

**Р.А. ИСЛАМОВ**

АО «Научный центр противоинфекционных препаратов»,  
Алматы

## ОРГАНИЗАЦИЯ МОНИТОРИНГА ЗДОРОВЬЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

УДК 614.9+636.028+57.082.2

Статус здоровья лабораторных животных (мышей, крыс, морских свинок и кроликов) является важным элементом качественного эксперимента. Есть бессимптомные инфекции, которые могут повлиять на результаты исследования. Поэтому очень важно, чтобы исследователь обратил внимание на состояние здоровья лабораторных животных. В статье содержится информация об организации контроля над состоянием здоровья лабораторных животных, диагностических методах, программе мониторинга здоровья и об оценке рисков.

**Ключевые слова:** лабораторные животные, здоровье лабораторных животных, патогенные микроорганизмы, мониторинг здоровья.

### Введение.

Многие инфекционные агенты, которыми могут быть заражены лабораторные животные, оказывают сильное влияние на организм, и как следствие, на результаты экспериментов [1-5]. Некоторые инфекции особенно те, которые протекают субклинически, влияют и на токсичность исследуемых веществ [6-7]. У инфицированных животных наблюдаются патологические изменения в тканях, часто невозможно оценить иммунологические показатели, а некоторые вирусы даже увеличивают частоту спонтанных опухолей у животных, что имеет значение при исследовании канцерогенной активности веществ [7,8]. Всё это делает интерпретацию результатов исследований сомнительной.

Поэтому проблемы микробиологического статуса и мониторинга здоровья поголовья лабораторных животных приобретают особую значимость в фармакологических и токсикологических исследованиях, когда полученные результаты могут быть экстраполированы на организм человека [2].

### Микробиологическая стандартизация.

Одним из критериев качества лабораторных животных является состояние их здоровья, и в частности степень зараженности различными инфекциями. Понятно, что некоторые резидентные микроорганизмы выполняют важную функцию в иммунитете и пищеварении. В связи с этим необходимо определиться с тем, чем животные могут быть заражены, а каких инфекций не должно быть. По рекомендации Федерации Европейских ассоциаций специалистов по работе с лабораторными животными (FELASA) был определен перечень патогенных микроорганизмов, которые не должны обнаруживаться в организме лабораторного животного, а также рекомендуемые методы их выявления (таблица 1) [9].

Таблица 1 – Перечень патогенных микроорганизмов для животных и методы их диагностики

Аббревиатура патогена	Полное название патогена	Метод диагностики
<b>Мыши и крысы</b>		
MHV	Вирус мышиногепатита	Серология
PARV	Парвовирус (rNS1-антиген)	
ROTA	Ротавирус	
MCMV	Мышиный цитомегаловирус	
TMEV	Мышиный вирус энцефаломиелита Тейлора	
PVM	Вирус пневмонии мышей	
SEND	Вирус Сендай (вирус мышей гемагглютинирующий японский)	Комплексные исследования, патология, серология
PULM	Вирус пневмонии мышей	
MAD	Мышиный аденовирус тип 1	
REO	Реовирус тип 3	
LCM	Вирус лимфоцитарного хориоменингита	
ECT	Экстремелии вирус или мышинной оспы	
HAN	Вирус Хантаан (возбудитель корейской геморрагической лихорадки)	
POLY	Вирус полиомы	
CAR	CAR-бацилла (возбудитель респираторных заболеваний)	
TYZ	Clostridium piliformis	
-	Citrobacter rodentium (кроме крысы)	Культивирование

Аббревиатура патогена	Полное название патогена	Метод диагностики
-	<i>Corynebacterium kutscheri</i>	То же
-	<i>Helicobacter</i> spp.	То же, а также ПЦР
-	<i>Mycoplasma</i> spp.	Серология
-	Pasteurellaceae	Культивирование
-	Salmonellae	То же
-	<i>Leptospira</i> spp.	«
-	Streptococci ( $\beta$ -hemolytic)	«
-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	«
<b>Крысы</b>		
RCV	Коронавирус крыс	Серология
-	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	Культивирование
-	<i>Streptobacillus moniliformis</i>	То же
<b>Морские свинки</b>		
-	Аденовирус морских свинок	Серология
-	Цитомегаловирус морских свинок	То же
TMEV	Мышиный вирус энцефаломиелита Тейлора	«
-	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	Культивирование
-	<i>Chlamydia psittaci</i>	Комплексные исследования
-	<i>Clostridium piliformis</i>	Патология, серология
-	Dermatophytes	То же
-	<i>Helicobacter</i> spp.	Культивирование, ПЦР
-	<i>Mycoplasma</i> spp.	То же
-	Pasteurellaceae	Культивирование
-	Salmonellae	То же
-	<i>Streptobacillus moniliformis</i>	«
<b>Зайцеобразные (кролики)</b>		
VHS	Вирус геморрагической болезни	Серология
-	Поксвирус	
-	Ротавирус	Культивирование
-	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	
-	<i>Clostridium piliformis</i>	
-	Pasteurellaceae	
-	Salmonellae	

Этот перечень довольно большой, хотя далеко не полный и может изменяться. В нем отсутствуют, например, норовирус или вирус Норволк, стафилококки, *Encephalitozoon cuniculi*, эндо- и экзопаразиты [5,9,11]. Также, производители СПФ-животных (specific pathogen-free, SPF) могут дополнять этот перечень и другими патогенами в зависимости от генетической характеристики и назначения использования этих животных в исследованиях. После определения перечня патогенных микроорганизмов, которые не должны выявляться среди поголовья лабораторных животных, возникает вопрос, как организовать мониторинг микробиологического статуса или здоровья животных.

#### Организация мониторинга здоровья лабораторных животных.

Для этого, в работу вивария или питомника должна быть внедрена специально разработанная программа мониторинга здоровья лабораторных животных. Как правило, её разрабатывает ветеринарный врач вивария. Программа мониторинга здоровья должна разрабатываться исходя из конкретных потребностей и особенностей организации, основываясь на оценке потенциальной опасности возможного заражения поголовья животных, количестве одновременного содержания лабораторных животных, длительности испытаний, требований национального законодательства и регуляторных документов, а также возможность тестирования на безопасность биотехнологической продукции (вакцин, сывороток, рекомбинантных белков, клеток и т.п.). Для исследований по стандарту Надлежащей лабораторной практики (GLP), в котором оговариваются требования к тестовым системам, программу мониторинга лучше согласовать в отделе по обеспечению качества. Предъявляемые требования к качеству и здоровью лабораторных животных используемых в испытаниях по GLP более строгие, чем для научных исследований. В то же время для некоторых научных экспериментов может потребоваться расширение или изменение списка микроорганизмов, которые не должны определяться.

При разработке программы мониторинга здоровья рекомендуется учитывать:

- конструкционные особенности вивария, включая возможность перекрёстной контаминации при движении персонала, животных и материалов;
- условия содержания животных (открытые клетки, индивидуальные вентилируемые клетки, изоляторы)
- групповое или индивидуальное содержание животных;
- возраст животных;

- видовой состав поголовья;
- иммунный статус животных;
- микробиологическую чистоту исследуемых веществ, включая биотехнологические продукты (которые могут быть источником заражения животных).

Желательно описать все возможные риски контаминации животных.

Программа мониторинга здоровья должна быть утверждена руководителем предприятия или подразделения. Эту программу рекомендуется пересматривать исходя из результатов проведенных исследований по определению состояния здоровья лабораторных животных и выявлению патогенных микроорганизмов, а также при изменении условий содержания лабораторных животных, но не реже одного раза в два года.

Вполне допустимо сокращение программы мониторинга здоровья для улучшенных конвенциональных животных в части перечня диагностируемых патогенов, представленного в таблице 1, но при условии наличия паспорта или сертификата здоровья, в котором должны быть указаны данные об отсутствии у животных следующих инфекционных агентов: *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Streptobacillus moniliformis*, *Leptospira spp.*, *Ectromelia virus*, *Lymphocytic choriomeningitis virus*, *Hantaan virus*, *Pox virus*). При этом животные могут быть заражены условно-патогенной микрофлорой. Дискуссионным остается вопрос выбора количества животных и частота мониторинга здоровья поголовья [12].

#### Определение количества животных для программы.

Существует несколько методов расчета необходимого числа животных для мониторинга, выбор которых зависит от общего количества поголовья, микробиологического статуса, конструктивных особенностей помещений и клеток, от результатов предыдущих исследований [2,13]. Для простого и оптимального расчёта на поголовье не менее 100 особей используют следующее уравнение:

$$\text{Размер выборки} = \log_{0,05} / \log N$$

где, 0,05 – уровень достоверности для 95 %, N – процент незаражённых животных.

Для быстрой оценки необходимого количества животных можно воспользоваться таблицей 2 [9].

Таблица 2 – Отношение размера выборки животных по программе мониторинга здоровья к доле инфицированного поголовья животных

Предполагаемая доля заражённого поголовья животных, %	Уровень достоверности результатов		
	95 %	99 %	99,9 %
	<b>Размер выборки животных при различном доверительном интервале</b>		
10	29	44	66
20	14	21	31
30	10	13	20
40	6	10	14
50	5	7	10

Если число животных окажется недостаточным, то оно может быть увеличено, но желательно использовать не менее десяти в каждой комнате содержания или стеллаже [12].

Могут применяться и другие способы расчёта выборки животных для использования их в мониторинге здоровья.

#### Содержание животных по программе.

Животные, используемые в программе мониторинга здоровья, должны содержаться в таких же условиях, что и всё поголовье животных. Возраст и начальный статус животных должны соответствовать характеристикам животных, для которых проводится мониторинг здоровья. Рекомендуемый возраст животных от пяти недель и старше. При использовании клеток открытого типа в каждой комнате должны быть клетки с животными по программе мониторинга здоровья лабораторных животных. Клетки распределяют в комнате так, чтобы увеличить вероятность переноса инфекционного агента.

Рекомендуется располагать клетки под диффузором вентиляционной системы, а также ближе к так называемым «мертвым зонам», где происходит слабый обмен воздуха или около воздухозаборника вентиляционной системы комнаты. Если животные содержатся в индивидуальных вентилируемых клетках, то клетки, как правило, располагаются внизу стеллажа, а их количество рассчитывается на общее число животных, содержащихся в этом стеллаже. На этикетке клетки должна содержаться необходимая информация для идентификации: номер клетки, название программы, вид, пол, количество и возраст животных, дата.

При смене подстилки в клетках с животными, пересадку животных используемых в программе мониторинга здоровья лабораторных животных в новые клетки необходимо осуществлять последней. При этом небольшое количество (около 30-60 см<sup>3</sup>) подстилки из других клеток добавляется в клетки с животными, используемых в программе. Грязный подстил из разных клеток распределяется среди клеток, в которых размещаются животные из программы. Это делается для того, чтобы увеличить вероятность заражения инфекционными агентами, которыми могут быть контаминированы животные из поголовья вивария.

Для увеличения контактного заражения инфекционными агентами некоторых животных, используемых в программе, иногда рекомендуется содержать в одной клетке с другими животными из поголовья либо подсаживать на одну-две недели, исключив при этом агрессивное поведение животных [9,11].

#### **Отбор биологических образцов на исследование по программе.**

Для выявления заболевания или инфекционного агента могут быть использованы целое животное или биологические образцы из этого животного (клетки, ткани, кровь, сыворотка, сперма, экскременты). Этот выбор зависит от метода выявления патогена, представленного в таблице 1.

Результаты морфологического и цито-гистологического исследования должны учитываться при дальнейшем исследовании животных по программе мониторинга здоровья лабораторных животных, которые могут потребовать увеличение выборки или частоты мониторинга.

Биологические образцы от лабораторных животных, предназначенных для выявления патогенов, исследуются методами: паразитологии, бактериального культивирования, серологии, иммуноферментного анализа или полимеразной цепной реакцией (далее – ПЦР).

При получении положительного результата следует исключить вероятность ложноположительных реакций. Для этого используют методы расчётов представленных в монографии [11,13].

При необходимости животные, используемые в программе, могут быть транспортированы в диагностическую лабораторию в транспортных клетках с соблюдением биоэтических принципов и правил асептики.

#### **Отчёт о мониторинге здоровья лабораторных животных.**

После получения результатов исследования на наличие патогенных микроорганизмов, ветеринарным врачом пишется отчёт о результатах мониторинга. В этом отчёте необходимо отразить следующую информацию о [9,11]:

- объекте (виварий, испытательная лаборатория, контактные данные);
- лабораторных животных (виды, линии, возраст, пол, количество поголовья на момент исследования);
- условиях содержания животных (барьерная система, тип клеток, групповое/индивидуальное содержание);
- санитарном режиме в виварии;
- типе поступившего на исследование образца: животное и/или биологические образцы из организма животного;
- дате и время отбора образца;
- способе доставки образца;
- способе консервации и хранения образца, если таковое возможно;
- предельно допустимом сроке хранения образца;
- методах исследования образца и количественное содержание выявленной микрофлоры в колониеобразующих единицах, если таковое возможно;
- выявленных особенностях патогенных микроорганизмов (измененная форма, данные об устойчивости, если такие исследования проводились);
- результатах патоморфологических исследований образца;
- данных из последнего исследования здоровья животных;
- дополнительной информации о состоянии здоровья поголовья животных.

При обнаружении зооантропонозных или опасных для человека инфекций делают хорошо заметную и однозначно идентифицируемую отметку в отчёте. После чего, решается вопрос о дальнейших действиях по недопущению и устранению инфекции.

Описанные мероприятия по организации и проведению мониторинга здоровья лабораторных животных не являются исчерпывающими и требуют дальнейшего изучения и развития. Важно привлекать опытных специалистов для консультаций, например из Федерации Европейских ассоциаций (FELASA).

#### **Заключение.**

Здоровье лабораторных животных является одним из важнейших критериев качества проводимых исследований. Многие инфекции протекают бессимптомно, либо клинические проявления болезней минимальны. Это делает затруднительным быструю диагностику состояния здоровья лабораторных животных. Кроме этого, инфекционные агенты вызывают изменения в организме животного, которые могут быть приняты за результаты влияния исследуемых веществ или процессов. Правильная и адекватная организация мониторинга здоровья поголовья лабораторных животных является залогом успеха проводимых научных и регуляторных исследований.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Turner P.V., Brab Th., Pekow C., Vasbinde M.A. Administration of substances to laboratory animals: routes of administration and factors to consider // J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci. – 2011. – Vol. 50. – No. 5. – P. 600-613.
- 2 Van Zutphen, V. Baumans, A.C. Beynen Principles of Laboratory Animal Science. – Amsterdam: Elsevier, 2001. – 416 p.
- 3 Wang R.F., Campbell W.L., Cao W.W., Colvert R.M., Holland M.A., Cerniglia C.E. Diagnosis of mouse hepatitis virus contamination in mouse population by using nude mice and RT-PCR // Mol. Cell. Probes. – 1999. – Vol. 13. – No. 1. – P. 29-33.
- 4 Nicklas W., Homberger F.R., Illgen-Wilcke B., Jacobi K., Kraft V., Kunstyr I. Mahler M. Meyer H. Pohlmeier-Esch G. Implications of infectious agents on results of animal experiments. Report of the Working Group on Hygiene of the Gesellschaft für Versuchstierkunde–Society for Laboratory Animal Science (GV-SOLAS) // Lab. Anim. – 1999. - Vol. 33. – Suppl. 1S. – P. 39–87.
- 5 Hansen A.K. Health Status and Health Monitoring. In Handbook of Laboratory Animal Science: Essential Principles and Practices. – N.-Y.: CRC Press, 2003. –285 p.
- 6 Baker D.G. Natural pathogens of laboratory mice, rats, and rabbits and their effects on research // Clin. Microbiol. Rev. – 1998. – Vol. 11. – No. 2. – P. 231-266.
- 7 Stout M.D., Kissling G.E., Suárez F.A., Malarkey D.E., Herbert R.A., Bucher J.R. Influence of Helicobacter hepaticus infection on the chronic toxicity and carcinogenicity of triethanolamine in B6C3F1 mice // Toxicol. Pathol. – 2008. – Vol. 36. – No. 6. – P. 783-794.
- 8 Gozalo A.S., Hoffmann V.J., Brinster L.R., Elkins W.R., Ding L., Holland SM. Spontaneous Staphylococcus xylosum infection in mice deficient in NADPH oxidase and comparison with other laboratory mouse strains // J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci. – 2010. – Vol. 49. – No. 4. – P. 480-486
- 9 Nicklas W., Baneux P., Boot R., Decelle T., Deeny A.A., Fumanelli M., Illgen-Wilcke B. FELASA (Federation of European Laboratory Animal Science Associations Working Group on Health Monitoring of Rodent and Rabbit Colonies). Recommendations for the health monitoring of rodent and rabbit colonies in breeding and experimental units // Lab. Anim. – 2002. – Vol. 36. – No. 1. – P. 20-42
- 10 Ohsugi T., Matsuura K., Kawabe S., Nakamura N., Kumar J.M., Wakamiya M., Morikawa S., Urano T. Natural infection of murine norovirus in conventional and specific pathogen-free laboratory mice // Front. Microbiol. – 2013. – Vol. 30. – P. 4-12.
- 11 Mahler M., Berard M., Feinstein R., Gallagher A., Illgen-Wilcke B., Pritchett-Corning K., Raspa M. FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, guinea pig and rabbit colonies in breeding and experimental units // Lab. Anim. – 2014. –Vol. 48. – No. 3. – P. 178–192.
- 12 Nicklas W. International harmonization of health monitoring // ILAR J. – 2008. – Vol. 49. – No. 3. – P. 338-346
- 13 Hansen A.K., Nielsen D.S. Handbook of Laboratory Animal Bacteriology. Second Edition. – N.-Y.: CRC Press, 2000. – 300 p.

**Р.А. ИСЛАМОВ**

*«Инфекцияға қарсы препараттардың ғылыми орталығы» АҚ, Алматы*

### **ЗЕРТХАНАЛЫҚ ЖАНУАРЛАРДЫҢ ДЕНСАУЛЫҒЫНА МОНИТОРИНГ ҰЙЫМДАСТЫРУ**

**Түйін:** Зертханалық жануарлар денсаулығының дәрежесі (тышқандар, егеуқұрықтар, теңіз шошқалары мен қояндар) сапалы тәжірибе жасаудың маңызды элементі болып табылады. Зерттеу нәтижелеріне әсер етуі мүмкін белгісі жоқ инфекциялар бар. Сондықтан, зерттеушілердің зертханалық жануарлардың денсаулық жағдайын мұқият зерт салып қарағаны маңызды. Мақалада зертханалық жануарлардың денсаулық жағдайын диагностикалық әдістермен, денсаулық мониторингі бағдарламасымен бақылауды ұйымдастыру туралы және тәуекелдерді бағалау жайлы мәліметтерді қамтиды.

**Түйінді сөздер:** зертханалық жануарлар, зертханалық жануарлардың денсаулығы, патогенді микроорганизмдер, денсаулық мониторингі

**R.A. ISLAMOV**

*JSC «Scientific Centre for anti-infectious drugs», Almaty*

### **THE ORGANIZATION OF HEALTH MONITORING OF LABORATORY ANIMALS**

**Resume:** A health status of laboratory animals (mice, rats, guinea pigs and rabbits) it is important segment for qualitative experiment. There are infections showing no symptoms that can affect the study results. Therefore, it is of great importance that researcher pay close attention to the health status of laboratory animal. This article provides information about the organization of health monitoring in animal colonies, diagnostic methods, health monitoring program, and risk assessment.

**Keywords:** laboratory animals, laboratory animal health, pathogenic microorganisms, health monitoring