участвующих в длительных экспериментах применяют надрез ушной раковины с помощью острых ножниц (Рис.12).



**Рис. 12.** Мечение лабораторных животных при помощи надсечек (А), надсечек и проколов (Б) ушных раковин; Л - левое, П - правое ухо.

Для животных альбиносов применяется маркировка шерсти (кожи) чернилами (зеленкой, фукорцином). Метку нужно обновлять каждые 24-28 часов (Рис. 13).



**Рис. 13.** Схема нанесения меток на теле лабораторных крыс.

#### 4.4. Взвешивание лабораторных животных

Для оценки состояния животного необходима процедура определения массы тела животного при помощи весов до, во время и после эксперимента.

Взвешивание животных проводят 1 раз в неделю при рутинных манипуляциях, 2 и более раз при проведении экспериментов, согласно протоколу исследования.

Для взвешивания лабораторных животных используют настольные электронные весы средней точности.

Взвешивание лабораторных крыс выполняют на весах с наибольшим пределом взвешивания 200-500 г, с наименьшим пределом взвешивания 1 г и ценой деления 0,02-0,1 г.

##### *Протокол взвешивания животных:*

- разместите весы на ровной, прочной и устойчивой поверхности на расстоянии 15-20 см от края стола;

- отрегулируйте горизонтальное положение весов по уровню с помощью винтовых ножек (весы установлены горизонтально, если пузырёк воздуха находится в центре контрольной окружности уровня);
- включите весы;
- установите на платформе весов ёмкость с высокими бортиками (с учётом размера взвешиваемого животного);
- обнулите весы;
- установите на весах режим динамического взвешивания;
- поместите животное в ёмкость с высокими бортиками, стоящую на платформе весов;
- нажмите на весах кнопку «старт»;
- дождитесь, пока цифра на табло зафиксируется;
- запишите вес животного в протокол исследования.
- при необходимости проведите маркировку животного, используя применяемые в нашей лаборатории методы индивидуальной идентификации;
- после взвешивания всех животных выключите весы;
- ёмкость для взвешивания вымойте и высушите;
- рабочую поверхность весов протрите и обработайте 70% раствором этилового спирта.

#### **4.5. Взятие грызунов в руки и перенос из клетки**

При подъеме взрослых крыс необходимо захватывать их аккуратно, но уверенно, у основания или в центре хвоста (не кончик хвоста). Не рекомендуется долго держать грызунов в воздухе без опоры, т.к. они боятся высоты.

Далее необходимо разместить животное на поверхности, такой как верх клетки с сеткой или крышка, или на своей руке. Лучше, чтобы поверхность не была скользкой или гладкой, так как крысы будут чувствовать себя намного спокойнее, если у них будет твердая опора.

Использование кожаных, тканевых или сетчатых перчаток значительно снижают чувствительность, увеличивают вероятность травмирования грызунов, усложняют выполнение тонких процедур и не полностью защищают от прокусования.

При ограничении движения крыс, следите за тем, чтобы не оказывать слишком сильное давление на грудную клетку. Не нужно мешать дыханию. Следите за признаками удушья, синего цвета кожи, выпущенных глаз или кровотечения из носа.

#### **4.6. Фиксация животных**

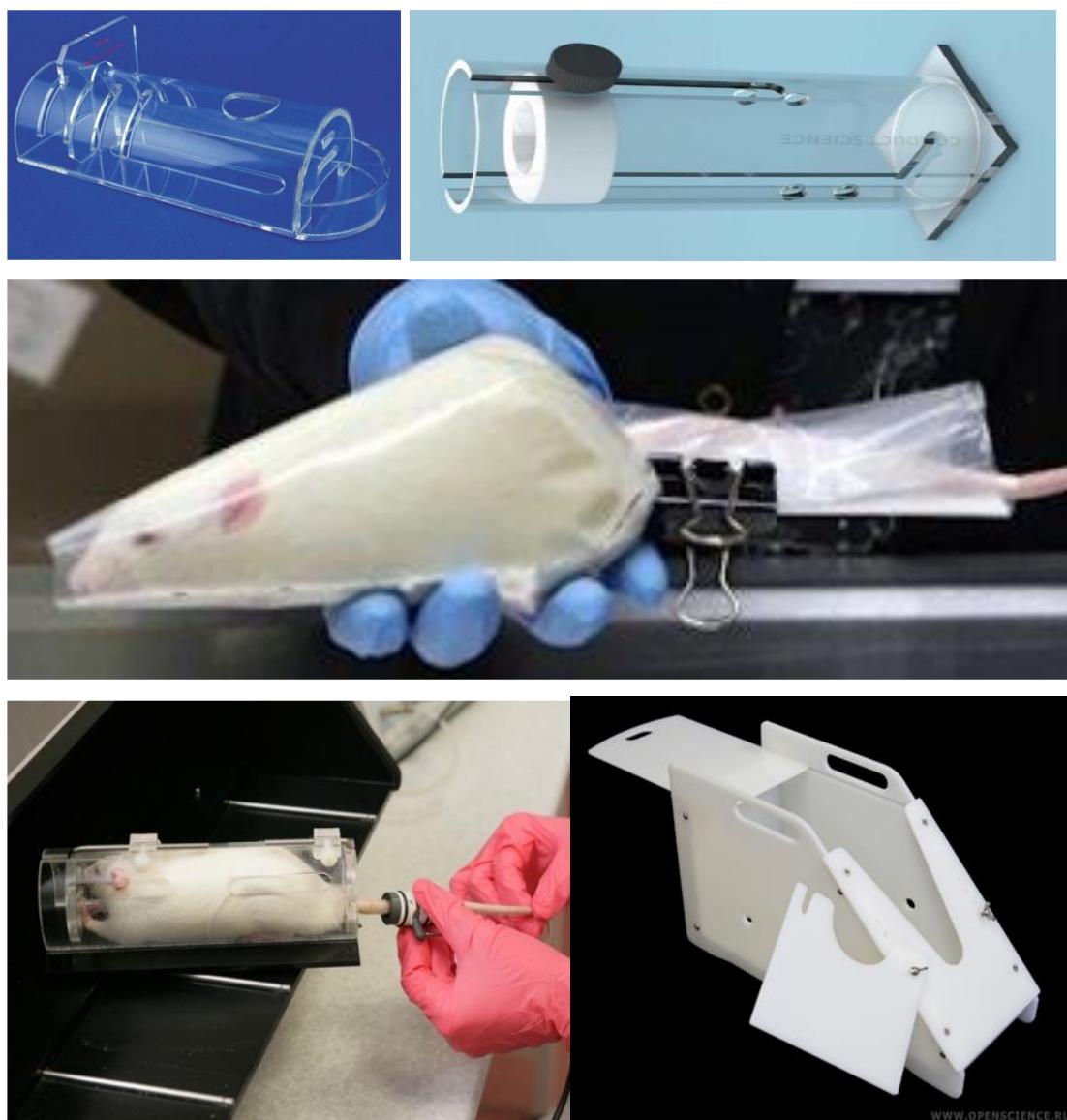
**1. Фиксаторы для лабораторных животных** – при использовании фиксаторов в технике эксперимента, необходимо учитывать, что он должен быть легко дезинфицируемым, удобным для размещения животного и безопасным как для животного, так и для человека.

*Рекомендации при использовании фиксаторов:*

- выбирайте фиксатор, наименьший дискомфортный животному;
- убедитесь, что размер фиксатора подходит животному;
- никогда не применяйте чрезмерную силу;
- предварительно приучите животное к фиксатору, например, дайте животному несколько раз спокойно посидеть в фиксаторе, сначала открытом, потом закрытом, неприученные к фиксации животные могут начать сильно биться и могут повредить позвоночник, что приведет к частичному параличу;
- не держите животное в фиксаторе дольше, чем это необходимо для проведения экспериментальной манипуляции;
- никогда не оставляйте животное в фиксаторе без присмотра!

**Таблица 4.** Внутренние габариты фиксаторов для лабораторных крыс:

Наименование	длина, мм	ширина, мм	высота, мм	масса животных, г
стандартный	165	55	55	200-400
увеличенный	210	65	65	400-700



**Рис. 14.** Варианты фиксаторов.

2. *Захват за хвост* — применим для агрессивных крыс или крыс, с которыми вы не знакомы.

Захват необходимо делать у основания хвоста, а затем поднять животное (Рис. 15).

Необходимо всегда поддерживать вес животного, не позволяя ему висеть на хвосте. Этот захват безопасен на короткие периоды времени, так как хвост легко ломается и/или лишается кожи.



**Рис. 15.** Захват крысы у основания хвоста

Далее необходимо положить животное на рукав лабораторного халата. Это помогает крысам расслабиться, так как они напрягаются на гладких поверхностях (Рис. 16).



**Рис. 16.** Привыкание к крысе.

**3. Захват за тело/плечо/удержание двумя пальцами** – этот метод фиксации применяется только для покорных крыс.

- Захватите основание хвоста доминирующей рукой и аккуратно потяните крысу назад.

- Другой рукой положите большой и указательный палец на лопатки и слегка прижмите их вместе, пока передние лапы не перекрестятся (любая из лап может быть сверху) (Рис. 17).

- На хвосте должно сохраняться натяжение, аккуратно растягивая его, чтобы поддерживать подъем плеч (Рис. 18).



**Рис. 17.** Захват крысы за тело.



**Рис. 18.** Натягивание хвоста при плечевом захвате.

#### 4. Основное/Четырехпальцевое/удержание:

- Держа основание хвоста, положите свою недоминирующую руку на спину крысы рядом с основанием хвоста и аккуратно надавите.
- Сохраняйте давление на спину и поместите голову между указательным и средним пальцами, как можно ближе к основанию пальцев (Рис. 19).
- Затем положите большой палец и последние два пальца вдоль тела для поддержки грудной клетки. НЕ СЖИМАЙТЕ грудную клетку! Захватите основание хвоста другой рукой для поддержки тела.



**Рис. 19.** Четырехпальцевое удержание.

5. Комбинация/удержание тремя пальцами – это удержание применимо для маркировки ушей, когда крыса может оставаться на рабочей поверхности.

- Возьмитесь за хвост и, оказывая легкое обратное натяжение на хвост, проведите левой рукой вперед, поместив большой палец под лапу, а указательный палец – на верхнюю часть плеча и вдоль правой стороны шеи.

• Безымянный палец и мизинец поместите под левую переднюю лапу, пока вы оказываете легкое давление на крысу, чтобы удерживать их на поверхности стола (Рис. 20).



**Рис. 20.** Удержание тремя пальцами.

#### *6. Альтернативные варианты удержания с помощью полотенца.*

Существуют альтернативные варианты удержания, которые можно выполнять с помощью полотенца для рук; выбор варианта будет зависеть от темперамента крысы, а также от техники, которую необходимо выполнить (Рис. 21).



**Рис. 21.** удержания с помощью полотенца.

#### 4.7. Инъекции крысам



**Рис. 22.** Шприц одноразовый.

**Таблица 4.** Рекомендованный объем и размер иглы по типу инъекции.

Тип инъекции	Идеальный размер иглы (Gauge)	Рекомендованный объем**	Максимальный объем (у крысы весом ~300 г)	Требуется ли аспирация
Внутрибрюшинно (IP)	23-25G	10 мл/кг	10 мл/кг (3,0 мл)	Да
Подкожно (SQ, SC)	25G	5-10 мл/кг	10 мл/кг (3,0 мл) 20 мл/кг/всего (6,0 мл)	Да, введите, если в ступице иглы нет крови
Внутримышечно (IM)	25G	0,01 мл/сайт (100 мкл)	0,2 мл всего (200 мкл)	Да, вводите медленно, если в ступице иглы нет крови
Внутривенно (IV) (непрерывно)	21-23G	2,0-4,0 мл/кг/час	4,0 мл/кг/час (1,2 мл)	Нет; вводите медленно
Внутривенно (IV) (болюсно)	21-23G	5,0 мл/кг	5,0 мл/кг (1,5 мл)	Нет

**Примечание:**

G обозначает размер иглы (Gauge).

мл - миллилитры, кг - килограммы, мкл - микролитры.

Инъекции крысам следует делать осторожно, чтобы минимизировать стресс и вред для животных.

Для каждой инъекции необходимо использовать новую стерильную иглу.

Для избегания чрезмерного протекания необходимо держать иглу в игольном канале в течение нескольких секунд после инъекции.

Для предотвращения травм необходимо всегда делать инъекцию срезом иглы вверх.

При внутривенном введении веществ инъекцию следует делать медленно, чтобы избежать шока. Медленное введение вещества при внутримышечной инъекции вызовет наименьшую боль.

### *1. Внутрибрюшинные инъекции*

Эта инъекция делается в нижнюю брюшную полость, прокалывая брюшину животного. Важно избегать средней линии, чтобы предотвратить прокол мочевого пузыря.

• Задержите и удерживайте крысу в спинном положении (на спине/животом вверх), с надежно зафиксированным хвостом (под вашим запястьем или другим человеком). Для безопасного выполнения этой процедуры у крупных крыс может потребоваться два человека.

• Ведите иглу скосом вверх в положение ниже сгиба колена и по обе стороны от средней линии. Это обеспечивает безопасную инъекцию, избегая мочевого пузыря и других органов, таких как печень или селезенка (Рис. 23).



**Рис. 23.** Места введения внутрибрюшинных инъекций у лабораторных животных.

- Установите иглу под углом примерно  $45^{\circ}$  к телу. Аспирируйте – если в наконечнике иглы не наблюдается крови. Если кровь наблюдается, извлеките иглу и вставьте ее снова, затем снова аспирируйте – если кровь не видна, вы можете ввести.

## *2. Подкожные инъекции*

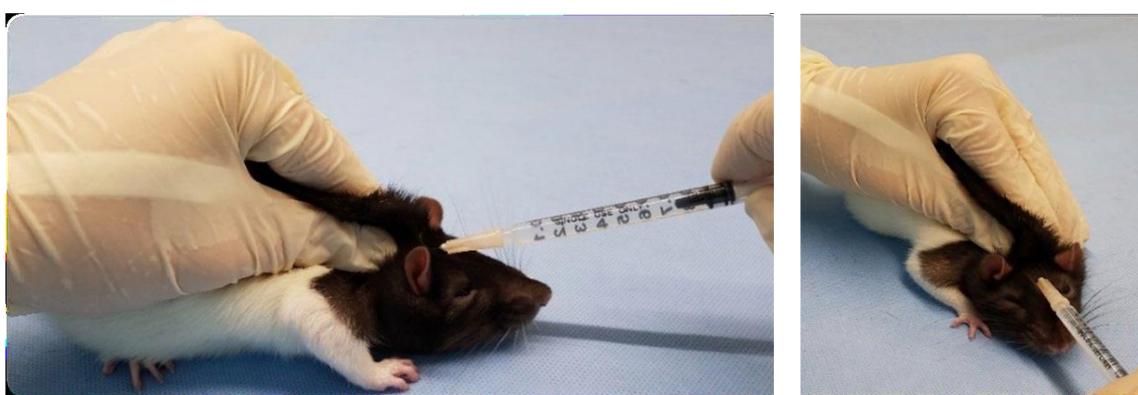
Эта инъекция вводится под кожу и над подлежащей мышцей (Рис. 24). Ее можно выполнить в любой области рыхлой кожи вдоль спины или боков.

• Поместите крысу на твердую поверхность, поддерживайте заднюю часть тела крысы вашей недоминантной рукой, а большим и указательным пальцами захватите кожу на загривке, чтобы создать кожную складку. Прижмите голову крысы к поверхности для максимального удержания.

• Вставьте иглу с наклоном вверх в карман или «кожную складку», образованную захватом кожи (Рис. 24).

• Подтяните поршень — если в наконечнике иглы не появится кровь, вводите медленно. Если появляется кровь, извлеките иглу и вставьте снова, повторно подтяните поршень, затем вводите, если в наконечнике иглы крови не наблюдается.

Можно вводить большие объемы жидкости, но их следует разделить на несколько мест введения, чтобы избежать растяжения кожи. Средство должно быть подогрето до температуры тела.

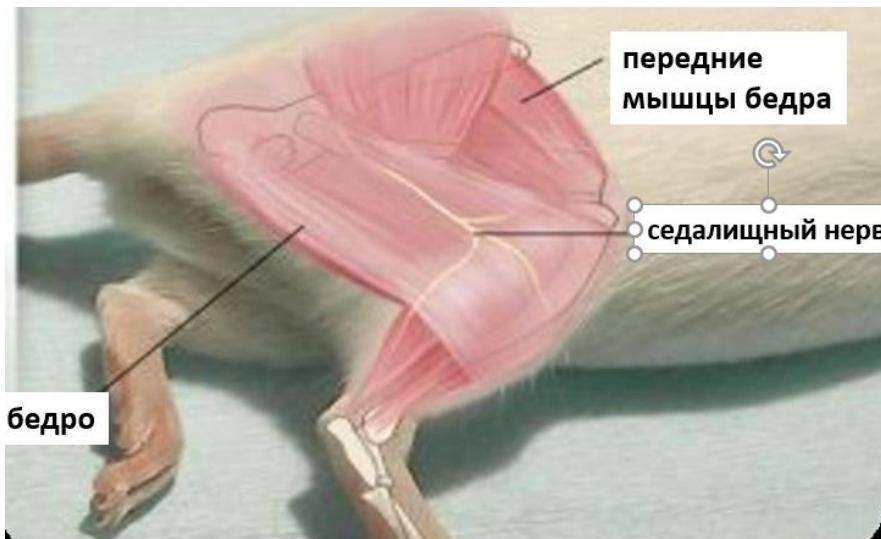


**Рис. 24.** Подкожная инъекция.

### 3. Внутримышечная инъекция

Эта инъекция вводится в мышечную массу задней части бедра мыши. Она используется только в случаях, когда другие способы инъекций не подходят, так как она может быть более болезненной, чем другие методы.

Используется мышечная масса, расположенная вдоль задней части ноги (Рис. 25).



**Рис. 25.** Мышечная масса, расположенная вдоль задней части ноги крысы.

- Держите крысу у себя на теле в ладони недоминантной руки. Прижмите крысу к себе и поверните ее к себе животом наружу. Одной рукой, в которой лежит крыса, выпрямите одну из задних ног наружу с помощью двух пальцев (Рис. 26).



**Рис. 26. 3.** Внутримышечная инъекция.

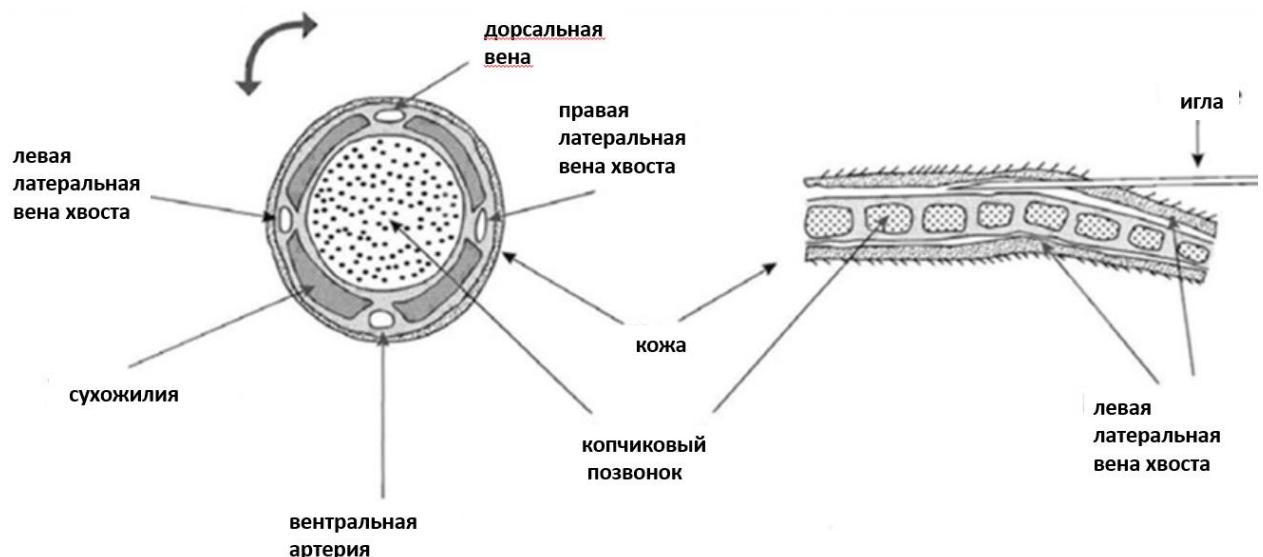
- Вставьте иглу параллельно бедру и перпендикулярно росту шерсти, под небольшим углом.

- Подтяните поршень, чтобы убедиться, что игла не попала в кровеносный сосуд, затем продолжайте инъекцию, если в наконечнике иглы не появится кровь. Если кровь появляется, извлеките и снова вставьте иглу, попробуйте снова.

Необходимо быть осторожным, чтобы избежать повреждения седалищного нерва, бедренной вены, артерии и нерва.

#### 4. Внутривенная инъекция

Внутривенные инъекции крысам обычно делают в Латеральную хвостовую вену. Это вена расположена по боковой поверхности хвоста (Рис. 27).



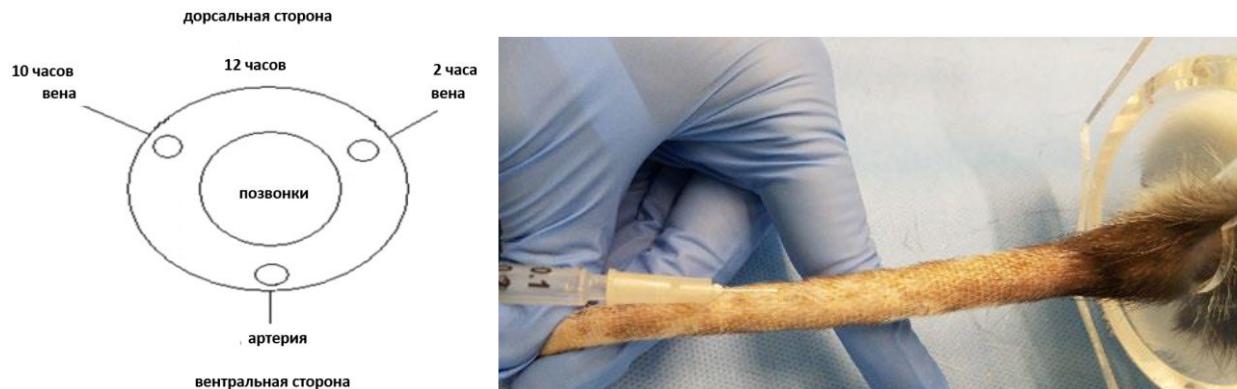
**Рис. 27.** Схема вен и артерий хвоста крысы (*Rattus norvegicus*).

Для расширения кровеносных сосудов можно использовать теплую воду, лампу обогрева или грелки для рук. Это поможет сделать вены более заметными и удобными для инъекции.

- Убедитесь, что у вас есть стерильные игла и шприц с необходимым препаратом.

- Поместите крысу в фиксирующее устройство, чтобы минимизировать движение и избежать травм.

- Идентифицируйте латеральные вены хвоста. Эти вены расположены по бокам хвоста, примерно в позиции 10 и 2 часа (Рис. 28).



**Рис. 28.** Идентификация латеральной вены хвоста

- Начните инъекцию как можно дальше от основания хвоста, чтобы минимизировать риск повреждения сосудов.
- Расположите иглу горизонтально относительно вены, стараясь вводить её в месте, где венозное кровообращение наиболее заметно.
- Вставьте иглу с легким наклоном вверх, пока она не окажется под кожей, но не слишком глубоко, чтобы не пробить вену. Игла должна быть практически параллельна хвосту.
- Следите, чтобы игла была направлена в вену, а не в подкожные ткани. Если инъекция вводится правильно, вена должна стать более выраженной от места инъекции до основания хвоста.
- При введении лекарства двигайтесь медленно, не применяя чрезмерной силы. Нажатие на поршень должно быть легким, как если бы вы толкали его в открытом воздухе. Если инъекция выполнена верно, препарат должен попасть прямо в вену.
- Если вокруг места инъекции образуется вздутие, это может указывать на подкожное введение препарата.

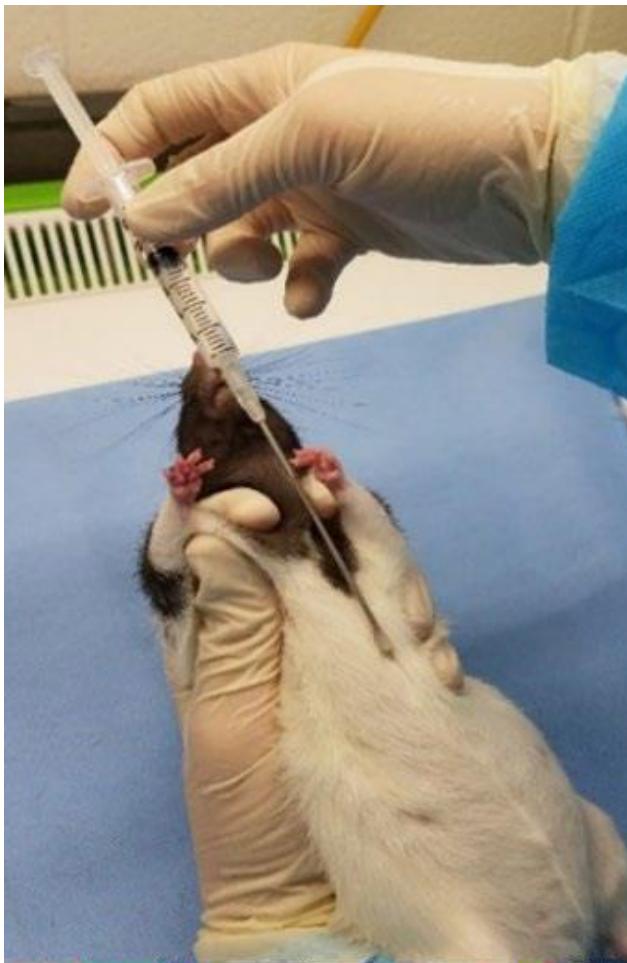
- Если вы подозреваете, что инъекция была подкожной, извлеките иглу и повторите процесс, двигаясь вверх по хвосту или выбрав другую вену. Обратите внимание, что по мере продвижения к основанию хвоста вена находится глубже.

- После завершения инъекции аккуратно извлеките иглу и отпустите крысу. Постоянно следите за животным, чтобы убедиться, что оно не испытывает негативных реакций на препарат.

Важно соблюдать осторожность и точность, так как неправильное выполнение внутривенной инъекции может привести к травмам или осложнениям.

#### 4.8. Орогастральное зондирование

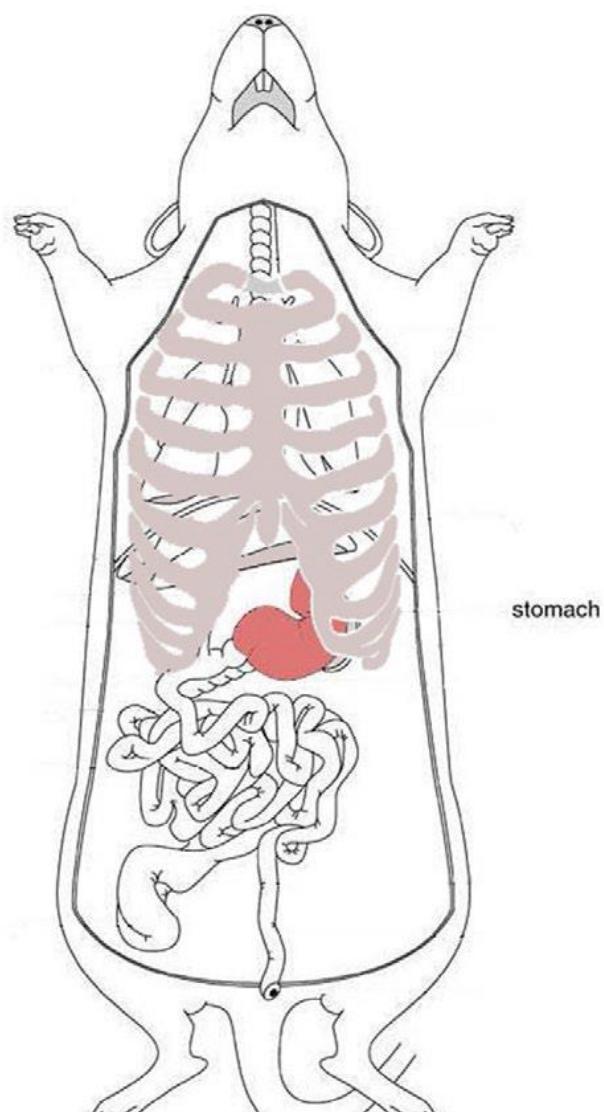
Для введения веществ непосредственно в желудок используется тупая игла с шариковым наконечником, которая минует процесс глотания (Рис. 29).



**Рис. 29** Орогастральный зонд

Рекомендуется использовать иглу для желудочного зонда из нержавеющей стали с шариковым наконечником.

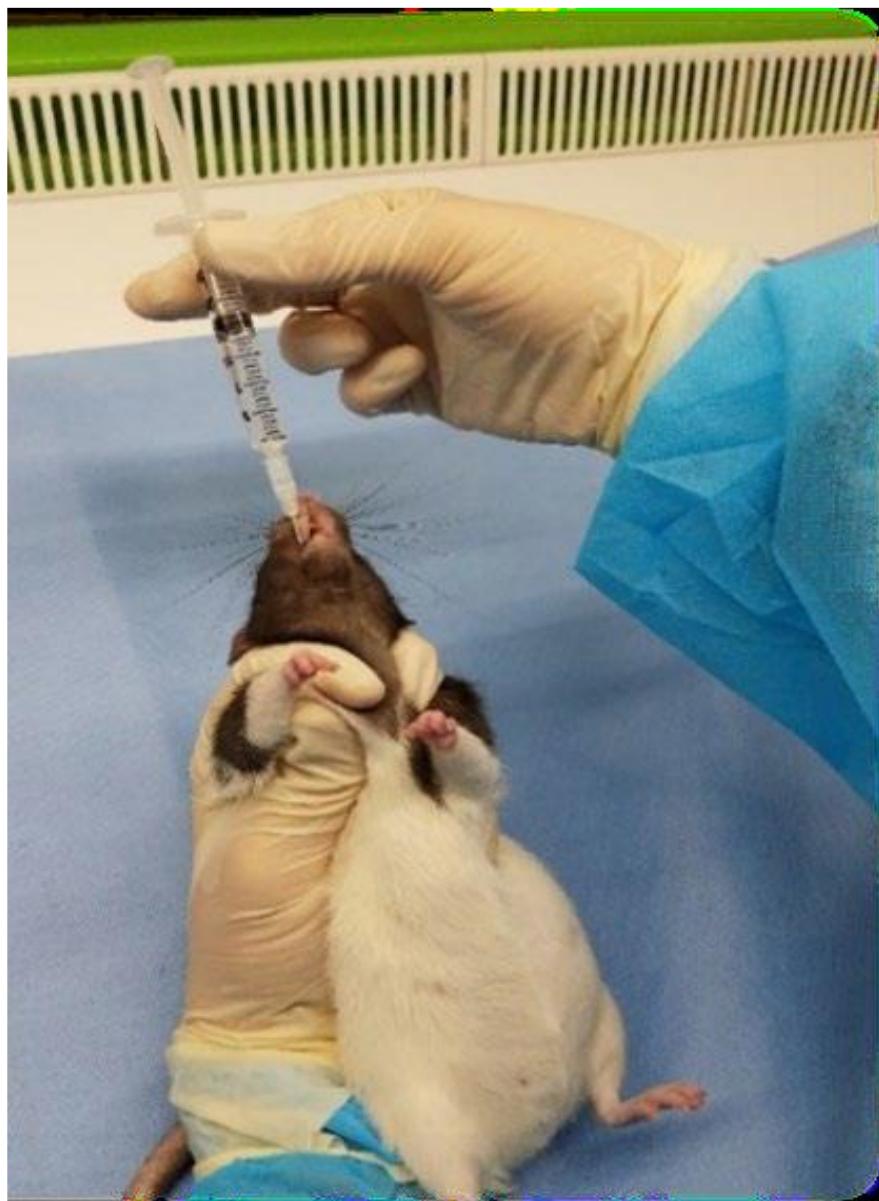
Очень важно, чтобы игла была правильного размера, для этого необходимо измерить длину перед введением, чтобы убедиться, что игла войдет на нужную глубину. Длина иглы должна соответствовать расстояние от угла рта до мечевидного отростка (рядом с последним ребром) (Рис. 30). Если игла слишком короткая, введенная жидкость может попасть в дыхательные пути животного, что приведет к возможной пневмонии и смерти. Если игла слишком длинная, она может повредить желудок. Неправильная техника использования желудочного зонда может привести к разрыву пищевода или удушью.



**Рис. 30** Желудочно-кишечный тракт крыс

Оральная дозировка не должна превышать 10 мл/кг.

- Прочно удерживайте крысу и измерьте длину иглы перед введением.
- Вставьте иглу желудочного зонда в рот, с одной стороны, под углом 45°. Когда игла коснется неба, аккуратно продвигайте иглу по задней части горла, наклоняя голову крысы назад, так чтобы шея была по прямой линии (Рис. 31).



**Рис. 31.** Введение желудочного зонда

- Игла должна легко пройти по пищеводу с минимальным сопротивлением. Если встречается сопротивление, осторожно поверните иглу и сделайте паузу, чтобы позволить крысе проглотить. Если крыса

сопротивляется или игла не проходит дальше, остановитесь, извлеките иглу и начните снова.

- Тщательно наблюдайте за крысой после завершения процедуры. Изо рта или носа не должно выходить жидкости, и крыса не должна проявлять признаки страха или стресса.

**Таблица 5.** Иглы для желудочного зонда – подходящий размер и объем в зависимости от веса крысы.

Вес крысы (г)	G	Длина (мм)	Диаметр шара (мм)	Объем орального желудочного зонда на единицу веса Рекомендуется: ≤ 5 мл/кг Максимум: 5 мл/кг
50-75	20	25,4-76,2	1,9-2,25	50г: 0.25 мл 75г: 0.375 мл
75-120	18	25,4 или 38,1	2,0-2,25	100г: 0.5 мл
100-200	18 17 16	50,8 – 78,74 25,4 – 83,82 50,8 – 76,2	2,0-2,3 2,4 3,0	200г: 1.0 мл
150-300	15-16	76,2 -101,6	2,8-3,0	300г: 1.5 мл
200-350	13-14	50,8 - 127	2,9-4,0	350г: 1.75 мл

**Таблица 6.** Максимально допустимые объемы введения экспериментальных веществ лабораторным животным

Способы введения веществ	Максимально допустимые объёмы введения веществ
перорально	10 мл/кг
внутрикожно	0,05-0,1 мл/кг/точка
подкожно	2-5 мл/кг
внутrimышечно	0,05 мл/кг/точка
внутривенно	5 мл/кг
внутрибрюшинно	10 мл/кг

#### 4.9. 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.

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

*Наркоз* – искусственно вызванное обратимое состояние торможения центральной нервной системы, при котором возникает:

- потеря сознания;
- миорелаксация;
- снижение или отключение некоторых рефлексов;
- анальгезия.

*Стадии наркоза:*

I — стадия анальгезии: животное начинает терять болевую чувствительность, но ещё сохраняет сознание. Этап может использоваться для несложных диагностических процедур, таких как взятие крови или осмотр.

II — стадия возбуждения: переходная фаза, когда животное теряет сознание, но ещё может быть возбудимым, двигаться, делать непроизвольные движения или издавать звуки. При анестезии для лабораторных животных эта стадия может быть короткой и часто минимизируется за счет применения препаратов, которые быстро вводят животное в состояние глубокого наркоза.

III — стадия хирургического наркоза: В этой стадии животное полностью теряет сознание, и можно безопасно проводить хирургическое вмешательство. Как и у людей, у лабораторных животных существует несколько уровней хирургического наркоза:

1-й уровень (поверхностный наркоз): Животное может ещё частично реагировать на болевые раздражители, но они не вызывают болевых ощущений.

2-й уровень (лёгкий наркоз): Полная потеря болевой чувствительности, животное расслаблено, но могут быть небольшие реакции на сильные стимулы.

3-й уровень (глубокий наркоз): Полная потеря сознания, животное не реагирует на внешние раздражители, мышцы расслаблены.

4-й уровень (сверхглубокий наркоз): Это самая глубокая стадия, при которой жизненно важные функции, такие как дыхание и сердцебиение, могут быть поддерживаемы искусственно.

IV — пробуждение: по завершению операции начинается процесс пробуждения, когда животное выходит из состояния наркоза. Это может занять от нескольких минут до нескольких часов в зависимости от использованных препаратов. Важно следить за животным в этот момент, чтобы предотвратить возможные осложнения, такие как гипотермия или респираторные проблемы.

Для лабораторных животных анестезия и её стадии контролируются очень тщательно, чтобы обеспечить как безопасность процедуры, так и минимизацию страха и стресса у животного.

*Пути наркоза:*

- ингаляционный (сложно дозировать);
- инъекционный (легко дозировать);
- комбинированный (часто используется в ветеринарии, обычно комбинируется с миорелаксантами, что позволяет быстрее наркотизировать животное и меньшее количество вещества использовать).

*Ингаляционный наркоз:*

- анестезирующие вещества вводятся в организм через дыхательные пути, обычно через маску или эндотрахеальную трубку.
- легко контролировать уровень анестезии, так как концентрация вещества в крови может быть скорректирована путём изменения состава газовой смеси,
- сложно дозировать точно, так как анестезия зависит от вентиляции легких животного, обмена газов и других факторов, что может создать сложности при применении у животных с различной физиологией.

- используется в более длительных операциях или в ситуациях, когда необходима хорошая поддержка уровня анестезии.

*Инъекционный наркоз:* вещества вводятся в организм через инъекцию, обычно внутривенно, внутримышечно или подкожно.

легко дозировать, так как точное количество вещества вводится в кровь, и его эффект можно предсказать с высокой точностью. Также этот метод позволяет быстро погрузить животное в наркоз.

иногда трудно контролировать уровень анестезии, особенно если животное не восстанавливается должным образом или есть реакции на препарат.

применяется для краткосрочных операций или в случаях, когда нужно быстро ввести животное в наркоз.

*Комбинированный наркоз:* комбинирует оба предыдущих — ингаляционный и инъекционный наркоз. Часто инъекционные препараты используются для введения животного в начальную стадию наркоза, а затем поддержка уровня анестезии осуществляется ингаляционно.

- позволяет быстрее и эффективнее вводить животное в состояние наркоза. Также использование миорелаксантов вместе с анестезирующими средствами даёт возможность достичь быстрого расслабления мышц, что помогает избежать стресса и улучшить контроль над животным. При этом можно использовать меньшее количество анестезирующего вещества.

- трудности с контролем всех этапов анестезии, особенно если дозировки препаратов не сбалансированы.

- особенно часто используется в ветеринарной практике, особенно для крупных животных, где требуется сочетание нескольких методов для оптимального эффекта и безопасности.

Эти пути наркоза могут быть адаптированы для различных типов животных в зависимости от их физиологии, возраста и состояния, а также от продолжительности операции или процедуры.

Пример наркоза животных с использованием Золетила-100 в условиях нашей лаборатории:

Применение теопентала натрия для анестезии лабораторных крыс — довольно распространённая практика, так как это быстро действующий барбитурат, который эффективно вводит животное в наркоз. Обычно его используют при краткосрочных хирургических вмешательствах, таких как взятие тканей на биопсию или исследование внутренних органов.

### *Инъекции анестезии*

Инъекции анестезии могут быть использованы для проведения операций на животных.

- Тщательно взвесьте животное для расчета правильной дозы препарата.
- Ведите анестезирующий препарат(ы) в соответствии с весом и дозировкой через утвержденный способ инъекции.
- Поместите животное в чистую пустую клетку без подстилки, без других животных, с источником тепла в лежачем положении (лежа на боку).
- Животное (включая хвост) должно оставаться на соответствующем источнике тепла (избегая перегрева и ожогов) с момента первоначального введения препарата до тех пор, пока животное полностью не проснется и не восстановится после операции.

Наблюдайте за животным:

Проверьте наличие мигательного рефлекса: аккуратно поднесите палец или мягкий предмет (например, ватный тампон) к глазу крысы, не касаясь непосредственно глаза. Если мигательный рефлекс нормален, крыса должна закрыть веки в ответ на приближение объекта. При отсутствии мигательного рефлекса необходимо нанести фармацевтическую или ветеринарную офтальмологическую мазь с помощью вторичного аппликатора для сохранения влажности (Рис. 32). Несоблюдение требований по нанесению мази может привести к раздражению, инфекции и язвам роговицы.

Проверьте реакцию на боль, выполнив глубокий щипок пальца ноги на всех 4 лапах, используя твердый щипок ногтем к кончику пальца

непосредственно на суставах пальцев лап (Рисунок 28). Перед выполнением болезненных процедур необходимо убедиться в отсутствии реакции на боль во всех 4 лапах. Реакция это видимое или тактильное движение мышц, изменение характера дыхания и т. д.

Аnestезированные животные должны находиться под постоянным наблюдением во время анестезии (включая введение и восстановление) и не должны оставаться без присмотра, пока они не окажутся в грудном положении и не смогут передвигаться (способны самостоятельно встать и нормально ходить).

После полного пробуждения и восстановления способности передвигаться животное можно вернуть в помещение для содержания.



**Рис. 32.** Офтальмологическую мазь для сохранения влажности

*Пример наркоза с использованием теопентала натрия на лабораторной крысе:*

*Подготовка животного:*

Животное помещают в клетку или на стол для анестезии.

Обеспечивают минимальные условия стресса, животное может быть слегка фиксировано, чтобы предотвратить непроизвольные движения.

Осуществляют контроль температуры (для предотвращения гипотермии во время анестезии).

*Дозировка:*

Теопентал натрия вводится внутривенно или внутримышечно, в зависимости от удобства.

Обычная дозировка для крысы составляет 30-50 мг/кг массы тела животного. Важно точно взвесить животное перед введением, чтобы правильно рассчитать дозу.

Для крысы массой 300 г (0,3 кг) это будет:

- Минимальная доза:  $30 \text{ мг} \times 0,3 \text{ кг} = 9 \text{ мг}$ .
- Максимальная доза:  $50 \text{ мг} \times 0,3 \text{ кг} = 15 \text{ мг}$ .

Таким образом, для крысы массой 300 г дозировка теопентала натрия должна быть в пределах от 9 до 15 мг.

Для внутривенного введения препарат можно вводить медленно, чтобы избежать возможных побочных эффектов. Введение внутримышечно может быть менее точным, но всё равно эффективно для быстрого погружения в наркоз.

Если наркоз вводится внутривенно, то обычно используется шприц с иглой для введения препарата в вену (например, в хвостовую вену). Для внутримышечного введения — в бедро или в мышцу плеча.

После введения теопентала животное обычно засыпает через 1-2 минуты. Это происходит достаточно быстро, и животное теряет сознание, не испытывая болевых ощущений.

Теопентал натрия обладает быстрым началом действия, но также имеет короткую продолжительность эффекта, что важно учитывать при планировании более длительных операций.

При использовании теопентала важно тщательно следить за дозировкой, так как передозировка может привести к угнетению дыхания или сердечной активности.

#### **4.10. Взятие крови**

Можно использовать различные методы взятия крови у лабораторных крыс. Выбранный метод сбора крови должен максимально снижать боль и страдания животного, сохраняя при этом достижение целей исследования.

*Хроническое взятие крови:*

Для последовательного взятия крови (в течение определенного периода времени) максимальное допустимое для выживания взятие крови у большинства млекопитающих составляет 1,5% от массы тела без жира каждые 14 дней. Если кровь требуется еженедельно, безопасным количеством является 0,5% от массы тела.

*Острое или однократное взятие крови:*

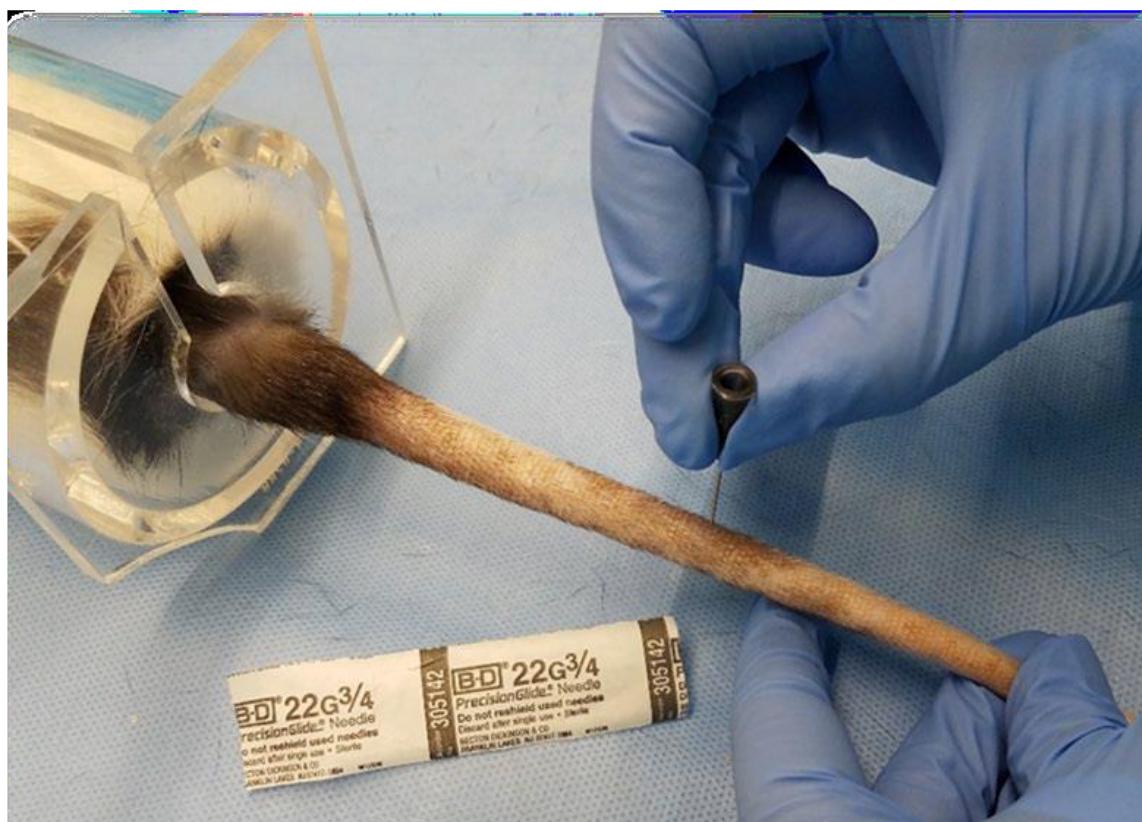
Максимальное допустимое для выживания количество острого взятия крови составляет 1% от массы тела без жира. Объем крови у взрослой крысы составляет около 78-80 мл/кг. Это примерно 10% от ее массы тела. Только около половины этого объема можно получить при терминальном взятии крови (взятие максимально возможного количества крови у животного, обычно в конце эксперимента или перед эвтаназией).

*Метод надреза хвоста (артерия/вену)*

Вены и артерии хвоста можно использовать для серийных кровопусканий. Используйте центральную хвостовую артерию или боковые хвостовые вены. Анестезия для надреза хвоста не требуется.

- Поместите крысу в фиксатор и отметьте положение 12 часов маркером.
- Найдите левую или правую боковую вену.
- Начните с середины хвоста и сделайте надрез артерии или вены, вставив ланцет или скос иглы перпендикулярно хвосту (Рис. 33).
- "Осторожно поверните и повращайте иглу в этом маленьком отверстии, чтобы вышло несколько капель крови. При необходимости вы можете "сдавить" вену от основания к месту введения, чтобы получить еще несколько дополнительных капель."

Вы можете собирать кровь с помощью микрокапиллярных трубок, микропипетки или различных пробирок для сбора микрообразцов (микротейнеров). Приложите давление, чтобы остановить кровотечение."



**Рис. 33.** Надрез артерии или вены хвоста

#### *Взятие крови через надрез кончика хвоста*

Этот метод может выполняться на неанестезированных или анестезированных животных в зависимости от необходимого количества ткани.

- Поместите животное в фиксатор.
- Положите хвост на чистую рабочую поверхность (например, бумажное полотенце).
- Используя новое лезвие скальпеля, отрежьте 1-2 мм\* кончика хвоста (Рис. 34).
  - Приложите сильное давление прямо вниз на хвост, чтобы отрезать ткань одним движением. Избегайте использования изогнутого края лезвия, чтобы предотвратить "распиливание" хвоста.
  - Вы можете "сдавить" вену от основания к кончику хвоста, чтобы собрать необходимое количество крови.

- Приложите легкое давление к ране чистой марлевой салфеткой или бумажным полотенцем, пока хвост не перестанет кровоточить. Для остановки кровотечения можно использовать кровоостанавливающий порошок (стиптик).

Верните животное в клетку только после того, как кровотечение остановится.

Серийные пробы крови можно получить в течение короткого промежутка времени, осторожно удалив струп без выполнения дополнительного надреза.

Следует отрезать только мясистую часть кончика хвоста. Отрезание позвонков ЗАПРЕЩЕНО. Поскольку только небольшая часть хвоста (4 мм) не содержит позвонков, использование процедуры надреза хвоста должно быть ограничено. Кость НИКОГДА не должна быть обнажена в результате этой процедуры.



**Рис. 34.** Надрез кончика хвоста

### *Взятие крови из хвостовой артерии*

Кровь можно брать изentralной хвостовой артерии с помощью безплунжерного шприца (шприца, у которого отсутствует поршень) и иглы 22 G (или меньшего).

Чтобы облегчить взятия крови этим методом, рекомендуется анестезировать животное, так как артерия расположена на вентральной поверхности хвоста, и доступ к ней наиболее легок, когда животное лежит на спине.

- Разогрейте хвост, чтобы помочь визуализировать хвостовую артерию.
- Наложите жгут у основания хвоста, это облегчить кровотечение.
- Визуализируйте вентральную артерию и введите иглу. (Рис. 35).
- Позвольте крови капать в сосуд для сбора.



**Рис. 35.** Взятие крови из хвостовой артерии

### *Взятие крови из подкожной вены*

Этот метод получения крови часто используется, когда требуется серия небольших образцов. Этот метод взятия крови не требует анестезии; однако требуется жесткая фиксация животного.

Поместите крысу в конический фиксатор и сбрейте шерсть с задней поверхности бедра. В этой области видна подкожная вена (Рис. 36).



**Рис. 36.** Подкожная вена

Нанесите смазку или сбрейте шерсть с ноги, чтобы предотвратить "фитильный эффект" (впитывание крови). Наложите жгут выше колена и войдите в вену иглой G 25 (Рис. 37).



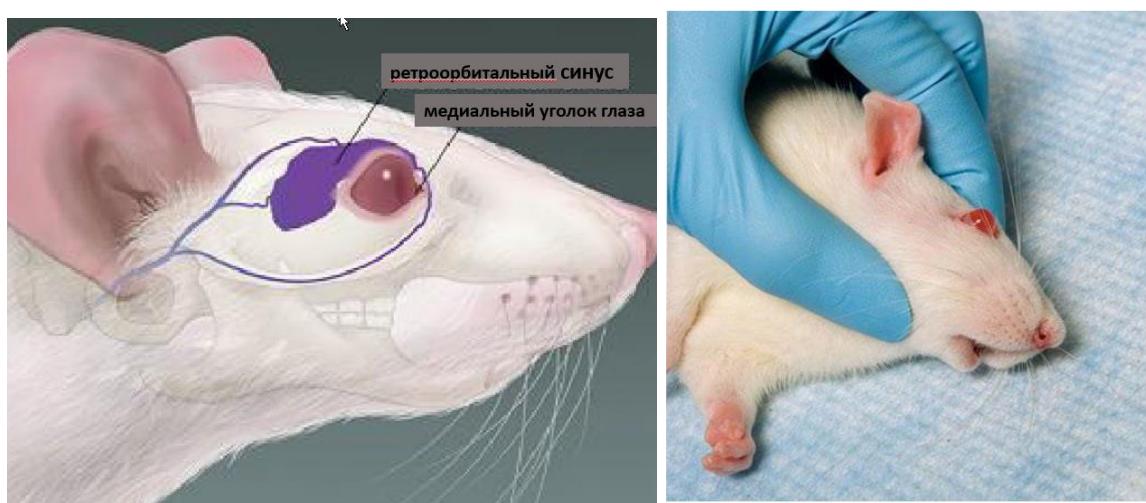
**Рис. 37.** Взятие крови из подкожной вены

Для сбора крови можно использовать микрогематокритные пробирки и микровете.

### *Ретроорбитальное кровопускание*

Ретроорбитальное кровопускание или кровопускание из орбитального синуса/сплетения (разрешено у крыс, с использованием соответствующей техники и анестезии. Опыт ветеринарного персонала показывает, что этот метод может привести к повреждению орбиты, слепоте и потенциально к смерти, если он выполнен неправильно. Эти методы с меньшей вероятностью нанесут вред животному и могут использоваться многократно для кровопускания. Чередование глаз для каждого кровопускания является обязательным, и между каждым кровопусканием должна быть неделя. Максимально разрешено два (2) кровопускания на глаз. Максимальный объем, взятый в течение двух недель, составляет 1,5% от массы тела. Кровопускание из орбитального синуса требует обучения и должно выполняться только на анестезированных животных.

На анестезированной крысе зафиксируйте голову между большим и указательным пальцами. Глаз должен слегка выступать (Рис. 38).



**Рис. 38.** Ретроорбитальное кровопускание

Используя гематокритную трубку у медиального угла орбиты глазного яблока, осторожно направьте трубку к задней части глазницы и поверните ее, чтобы проколоть синус и собрать кровь.

После сбора крови удерживайте веки закрытыми, чтобы дать возможность проколотому кровеносному сосуду свернуться, и нанесите офтальмологическую мазь на глаз.

### *Пункция сердца*

Это процедура, проводимая под анестезией (или вскоре после смерти)! Пункция сердца как метод взятия крови разрешена у всех видов при соблюдении следующих условий:

Животное должно находиться в хирургической стадии анестезии во время проведения процедуры. Животное НЕ должно выходить из анестезии после пункции. После процедуры животное может быть подвергнуто эвтаназии.

- Поместите животное в спинное положение на плоскую, твердую поверхность.
- Надежно удерживайте животное, поместив пальцы непосредственно под мечевидный отросток или на живот, чтобы предотвратить скольжение животного.
- Нарушьте герметичность шприца, затем введите иглу скосом вверх, проходя под грудную клетку и протыкая диафрагму.
- Осторожно потяните поршень шприца назад и направьте иглу к сердцу, внимательно следя за появлением крови в канюле шприца (Рис. 39). Под кожей можно сделать небольшие корректировки положения иглы, но следует соблюдать осторожность, чтобы избежать резких движений, предотвращая разрыв органов.
- Как только появится кровь, прекратите перемещение иглы и осторожно продолжайте тянуть поршень назад, ожидая наполнения шприца.

- Подтвердите эвтаназию, немедленно применив вторичный физический метод.

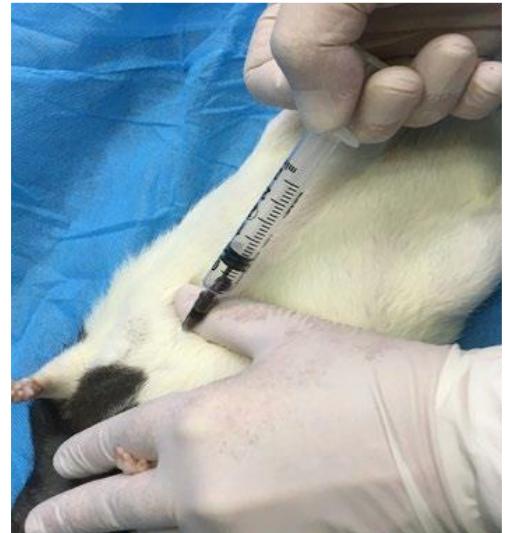
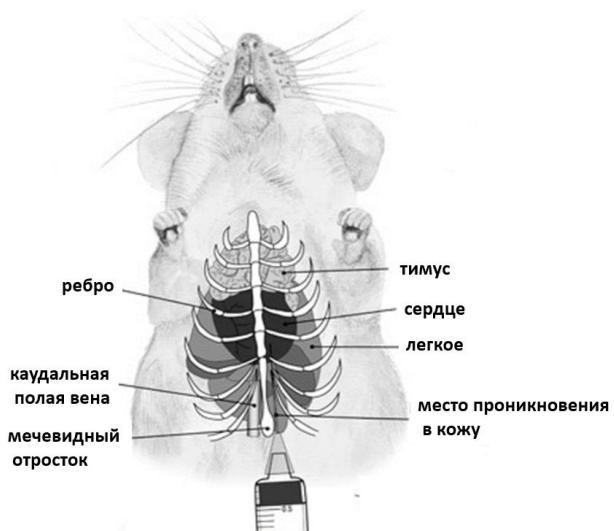


Рис. 39. Пункция сердца

## **5. ПРИНЦИПЫ ХИРУРГИИ У ГРЫЗУНОВ**

Типы хирургических операций:

- операция с выживанием – хирургическая процедура, после которой подразумевается выход животного из наркоза;
- операция без выживания – хирургическая процедура, после которой или во время которой планируется эвтаназия животного до его вывода из наркоза;
- большая операция – процедура с проникновением в полости тела или со значительными нарушениями физиологических функций, например, лапаротомия, краниотомия, торакотомия;
- малая операция – хирургическая процедура без проникновения в полости организма и вызывающая минимальные изменения физиологического состояния, например, ушивание ран, катетеризация периферических сосудов.

*Основные правила хирургической техники:*

- осторожное обращение с тканями;
- минимальное повреждение и рассечение тканей;
- использование необходимых инструментов;
- предотвращение кровопотери;
- использование соответствующих шовных материалов и правильное наложение швов.

### **5.1. Этапы подготовки к любому виду хирургических операций**

*1 этап – инструменты и материалы:*

1. стерилизация (автоклавирование) всех инструментов и материалов, контактирующих с операционным полем, особенно для проведения операций с выживанием животного (при проведении серии операций стерилизация нескольких наборов инструментов);

2. обработка дезинфицирующим раствором оборудования и материалов применяемых, но не контактирующие с операционным полем (хирургический столик, лампа);

Если нет возможности для каждого животного использовать индивидуальный (стерильный) набор инструментов, то перед проведением следующей операции, набор инструментов от первой операции обязательно погружается в дезинфицирующий раствор (в раскрытом виде, очищенные от крови и других органических загрязнений).

*2 этап – подготовка животного:*

1. лишение корма

- перед полостными операциями как минимум за 6 часов для крысы, за 4 часа для мыши, но не более, чем за 24 часа;
- перед малыми операциями нет;

2. не ограниченный доступ к воде;

3. удаление шерсти сбриванием или при помощи специального крема в местах планируемых разрезов (во избежание ожогов крем тщательно сбирается);

4. фиксация животного на хирургическом столике петлевидными узлами за лапы (при необходимости);

5. обработка операционного поля (кожи) асептиком от центра к периферии;

6. изоляция операционного поля стерильными салфетками.

Если операция будет длится более 30 минут, обеспечьте подогрев животного, т.к. анестезия может вызывать гипотермию.

## **5.2. Техника проведения хирургических операций**

Перед началом операции, необходимо убедится, что степень анестезии соответствует предполагаемому оперативному вмешательству.

При проведении операции обязательно необходимо контролировать состояние животного: наличие и частоту дыхательных движений, признаки гипотермии;

Для операционного доступа необходимо производить минимальный, но достаточный для достижения цели операции разрез;

В течение операции обязательно периодически необходимо орошать операционное поле стерильным изотоническим раствором, во избежание пересыхания тканей.

### **5.3. Техника наложения швов**

Правила наложения швов при полостных операциях на животных очень важны для обеспечения успешного заживления раны и минимизации риска инфекций.

#### *1. Наложение швов на разрез мышечной ткани:*

материала: абсорбируемые шовные материалы (например, полигликолид или полиглактид). Они со временем растворяются в организме, исключая необходимость в дальнейшем снятии швов, что важно при выполнении полостных операций.

типа шва: непрерывный шов (или цепной шов), так как он обеспечивает надежное соединение ткани, лучше удерживает края раны и способствует заживлению. Непрерывный шов обычно проще и быстрее накладывается, а также равномерно распределяет напряжение на шве, что снижает риск разрыва.

силы натяжения: не натягивать швы слишком сильно (!!!Важно), чтобы избежать ишемию тканей и затруднение заживления.

#### *2. Наложение швов на разрез кожи:*

Материал: абсорбируемые (например, полигликопрен или полиглекапрон), так и не абсорбируемые (например, нейлон, полипропилен), если животное в дальнейшем будет требовать снятия швов.

Тип шва: прерывистый шов, т.е. наложение нескольких отдельных швов на определённом расстоянии друг от друга, что позволит лучше контролировать натяжение и минимизировать вероятность инфицирования.

### *3. Обработка раны после наложения швов:*

- спиртовым раствором бриллиантовой зелени (антисептик, обладающий антимикробными свойствами) – способствует защите от бактериальных инфекций.
- террамицин (антибактериальная мазь) – помогает предотвратить инфекцию в области раны, обеспечивая длительное антисептическое действие.
- алюминий-содержащие спреи – образуют защитную плёнку и помогают уменьшить воспаление, ускоряя заживление кожи и снижая вероятность возникновения осложнений.

## **5.4. Послеоперационный уход за животными**

Послеоперационный уход за лабораторными крысами — это важный процесс, который помогает обеспечить их безопасное восстановление после хирургических вмешательств и предотвратить возможные осложнения.

Рекомендации по уходу за лабораторными крысами после операции.

1. Изоляция животного в чистой отдельной клетке;
2. Мониторинг состояния животного

- Температуры тела (при необходимости поддерживание на уровне 37–38 °C с помощью грелок).
- Жизненных показателей: дыхание, частоту сердечных сокращений и общее состояние животного.
- Признаки боли, стресса или гиповолемии (низкое артериальное давление).

- Пробуждение от наркоза (обычно через 30–60 минут после операции).
- При кровопотерях после операции введите внутрибрюшинно или подкожно 1-2 мл/100 г веса теплого (35-37 °C) стерильного изотонического раствора;

3. Обезболивание: введение инъекционно или через корм в дозах, соответствующих весу животного (например, бупренорфин или карпрофен).

Признаки боли: агрессивное поведение, отсутствие активности, затруднённое дыхание, отказ от пищи и воды.

4. Обеспечение свежей питьевой водой.

5. Кормление: обеспечить лёгкий и питательный корм небольшими порциями. При необходимости вводить с помощью шприца или через зонд.

Отказ от пищи может свидетельствовать о болевом синдроме или осложнениях, таких как инфекция.

6. Обработка ран: регулярная проверка на наличие признаков инфекции, таких как покраснение, отёк, выделения или неприятный запах и обработка антисептиками, такими как бриллиантовая зелень или террамицин.

7. Предотвращение укусов и повреждений ран: при необходимости использование защитных устройства, такие как пластиковые воротники или кожно-фиксирующие повязки.

8. Ограничение активности в первые 24–48 часов во избежание разрыва швов или других повреждений.

9. Снятие швов: в зависимости от типа операции и материала швов, их могут снять через 7–14 дней.

Правильный послеоперационный уход за лабораторными крысами требует внимательности и точности в выполнении всех процедур. Обеспечение животному комфортных условий для восстановления, контроль за состоянием раны, болью и питанием, а также предотвращение возможных

осложнений — всё это помогает крысе успешно восстановиться после операции и минимизировать риски.

## **6. НАБЛЮДЕНИЕ ЗА ЖИВОТНЫМИ ВО ВРЕМЯ ЭКСПЕРИМЕНТА**

### **6.1 Диагностика болевых синдромов**

Боль (по определению Международной Ассоциации Изучения Боли) — это неприятный чувствительный и эмоциональный опыт, ассоциированный с имеющейся или потенциальной травмой ткани.

Боль у животных называется ноцицепция.

Все люди и большинство животных имеют специализированные рецепторы с высоким порогом возбуждения, которые активируются исключительно повреждающими или потенциально опасными для тканей стимулами. Эти рецепторы играют ключевую роль в восприятии болевых ощущений, сигнализируя о травмах или угрозе повреждения тканей.

Рецепторы, реагирующие на такие «вредные» стимулы, названы ноцицепторами, а активируемые ими нейронные структуры ноцицептивной системой.

*Классификации боли:*

1. Клинической классификацией болевых синдромов или патофизиологической классификацией боли. Она основана на механизме происхождения боли и типе поврежденных тканей:
  - ноцицептивная боль — боль, вызванная активацией ноцицепторов, обычно вследствие повреждения тканей (например, после травмы или хирургического вмешательства);
  - нейропатическая боль — боль, возникающая вследствие повреждения или дисфункции нервной ткани (например, при повреждении периферических или центральных нервов);
  - воспалительная боль — боль, возникающая как результат воспалительного процесса, при котором выделяются медиаторы воспаления, активирующие ноцицепторы.

Эти классификации помогают различать виды боли в зависимости от её происхождения и механизмов, которые за ней стоят.

2. Классификацией по продолжительности боли. Она основана на длительности болевого синдрома:

- кратковременная боль — продолжается короткое время (секунды), обычно низкой интенсивности и быстро исчезает;
- постпроцедурная/постоперативная боль — длится дольше, чем кратковременная (часы, дни, иногда недели) и возникает после вмешательства, такого как хирургические операции или другие медицинские процедуры;
- продолжительная боль — продолжается в течение длительного времени (дни, недели), часто связана с экспериментальными моделями боли, где механизмы боли могут отличаться от постоперативной боли;
- хроническая боль — сохраняется на протяжении длительного времени, обычно более 3–6 месяцев, и часто продолжает существовать даже после того, как первоначальная причина боли была устранена или зажила, может быть результатом различных заболеваний, травм, нарушений функций нервной системы или воспалительных процессов.

Эта классификация помогает учитывать не только природу боли, но и её временные характеристики, что важно для разработки методов лечения и управления болевыми синдромами.

*Признаки острой боли у животных (признаки страдания животного):*

- попытки защититься, убежать или укусить;
- вокализация (писк, крик, стон) при пальпации или попытках проведения процедур на пораженном участке;
- облизывание, кусание, царапание, встряхивание или потирание пораженного участка;

- беспокойство, постоянное движение, смена позы (животное встает/ложится);
- отказ двигаться или вставать

## **6.2. Предотвращение излишнего дистресса у экспериментальных животных**

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.

*Клинические признаки дистресса у животных:*

- поверхностное, затрудненное, частое дыхание (аномальное дыхание);
- нарушение груминга, ухудшение состояния шерсти – сальность, неопрятность шерсти;
- остекленевшие или бегающие, расфокусированные глаза;
- сгорбленная поза, животное постоянно прячется в угол клетки или лежит на одном боку, малоподвижно;
- отсутствие реакции на внешние раздражители;
- частая смена веса (животное то худеет, то поправляется);
- отсутствие или изменение частоты выделения мочи и фекалий, изменение объема, цвета, запаха мочи, консистенции фекалий, рвота;
- частая и интенсивная вокализация.

*Гуманная экспериментальная практика:*

- использование в эксперименте наиболее подходящих и гуманных методов;

- составление четкого плана эксперимента для устранения нежелательных последствий от манипуляций, снижающего боль и дистресс;
- использование незамедлительных мер для предотвращения боли и дистресса;
- использование анестезии, анальгезии и транквилизаторов, подходящих для выбранного вида животных и целей эксперимента;
- проведение эксперимента в минимальные сроки;
- использование компетентного персонала для ухода за животными;
- использование подходящих методов эвтаназии.

*Причины, по которым животное должно быть досрочно выведено из эксперимента, включают:*

- потери веса от первоначального превышает 20%;
- потеря веса более чем 10% за 24 часа;
- рост опухоли, превышающий 10% от массы тела животного;
- развитие абсцесса;
- резкое падение температуры тела;
- животное покалечило себя;
- животное не способно самостоятельно есть и пить;
- животное находится в состоянии дистресса.

### **6.3. Техника получения биологического материала путем эвтаназии**

Правильное выполнение эвтаназии является обязательным с этической точки зрения и представляет собой нравственный долг. Надлежащая эвтаназия должна быть быстрой, минимизировать боль и страдания, а также надежно приводить к смерти. Необходимо учитывать практические вопросы, такие как степень технической сложности, время, необходимое для выполнения

процедуры, легкодоступное оборудование/ресурсы для выполнения процедуры, а также эстетику и человеческие эмоции.

Больные или травмированные животные, которых невозможно успешно вылечить или избавить от боли и страданий, должны быть немедленно подвергнуты эвтаназии.

Сотрудники, занимающиеся исследованиями, несут ответственность за эвтаназию больных, травмированных или находящихся в агонии животных, как только эти состояния замечены.

Существует несколько методов эвтаназии лабораторных животных, которые применяются в зависимости от состояния животного и требований исследования. Все эти методы должны соответствовать нормативным актам и

*Фармакологическая эвтаназия* (с помощью инъекций) – это один из наиболее гуманных методов. Он включает введение животному веществ, которое вызывает быстрое и безболезненное угнетение функций организма, приводящее к смерти. Одним из наиболее часто используемых препаратов является пентобарбитал натрия. Этот метод обеспечивает быстрое наступление бессознательности и отсутствие боли.

*Ингаляционная эвтаназия* – животным вводят газообразные вещества, такие как углекислый газ ( $\text{CO}_2$ ), которые вызывают удушье и быструю смерть. Углекислый газ, как правило, используется в качестве гуманного метода эвтаназии для грызунов, поскольку он минимизирует стресс и дискомфорт.

*Церебральная эвтаназия* – включает прямое воздействие на центральную нервную систему животного. Например, с помощью инъекции в мозг или физического воздействия на мозг (например, через перфорацию черепа). Он используется для того, чтобы быстро и эффективно привести к смерти, исключая страдания.

*Механическая эвтаназия* – включает физическое вмешательство, такое как разрушение мозга, перерезание шеи или спинного мозга. Этот метод требует высокой квалификации специалиста, чтобы избежать причинения боли и стресса животному. Хотя механическая эвтаназия может быть

эффективной, она применяется только в исключительных случаях, когда другие методы невозможны или менее предпочтительны.

*Подтверждение наступления смерти:*

- прекращение сердцебиения и дыхания;
- отсутствие рефлексов;
- снижение температуры тела ниже 25 С.

*Преимущества обезглавливания крыс и мышей:*

- самый быстрый, надежный и оптимальный метод эвтаназии;
- исключает негативное влияние фармацевтических препаратов на структуры органов и тканей, используются для забора тканей на исследование ультраструктурного уровня изменений при помощи электронной микроскопии;
- используется в сочетании с забором объема циркулирующей крови для дальнейшего исследования;
- не вызывает опасности для персонала, тогда как пары ингаляционного анестетика (эфир, изофлуран) могут быть опасны;
- используется для новорожденных животных и до 16 недель, учитывая их высокую устойчивость к гипоксии (ингаляционные препараты рекомендуется использовать только для введения в наркоз).

**Биологические характеристики крысы, зоотехнические параметры, параметры микроклимата, физиология и биохимия крыс**

<b>Категория</b>	<b>Параметры</b>
<b>Биологические характеристики крысы</b>	
Половая зрелость	60-70 дней
Физиологическая зрелость	80-90 дней
Продолжительность охоты	20-27 часов
Продолжительность жизни	2-3 года
Продолжительность беременности	16-23 (18) дня
Плодовитость	5-9 крысят в помете (8-14)
Продолжительность лактации	28-35 дней
Масса новорожденных животных (крыс)	3-6 г
Возраст прозревания животных (крыс)	14-17 дней
Возраст отсадки молодняка	21-35 дней
Половое соотношение (самки : самцы)	Племенное ядро — 1 : 1; Производство — 2 : 1
Масса тела взрослого животного	200-400 г
<b>Зоотехнические параметры</b>	
Площадь пола на одно животное (крысу)	150 кв. см/животное / 200-600 кв. см (в зависимости от условий)
Число крыс на одну клетку	Не более 10 животных
Расстояние между прутьями клетки	Не более 15 мм
Фронт кормления	2 см/животное
Фронт поения	1 см или 2 ниппельные поилки на 10 животное
Минимально необходимое количество подстилки в месяц на 1 животное	0,31 кг
<b>Нормы расхода корма</b>	
Взрослые подопытные животные и производственное поголовье	50 г/животное в сутки
Молодняк 40-130 г живой массы	15 г/животное в сутки
Молодняк 130-240 г живой массы	20 г/животное в сутки
Молодняк 240-350 г живой массы	25 г/животное в сутки
<b>Параметры микроклимата</b>	
Температура воздуха	20-22°C
Относительная влажность воздуха	50-60%
Нормы освещения	50 люкс

Количество воздуха на 1 животное	1,40 м <sup>3</sup> /ч/животное
Скорость движения воздуха	0,2 м/с
<b>Физиологические и биохимические показатели лабораторного животного (крысы)</b>	
Температура тела	38,5-39,5°C (37–38°C)
Частота дыхания	110–180 (85–) цикл/мин
Количество крови	76-90 мл/кг живой массы
Кровяное давление	100–130 мм рт.ст. (системическое)
Пульс	400–450 уд./мин (300)
Количество выделяемого кала	До 30 г/животное в сутки
Количество выделяемой мочи	2-2,5 мл/животное в сутки
Удельная масса мочи	1,02–1,04
Реакция мочи	Нейтральная
Масса мозга	0,87% от массы тела
Масса сердца	0,34% от массы тела
Масса легких	0,45% от массы тела
Масса почек	0,23% от массы тела
Масса надпочечников	13–38 мг
Масса щитовидной железы	23–28 мг (вес крысы 200 г)
Масса семенников	2,5 г (в среднем)
Масса поджелудочной железы	0,16% от массы тела
Эритроциты, млн/мкл	7,2–9,6
Лейкоциты, тыс./мкл	8–14
Лимфоциты, %	65–77
Моноциты, %	0,1–4
Нейтрофилы, %	13–30
Эозинофилы, %	0,1–1
Гемоглобин, г/дл	12–17
Гематокрит, %	40–50
Глюкоза, мг/дл	50–115
Креатинин, мг/дл	0,43
Билирубин, мг/дл	0,42

## **7. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Каркищенко Н.Н., Грачев С.В. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях – М.: Профиль-2С, 2010. – 15-22 с.
2. Линева А. Физиологические показатели нормы животных. Справочник. М.: Аквариум ЛТД, К.: ФГУИППВ, 2003. - 256 с.
3. Об утверждении Правил лабораторной практики: приказ Минздравсоцразвития РФ от 23.08.2010 № 708н // Рос. газ. - 2010. 6. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами ГОСТ 33216-2014
4. Руководство по работе с лабораторными животными для сотрудников ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, занятых проведением доклинических испытаний
5. Рыбакова А.В., Макарова М.Н. Методы эвтаназии лабораторных животных в соответствии с Европейской директивой 2010/63. Международный вестник ветеринарии. 2015; 2: 96-107.
6. Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев): постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 29 августа 2014 г. N 51 // Рос. газ. - 2015.- 6 февр. - N 24/1 (специальный выпуск).
7. Титова А.А., Билялов А.И., Киясов А.П., Титова М.А. Лабораторные животные для научных исследований. Учебно-методическое пособие: ФГАОУ ВО «Казанский федеральный университет», 2021. – С. 71
8. Chapel H. Basic rat handling and technique guide revised. UNC-Division of Comparative Medicine (DCM)2022 – P. 23
9. Hawk C.T., Leary S.L., Morris T.H. Formulary for Laboratory Animals, 3rd, Ed. 2005