



Консультант GLP-PLANET 2022

мнение
фармацевтической отрасли

Консультант GLP-PLANET 2022

Мнение фармацевтической отрасли

Монография

Санкт-Петербург, 2022

УДК 619:616-07

ББК 48.6

DOI [10.57034/978-5-6048955-0-4](https://doi.org/10.57034/978-5-6048955-0-4)

Научные редакторы:

Макаров Валерий Геннадьевич,
д-р мед. наук, профессор,

президент Организационного комитета GLP-PLANET

Шестаков Владислав Николаевич,
директор ФБУ «Государственный институт
лекарственных средств и надлежащих практик»

Рецензенты:

Гайковая Л.Б., зав. кафедрой биологической и общей химии им. В.В. Соколовского,
ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России, д-р. мед. наук

Гузевых Л.С., руководитель группы токсикологии GMP процессов, дирекции по качеству
Группы компаний «Р-Фарм», д-р биол. наук

Голованова Н.Э., доцент кафедры физиологии,
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», канд. биол. наук

Прусаков А.В., заведующий кафедрой внутренних болезней животных им. А.В. Синева,
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»,
д-р вет. наук, доцент

Стуков А.Н., с.н.с. научного отдела инновационных методов терапевтической онкологии,
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова»
Минздрава России, д-р мед. наук

Стукова М.А., зав. лабораторией векторных вакцин,
ФГБУ «НИИ Гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава РФ, канд. мед. наук

Шабанов П.Д., зав. отделом нейрофармакологии имени академика РАМН С. В. Аничкова,
ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», д-р. мед. наук, профессор

Щипакин М.В., заведующий кафедрой анатомии животных, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский
государственный университет ветеринарной медицины», д-р вет. наук, доцент

Консультант GLP-Planet 2022. Мнение фармацевтической отрасли: монография / Под ред.
В.Г. Макарова и В.Н. Шестакова. — Санкт-Петербург: НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», 2022. — 248 стр. с илл.
ISBN 978-5-6048955-0-4

В монографии «Консультант GLP-PLANET. Мнение фармацевтической отрасли» приводятся мнения ведущих экспертов фармацевтической отрасли — специалистов в области доклинических исследований, представителей фармацевтических компаний и регуляторных органов.

ISBN 978-5-6048955-0-4

© Коллектив авторов, 2022

Издание выпущено под редакцией
Организационного комитета GLP-Planet.



МАКАРОВ
Валерий Геннадьевич,
профессор, д.м.н.

Президент Организационного комитета
GLP-Planet

Главный редактор
«Консультант GLP-Planet»



ШЕСТАКОВ
Владислав Николаевич

Директор ФБУ «Государственный
институт лекарственных средств
и надлежащих практик»

ОГЛАВЛЕНИЕ

Достижения и ближайшие цели GxP для устойчивого развития фармацевтической отрасли в ЕАЭС	9
Обеспечение качества в лабораториях разного типа	32
Дизайн фармакологического эксперимента. Внедрение принципов ARRIVE в работу исследовательских центров	52
Референтные интервалы. Показатели нормы у лабораторных животных	72
Исследования COVID-19	96
Зоотехния и ветеринарное обеспечение	111
Технологические процессы в доклинических исследованиях. Рискориентированный подход	152
Приложение. Определение степени тяжести процедур	174

От организационного комитета

Уважаемые читатели, представляем вашему вниманию ежегодное издание «Консультант GLP-PLANET».

Предыдущее издание «Консультант GLP-PLANET» показало, что затронутые на конференции GLP-PLANET темы оказались актуальными и полезными для развития и совершенствования доклинических исследований. Идеи, заложенные в издании 2021 г., получили свое развитие и в 2022 г., а изменившаяся геополитическая ситуация заставляет специалистов отрасли по-новому взглянуть на исследования лекарственных препаратов, в том числе с точки зрения фармацевтической безопасности страны.

Темами конференции в 2022 г. стали: важна ли преемственность надлежащих практик GxP, и какие цели в этой области нужно ставить в ближайшее время; едины ли подходы к обеспечению качества в лабораториях разного типа; зачем нужны референсные интервалы и какова их роль при оценке полученных результатов. Традиционно существенное внимание было уделено вопросам зоотехнии, ветеринарному обеспечению и технологическим процессам в виварии. Благодаря участию Ассоциации специалистов по лабораторным животным (Rus-LASA) и проведенным тренингам в 2022 г., эти темы были освещены наиболее полно.

Также на конференции обсуждались вопросы дизайна фармакологического и токсикологического экспериментов с использованием живых тест-систем, который должен учитывать правила ARRIVE, предложенные Национальным центром замены, уточнения и сокращения количества животных в исследованиях. На базе этих правил и работа доклинического центра, и качество отчетов могут быть существенно улучшены, а трансляционность исследований в конечном итоге может оказаться выше. Эти же аспекты оказались крайне актуальны и в условиях пандемии COVID-19, когда вопрос использования релевантных видов животных для тестирования новых вакцин и лекарственных препаратов стоял особенно остро.

«Консультант GLP-PLANET» создан для свободного обмена точками зрения, когда представители научного сообщества высказывают суждения относительно динамически изменяющихся национальных и международных требований в области надле-

жащих лабораторных практик, пожелания по оптимизации проведения отдельных типов исследований, делятся личным опытом. «Консультант GLP-PLANET» — это постоянно обновляемый источник информации, средство коммуникации, благодаря которому можно обмениваться достоверной информацией относительно доклинических исследований.

Организационный комитет благодарит всех участников конференции, спонсоров, авторов настоящего издания и выражает надежду на активное участие всех профильных специалистов фармацевтической отрасли в работе конференции GLP-PLANET IV.

Достижения и ближайшие цели GxP для устойчивого развития фармацевтической отрасли в ЕАЭС

<https://doi.org/10.57034/978-5-6048955-0-4-s1>

Р.А. Абрамович¹, П.В. Буренков², А.С. Кириченко³, В.Г. Макаров⁴, А.В. Матвеев⁵, Р.Р. Ниязов⁶, Д.А. Рождественский⁷, Е.И. Саканян⁸, К.М. Саканян², Т.И. Ситько⁹, М.М. Соттаева², И.И. Тернинко¹⁰, И.В. Фальковский², Е.В. Флисюк¹¹, С.В. Ходько⁴, Н.Н. Чадова², В.Н. Шестаков², В.С. Шнаушта¹²

¹ ФГБОУ ВПО МГУ им. М.В. Ломоносова,

² ФБУ «ГИЛС и НП» Минпромторга России,

³ Центр доклинических и трансляционных исследований ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России,

⁴ АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»,

⁵ АНО «Национальный научный центр фармаконадзора», кафедра клинической фармакологии и терапии им. Б.Е. Вотчала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России,

⁶ ООО «Центр научного консультирования»,

⁷ Департамент технического регулирования и аккредитации ЕЭК,

⁸ АО «НПО «Микроген», Фармакопейный комитет ЕАЭС,

⁹ Фармацевтический инспекторат Минздрава Республики Беларусь,

¹⁰ ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России,

¹¹ Центр контроля качества лекарственных средств ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России,

¹² РГП на ПХВ «Национальный центр экспертизы лекарственных средств и медицинских изделий» КМ и ФК МЗ РК

Результаты работы фармацевтической отрасли за 2021–2022 гг.

В 1-м издании Консультанта GLP-PLANET, созданном по итогам проведения первых двух конференций GLP-PLANET в 2020 и 2021 г., в контексте обеспечения качества доклинических исследований, были рассмотрены такие важные вопросы, как:

- регуляторная база в доклинических (неклинических) исследованиях, в том числе в **фармацевтической разработке**;
- различия в понятиях и алгоритмах сертификации и аккредитации, вопросы **инспектирования** испытательных центров на предмет соблюдения надлежащих практик;

- **становление системы менеджмента качества**, в том числе кратко был представлен обзор смежных с надлежащей лабораторной практикой стандартов ISO. Обсуждение данных вопросов уже к 2022 г. принесло ряд практических результатов.

Фармацевтическая разработка

На сегодняшний день в фармацевтической отрасли сформировано четкое понимание того, что качество лекарственного средства не может быть обеспечено только путем его контроля при выпуске, а должно быть заложено на стадии разработки этого средства. Так, еще в 1992 г. впервые появилась концепция, изложенная экспертом по качеству Джозефом М. Джураном в публикациях о качестве через дизайн [Quality by Design (QbD)]. Качественное и инновационное проектирование лекарственной формы и лекарственного препарата — один из трех универсальных процессов трилогии Джурана (планирование, управление и повышение качества), в которой он описывает, что требуется для достижения прорыва в производстве и разработке новых продуктов, услуг и процессов. Джозеф М. Джуран считал, что качество лекарственного препарата можно и должно планировать, и большинство кризисов в области производства лекарственных препаратов и проблем их качества связано с неудачным способом его планирования.

Модель качества через дизайн (Джозеф М. Джуран)

1. Установить цели и задачи дизайна проекта.
2. Определить рынок и клиентов, которые будут целевыми.
3. Открыть для себя рынок, клиентов и потребности общества.
4. Разработать функции нового дизайна, которые будут соответствовать потребностям.
5. Разработать или переработать процессы для создания функций.
6. Разработать элементы управления процессом, чтобы иметь возможность перенести новые проекты в эксплуатацию.

Данная концепция нашла свое отражение в руководствах Международного совета по гармонизации технических требований к лекарственным средствам [The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH)] Q8, Q9 и Q10 и широко используется в работе FDA. Суть концепции, предложенной FDA, заключается в том, что качество должно быть встроено в продукт с учетом имеющихся знаний о продукте и процессе, с помощью которого он разрабатывается и производится, а также со знанием рисков, связанных с производством продукта, и способов лучше всего минимизировать эти риски.

Елена Ивановна Саканян, директор по науке АО НПО «Микроген», член Фармакопейного комитета ЕАЭС, в своем докладе «GLP, как гарант качества лекарственных средств на этапе их разработки, производства и применения» сообщила, что согласно этой концепции качество лекарственного средства можно улучшить на протяжении всего его жизненного цикла. Принцип QbD нацелен на дальнейшее совершенствование лекарственного средства и подходов к его производству при использо-

вании современных технологий и накопленного опыта. Цель разработки препарата в рамках программы QbD — прежде всего установление характеристик, которыми должен обладать разрабатываемый препарат, чтобы оказывать определенный терапевтический эффект. Разработка лекарственного средства должна быть научно обоснована, систематизирована и базироваться на оценке рисков, которые могут возникнуть на пути достижения намеченных целей.

Принцип QbD может служить основой, связывающей исследование и разработку, производство и регуляторные требования с помощью общего базового языка, сформировавшегося при применении научных подходов с учетом рисков. В то же время это служит основным вызовом для фармацевтической промышленности, все процессы которой фиксированы во времени, а любые изменения процесса или материала неизбежно приводят к необходимости их обоснования и подтверждения. Принцип «качество, запланированное при разработке» появился в фармацевтической отрасли вследствие концептуального подхода, ставящего задачу превратить отрасль в эффективный, динамичный, гибкий сектор промышленности, производящий высококачественные лекарственные средства без постоянного контроля со стороны регулирующих органов и являющийся неотъемлемой частью современного подхода к фармацевтическому качеству.

В случае типовых технологических процессов к разработке стратегии производства нового лекарственного средства можно использовать подход, основанный на ранее полученных данных и основных технологических стадиях, использованных для производства других лекарственных препаратов того же типа, что подразумевает так называемое платформенное производство.

Руководство ICH Q11 характеризует платформенное производство как подход к разработке стратегии производства нового лекарственного средства, начинающийся с производственных процессов, аналогичных тем, которые используются тем же производителем для изготовления других лекарств того же типа. Данный подход используется при производстве вакцин.

Далее в ходе конференции профессор кафедры фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова» Римма Александровна Абрамович в своем выступлении [«Современные требования к фармацевтической разработке биологических препаратов»](#)¹ детализировала концепцию QbD применительно к фармацевтической разработке биотехнологических лекарственных средств (табл. 1).

Целевой профиль качества продукта желательно формировать даже до того, как выбран кандидат, который станет этим продуктом. Такое заблаговременное планирование помогает избежать дорогостоящих ошибок в будущем и снизить риски провала при фармацевтической разработке.

В отличие от малых молекул для биопрепаратов нельзя экстраполировать результаты ускоренного эксперимента по определению стабильности на более длительный срок хранения. Для биопрепаратов регистрация возможна только после предоставления результатов экспериментов по изучению стабильности в реальных условиях в течение всего срока хранения.

¹ <https://conf-glp-PLANET.com/wp-content/uploads/2022/07/abramovich-ra.pdf>

Принцип QbD применительно к фармацевтической разработке биотехнологических лекарственных средств

Этапы процесса фармацевтической разработки (QbD)

1. Профиль целевого продукта качества (QTPP): определите профиль целевого продукта, который иллюстрирует использование, безопасность и эффективность продукта
2. Критические показатели качества (КПК): определите целевой профиль для использования в качестве количественного заместителя аспектов клинической безопасности и эффективности продукта во время разработки
3. Оценка рисков: связывайте показатели качества сырья и критические параметры процесса (CPP) с CQA и выполняйте оценку рисков
4. Пространство разработки: разработайте пространство разработки (используя дизайн экспериментов). Установите связи между несколькими параметрами и качеством продукта
5. Постоянное улучшение: управление жизненным циклом продукта, включая постоянное улучшение. Делайте упор на понимание продукта и процесса, а также на контроль процесса, основанный на надежных научных данных
6. Управление процессом фармацевтического производства можно регулировать в пространстве проектирования и, следовательно, он надежен, управляется с помощью стратегии управления, в которой используются современные статистические методы управления процессом. Это обеспечивает подход к валидации и непрерывной проверке процессов на основе жизненного цикла

В рамках этой парадигмы для продукта создается целевой профиль его качества (*quality target product profile, QTPP*), который включает описание целевого показателя, популяции пациентов, способа введения, методов производства и прочих аспектов, влияющих на качество.

Внедрение парадигмы QbD в разработку биопрепаратов только начинается, и, скорее всего, за этим подходом будущее (рис. 1).

Инспекторат

Эксперты в сфере надлежащей лабораторной практики в ходе 2-й ежегодной конференции GLP-PLANET обсуждали варианты развития фармацевтической отрасли в России и ЕАЭС и системы регулирования GLP как одного из ее элементов. В дискуссии приняли активное участие представители крупных фармацевтических компаний-экспортеров, доклинических лабораторий, контрактных исследовательских организаций, а также представители Евразийской экономической комиссии, инспекторатов государств — членов ЕАЭС и эксперты ФБУ «ГИЛС и НП».

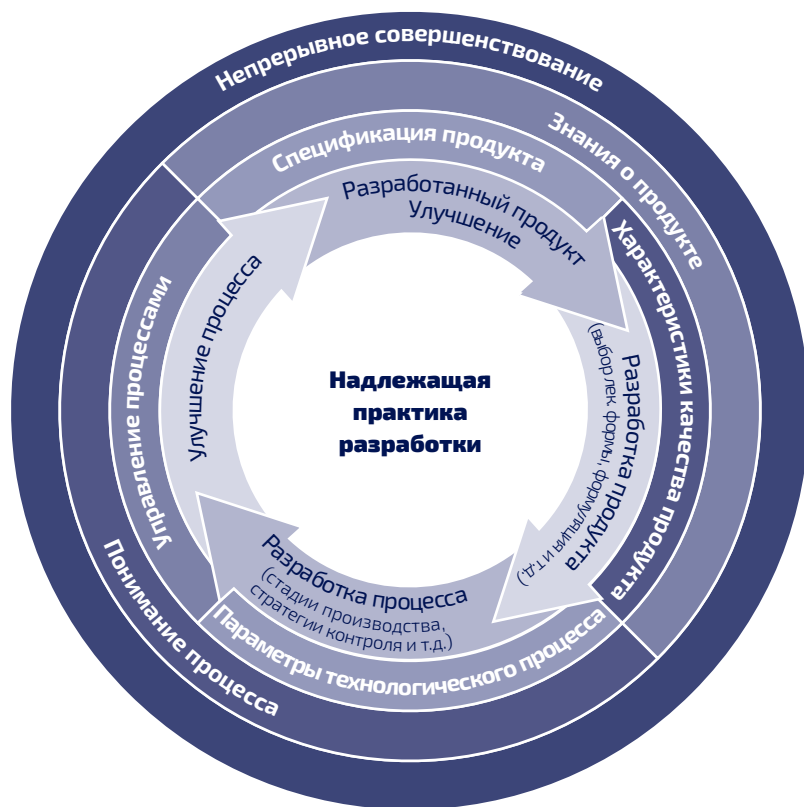


Рис. 1. Парадигма Quality by Design

На 3-й ежегодной конференции GLP-PLANET показано, что вектор внимания на сегодняшний день направлен на множественные отклонения, выявляемые в ходе инспекций, которые обусловлены ошибками еще на стадии проектирования зданий. Игорь Всеволодович Фальковский, начальник отдела инжиниринга и проектирования ФБУ «ГИЛС и НП», в ходе своего выступления [«Опыт независимой экспертизы фармацевтических производств ФБУ «ГИЛС и НП»](#)² сообщил, что в соответствии с решением Совета ЕЭК от 03.11.16. № 77, часть I, глава 1, п. 1.4 во время расследования отклонений, предполагаемых дефектов продукции и других проблем, должен применяться соответствующий уровень анализа основных причин данных несоответствий.

В докладе обсуждались несоответствия, выявленные на производстве лекарственных средств, первопричиной которых с высокой вероятностью являлись неоптимальные технические решения на этапе проектирования. В связи с этим крайне важно понимать, что разработка проекта промышленного объекта, проведение технических аудитов и профессиональные консультации специалистов являются необходимыми этапами планирования в целях обеспечения соответствия GxP в будущем.

² <https://conf-glp-PLANET.com/wp-content/uploads/2022/07/falkovskij-iv.pdf>

Таблица 2

Сводные данные по проводимым инспекциям в странах ЕАЭС

Государство — член союза	Инспекторы	Виды инспекций
Республика Армения	Научный центр экспертизы лекарств и медицинских технологий (НЦЭЛМТ) им. Академика Э. Габриеляна	GMP, GDP
Республика Беларусь	Отдел фармацевтической инспекции Минздрава Республики Беларусь, РУП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»	GCP, GMP, GDP, GPP, GVP
Республика Казахстан	Комитет медицинского и фармацевтического контроля Минздрава Республики Казахстан, РГП на ПХВ «Национальный центр экспертизы лекарственных средств и медицинских изделий»	GCP, GMP, GDP, GVP
Республика Кыргызстан	Департамент лекарственных средств и медицинских изделий при Минздраве Кыргызской Республики	GMP, GDP
Российская Федерация	Департамент развития фармацевтической и медицинской промышленности Министерства промышленности и торговли Российской Федерации, ФБУ «ГИЛС и НП».	GMP
	Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения	GDP, GVP

Участники дискуссии конференции GLP-PLANET II утверждали, что необходимо создание эффективного механизма, включающего реализацию системной государственной политики в отношении соблюдения установленных требований GLP, верификацию декларации о соответствии GLP, ведение реестра испытательных центров и др. Ключевым элементом такого механизма на наднациональном уровне могут стать фармацевтические инспекторы государств — членов ЕАЭС.

Мадина Магомедовна Соттаева, заместитель начальника «УИПЛС и Э» по вопросам ЕАЭС, в своем выступлении «[Преемственность и последовательность GxP в ЕАЭС](#)»³ представила данные по уже проводимым инспекциям в странах ЕАЭС (табл. 2).

Подробнее об органе инспекции ФБУ «ГИЛС и НП», о его структуре, функциях и возможностях рассказали в докладе «[Орган инспекции ФБУ «ГИЛС и НП» — структура, функции, возможности, перспективы](#)»⁴, Наталия Николаевна Чадова, началь-

³ https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/9-00-sottaeva-m.m.-glp-konf-3-gils-i-np-2021_rus_16x9.pdf

⁴ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/grishina-yui.pdf>

ник управления по инспектированию производства лекарственных средств и экспертизе, и ее коллега Юлия Ивановна Гришина, руководитель органа инспекции ФБУ «ГИЛС и НП».

Начальник отдела координации работ в сфере обращения лекарственных средств и медицинских изделий Департамента технического регулирования и аккредитации Евразийской экономической комиссии Дмитрий Анатольевич Рождественский представил в своем сообщении [«Система надлежащих практик Союза: организация, преемственность и взаимодействие»](#)⁵ важнейшие аспекты преемственности в ходе жизненного цикла лекарственного средства надлежащих практик, принятых в рамках Евразийского экономического союза (табл. 3).

Система менеджмента качества.

Риск-ориентированный и процессный подход. Значимость стандартов ISO

В ходе пленарной сессии GLP-PLANET III говорили о важности процессного подхода к выполнению доклинических исследований в соответствии с высокими стандартами качества, регламентированными принципами ISO и GLP. Конференция GLP-PLANET III (7-я сессия) была посвящена данному вопросу, где были отражены такие важные процессы, как кормление и поение животных, витальные методы забора крови, критические фазы доклинических исследований и др.

Очевидно, данным вопросам уделяется недостаточно внимания в отрасли в целом, хотя именно от процессного подхода и управления рисками при их внедрении в испытательных центрах существенно зависит качество получаемых данных при проведении доклинических исследований. В Консультанте GLP от 2021 г. в разделе «Обеспечение качества доклинических исследований» (Александров А.В. и др., 2021) была представлена одна из возможных моделей процессного подхода для испытательного центра доклинических исследований, и приведены регламентирующие документы для каждого из процессов. В настоящем издании хотелось бы больше внимания уделить социальной значимости использования регламентирующих стандартов ISO.

Как можно узнать из [официального источника](#)⁶, стандарты ISO охватывают огромный спектр видов деятельности. Рассмотрим наиболее близкие стандарты к сфере деятельности испытательных центров, выполняющих доклинические исследования.

- Стандарты управления качеством помогают работать более эффективно и снижать количество сбоев в работе.
- Стандарты экологического менеджмента помогают уменьшить воздействие на окружающую среду, количество отходов и идти по пути устойчивого развития.
- Стандарты охраны труда и техники безопасности помогают снизить количество несчастных случаев на производстве.
- Стандарты ИТ-безопасности помогают защитить конфиденциальную информацию.

⁵ <https://conf-glp-PLANET.com/wp-content/uploads/2022/07/rozhdestvenskij-da.pdf>

⁶ <https://www.iso.org/ru/standards.html>

Таблица 3

Важнейшие аспекты преемственности надлежащих практик в ходе жизненного цикла лекарственного средства, принятых в рамках Евразийского экономического союза

Практика	Особенности применения и ключевые особенности документа, регламентирующего вид надлежащей практики
GLP	<ul style="list-style-type: none"> • Регламентирует доклинический этап разработки ЛС. • Обязательна при изучении токсичности ЛС, не является обязательной при изучении безопасности и эффективности ЛС. • Не содержит протоколов (методик) проведения доклинического исследования ЛС. • Сертификация выполняется на лабораторию и на отдельное исследование. Допускается наличие нескольких систем аккредитации. • Национальная форма сертификата для лаборатории. • Ретроспективная оценка и признание результатов исследований
GMP	<ul style="list-style-type: none"> • Основной текст регламентирует общую организацию производства, производство фармсубстанций и применение концепции рисков. • Приложения (1-19) регламентируют аспекты организации производства отдельных видов ЛС. • Сертифицируется производственная площадка. Единая форма сертификата Союза
GDP	<ul style="list-style-type: none"> • Вводится понятие ответственного лица. • Вводится документирование работы с рекламациями и расследование цепи событий. • Вводится право двусторонних взаимных аудитов производитель—дистрибьютор. • Не имеет системы сертификации
GVP	<ul style="list-style-type: none"> • Содержит положения из разделов А и В Европейских модулей [ICH guideline M4 (R4) on common technical document (CTD) for the registration of pharmaceuticals for human use — organisation of CTD]. • Включает требования к построению мастер-файла системы фармаконадзора производителя ЛС. • Включает требования к формированию сигнала о безопасности и работы с сигналом на всех этапах. • Включает требования к формированию спецификации по безопасности, план управления рисками (ПУР), периодический обновляемый отчет по безопасности (ПООБ) для производителей ЛС. • Не имеет системы сертификации

Примечание. ЛС — лекарственное средство.

Стандарты управления качеством

Серия стандартов ИСО 9000 затрагивает различные стороны управления качеством. Стандарты содержат рекомендации и инструментарий для компаний и организаций, которые хотят, чтобы их продукция и услуги **постоянно отвечали требованиям заказчика, а качество постоянно улучшалось.**

ISO 9001 устанавливает критерии системы менеджмента качества и является единственным стандартом в своей серии, по которому можно пройти сертификацию (хотя это не является обязательным требованием). Его может использовать **любая организация независимо от ее размера и сферы деятельности.** Больше 1 млн компаний и организаций более чем в 170 странах мира сертифицированы на соответствие стандарту ISO 9001.

Этот стандарт основан на ряде принципов менеджмента качества, таких как клиент-ориентированность, мотивация и вовлеченность руководства, **процессный подход** и постоянное совершенствование. Эти элементы более подробно объясняются в принципах менеджмента качества ИСО. Применение ISO 9001 помогает гарантировать, что заказчики стабильно получают качественную продукцию и услуги, а в случае доклинических исследований — надлежащим образом организованный эксперимент, по мере проведения которого оформляется отчет о научно-исследовательской работе.

Качественно выполненное доклиническое исследование и правильно оформленные результаты (отчет о НИР) дают следующие преимущества.

- Качество и воспроизводимость полученных в исследовании данных.
- Формирование концепции проведения клинических испытаний на основании результатов доклинических исследований.
- Положительные результаты экспертизы регистрационного досье лекарственного средства при осуществлении регистрационных действий регулятором.

Все вышесказанное очень выгодно для бизнеса!

Стандарты экологического менеджмента

Серия стандартов ISO 14000 содержит практические инструменты для различных экологически ответственных компаний и организаций.

ISO 14001:2015 содержит критерии к системам менеджмента окружающей среды и, опираясь на эти критерии, можно пройти сертификацию. Он может быть использован **любой организацией независимо от деятельности или сектора.**

Применение ISO 14001:2015 предоставляет заинтересованным сторонам гарантию того, что влияние на окружающую среду будет минимальным.

По стандарту ISO 14001 было получено более 300 000 сертификаций в 171 стране по всему миру.

В случае испытательного центра и фармацевтического производства основными отходами могут быть химические вещества (отходы класса Г), способные нанести значимый экологический вред.

Стандарты охраны труда и техники безопасности

Для тех организаций, которые серьезно относятся к повышению безопасности сотрудников, снижению рисков на рабочем месте и созданию более безопасных условий труда, существует стандарт ISO 45001.

Согласно данным Международной организации труда (МОТ), более 7600 человек умирают ежедневно ввиду несчастных случаев на рабочем месте и их последствий. Именно поэтому комитет экспертов по охране труда и технике безопасности ИСО разработал международный стандарт, основной целью которого является снижение высокого показателя смертности на рабочем месте. Данный стандарт соответствует другим системным подходам к управлению, таким как ISO 14001 и ISO 9001. ISO 45001 опирается на успешные результаты других международных стандартов в данной области, таких как OHSAS 18001, Руководство ILO-OSH (Руководство по системам управления охраной труда) МОТ, различные национальные стандарты и международные трудовые стандарты и конвенции МОТ.

В фармацевтической отрасли необходимо оценивать риски в случаях воздействия на персонал химических веществ, патогенов (микробиологические исследования или синтез биопрепаратов на производстве) и др.

Стандарты ИТ-безопасности

Серия стандартов ISO/IEC 27000 обеспечивает информационную безопасность организаций.

Внедрение серии стандартов в деятельность организации будет способствовать безопасности таких данных, как финансовая информация, интеллектуальная собственность, сведения о сотрудниках или информация, предоставленная третьими сторонами.

ISO/IEC 27001 — один из наиболее известных стандартов данной серии, отвечающих требованиям системы управления информационной безопасностью (ISMS).

ISMS является системным подходом по управлению конфиденциальной информацией в компании таким образом, чтобы она находилась в безопасности. В данную систему входит персонал, производимые процессы и ИТ-системы, объединенные путем внедрения процессов риск-менеджмента. Механизм может помочь небольшим, средним и крупным предприятиям в поддержании информационной безопасности.

Таким образом, очевидно, что основой (фундаментом) эффективной системы менеджмента качества являются международные стандарты ISO, позволяющие учитывать отраслевую специфику в виде различных надлежащих практик.

На сегодняшний день многие испытательные центры приняли для себя именно эту модель системы менеджмента качества и активно внедряют ее.

Так, на конференции GLP-PLANET III Анастасия Сергеевна Кириченко, директор комплекса «Центр доклинических и трансляционных исследований», руководитель Испытательного центра ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России, в своем докладе «Опыт внедрения риск-ориентированной системы менеджмента качества в доклинические сервисы Комплекса ЦДТИ» подробно рассказала об опыте внедрения риск-ориентированной системы менеджмента качества и процессного подхода, а также о непростом, но эффективном пути разработки внутренней нормативной документации.

Валерий Геннадьевич Макаров, научный руководитель АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», в своем выступлении [«Актуальные вопросы доклинических исследований в Российской Федерации»](#)⁷ на пленарной сессии представил иллюстрацию систе-

⁷ <https://conf-glp-PLANET.com/wp-content/uploads/2022/07/makarov-v.g..pdf>



Рис. 2. Системы менеджмента качества (СМК) в доклинических исследованиях

мы менеджмента качества, где выделены виды систем менеджмента качества относительно их применения в ходе выполнения доклинических исследований (рис. 2).

Также Валерий Геннадьевич представил приведенную ниже схему перехода от одних стандартов надлежащих практик к последующим (рис. 3).



Рис. 3. Переход от одних стандартов надлежащих практик к последующим

Итогом преимущества надлежащих практик является собственно регистрационное досье на лекарственное средство, где в случае выполнения всех необходимых исследований с соблюдением правил надлежащих практик имеется полная научно обоснованная информация, и обеспечена прослеживаемость всего жизненного цикла лекарственного средства.

О значимой роли риск-ориентированного подхода в сфере фармаконадзора сообщил в своем докладе [«Роль доклинических исследований для подготовки документов по фармаконадзору»](#)⁸ Александр Васильевич Матвеев, исполнительный

⁸ <https://conf-glp-PLANET.com/wp-content/uploads/2022/07/matveev-av.pdf>

директор АНО «Национальный научный центр фармаконадзора», доцент кафедры клинической фармакологии и терапии им. Б.Е. Вотчала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. Александр Васильевич рассказал, что «Система фармаконадзора» (pharmacovigilance system) — система, организуемая держателями регистрационных удостоверений лекарственных препаратов и уполномоченными органами в сфере фармаконадзора с целью выполнения задач и обязанностей по фармаконадзору, предназначенная для:

- контроля безопасности лекарственных препаратов;
- своевременного выявления всех изменений в оценке соотношения польза—риск лекарственных препаратов;
- разработки и внедрения мер по обеспечению применения лекарственных препаратов при превышении пользы над риском.

На сегодняшний день система менеджмента качества в доклинических исследованиях находится на стадии формирования, несмотря на, казалось бы, вышедшие в прошлом столетии стандарты. Осознание того, что все виды доклинических исследований, включая поисковые, можно и нужно выполнять качественно, приходит только сейчас. Об этом свидетельствуют новые стандарты и рекомендации, которые продолжают выпускаться и обсуждаться мировым научным сообществом. Так, документ, посвященный дизайну фармакологического эксперимента и внедрению принципов ARRIVE в работу исследовательских центров, разработанный международной рабочей группой, в которую вошли исследователи из академических кругов и специалисты, связанные с промышленным производством, спонсоры, редакторы журналов, методологи и статистики, впервые был издан в 2010 г. В 2020 г. вышло 2-е издание с комментариями, детализирующими каждый пункт рекомендаций, которое было опубликовано в 7 ведущих научных журналах, рассматривающих вопросы доклинических исследований.

Подробно о данных вопросах коллеги дискутировали на сессии, посвященной дизайну фармакологического эксперимента.

*«...Никогда еще состояние медицины не было так совершенно,
так всеобъемлюще, так развито, как теперь...»
X.B. Гуфеланд, 1793*

В продолжении обсуждения важнейших вопросов обеспечения качества, а следовательно, и эффективности лекарственных средств в настоящем издании акцент сделан на следующие, не менее важные вопросы о преимуществах надлежащих практик, которым было уделено значительное внимание в ходе пленарной сессии конференции GLP-PLANET в 2022 г.

- Стандартные образцы.
- Подготовка персонала.
- Благополучие лабораторных животных и др.

Сегодняшняя геополитическая ситуация заставляет российскую фармацевтическую отрасль взглянуть по-новому на эти вопросы и выстраивать внутреннюю и внешнюю систему обеспечения и признания GxP-практик. Акцент на эти вопросы

был сделан в докладе [«Технологический суверенитет и неклинические исследования лекарственных средств»](#)⁹ Аркадия Николаевича Мурашева.

О развитии и становлении системы надлежащих практик в государствах ЕАЭС рассказали Валентина Станиславовна Шнаушшта (Республика Казахстан) [«Опыт организации и проведения исследований на соответствие принципов GLP»](#)¹⁰ и Татьяна Ивановна Ситько [«Становление системы надлежащих практик \(GxP\) в Республике Беларусь»](#)¹¹.

Надлежащая лабораторная практика (Good laboratory practice — GLP) представляет собой систему норм, правил и указаний, направленных на обеспечение согласованности и достоверности результатов лабораторных доклинических (неклинических) исследований.

Однако не следует рассматривать данный стандарт как отдельно существующий. Надлежащие практики (GxP) неразрывно связаны в единую систему, и специалисты, работающие в сфере одной из практик, непременно должны быть осведомлены о смежных направлениях.

Основным связующим звеном всех надлежащих практик является собственно лекарственное средство от момента его разработки до поступления в аптечную сеть и далее потребителю.

Крайне важно осознавать, что в результате фармацевтической разработки наработываются опытные партии лекарственных средств, и в доклинические исследования (GLP) поступают именно они. В клинические исследования должны поступать препараты, производство и хранение которых осуществляется в соответствии с правилами надлежащей производственной практики (GMP). После регистрации лекарственного средства для всех последующих исследований уже используются препараты, поступившие с производства. При этом между этапами получения опытных образцов и до момента серийного производства проходит этап трансфера или масштабирования, который представляет собой значительные риски, при этом не всегда существует гарантия сохранности технологии изготовления и как итог — количественно-качественных характеристик лекарственного средства.

Следующие значимые риски после производства связаны с логистикой и условиями транспортировки (GSP) лекарственных средств, соблюдения условий хранений до момента их поступления в аптечную сеть (GDP) и к конечным потребителям (GPP).

Взаимосвязь основных надлежащих практик в жизненном цикле лекарственного средства представлена на рис. 4.

Эта концепция была отражена и в докладе директора по науке АО НПО «Микроген», члена Фармакопейного комитета ЕАЭС Елены Ивановны Саканян «GLP как гарант качества лекарственных средств на этапе их разработки, производства и применения». По ее мнению, современная концепция обеспечения качества лекарственных средств включает совокупность надлежащих практик (GxP), которые обеспечивают единство принципов выполнения процессов на всех этапах жизненного цикла лекарственного средства.

⁹ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/murashev-an.pdf>

¹⁰ <https://conf-glp-PLANET.com/wp-content/uploads/2022/07/shnaukshta-vs.pdf>

¹¹ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/sitko-ti.pdf>

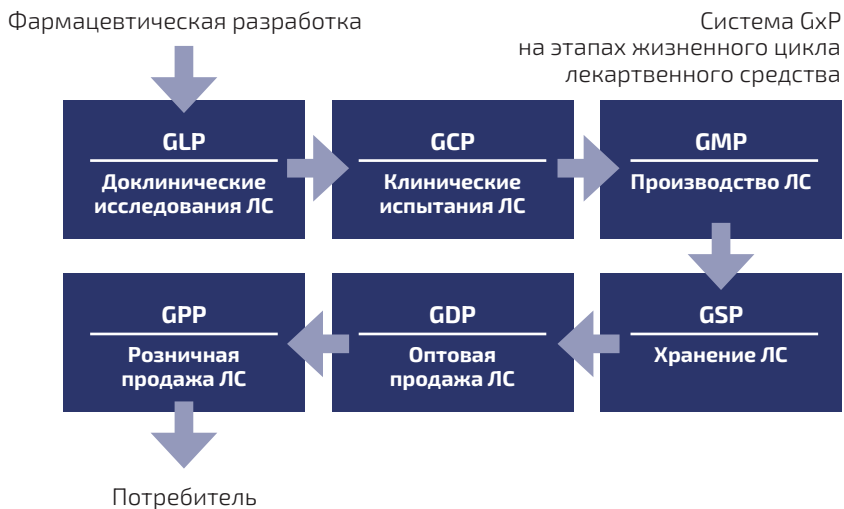


Рис. 4. Взаимосвязь основных надлежащих практик в жизненном цикле лекарственного средства (ЛС)

Стандартные образцы

Основопологающий принцип надлежащих практик состоит в том, чтобы качество лекарственных средств закладывалось еще в процессе их разработки и производства, что в последующем гарантирует эффективность и безопасность применения.

Весь процесс разработки, изучения и производства лекарственных средств сопровождается использованием стандартных образцов, это дает возможность соотнести исследуемое средство с конкретной молекулой, а также количественно определить его и возможные примеси и, как следствие, гарантирует эффективность и безопасность применения.

В соответствии с Федеральным законом № 61-ФЗ стандартные образцы — вещества, посредством сравнения с которыми осуществляется контроль качества исследуемых лекарственных средств с помощью физико-химических и биологических методов в целях подтверждения их соответствия требованиям нормативной документации.

Таким образом, стандартные образцы также являются связующим звеном между всеми надлежащими практиками.

В своем выступлении [«Стандартные образцы и их роль в системе стандартизации и контроле качества лекарственных средств на предприятиях отечественной фармацевтической отрасли»](#)¹² Карен Маисович Саканян, советник директора ФБУ «ГИЛС и НП», подробно рассказал о существующих определениях, обозначениях,

¹² <https://conf-glp-PLANET.com/wp-content/uploads/2022/07/sakanyan-karen-m.pdf>

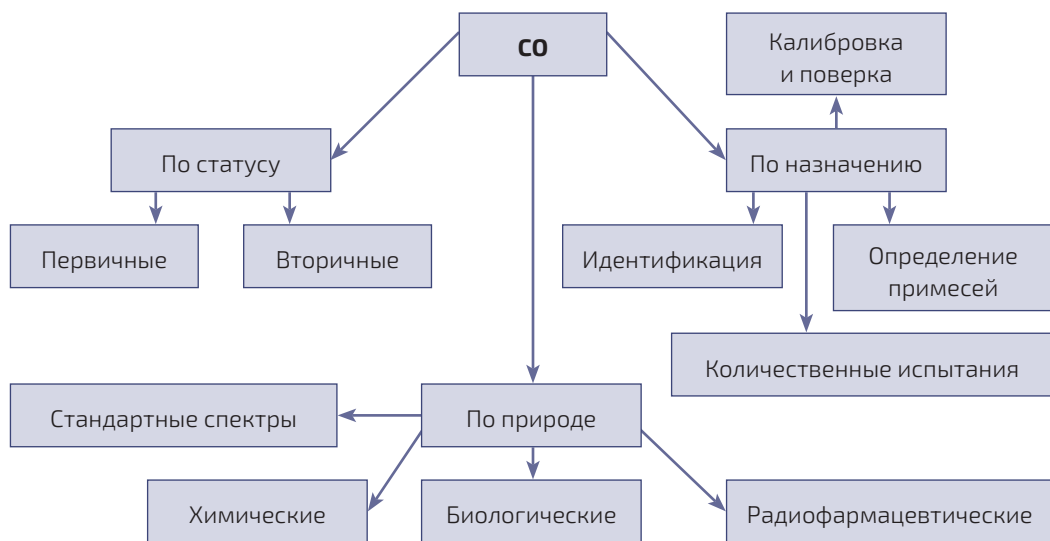


Рис. 5. Общая классификация стандартных образцов (СО)

классификациях стандартных образцов и об их применении как в Российской Федерации, так и за рубежом. Основная классификация приведена на рис. 5.

В соответствии со статьей 21, п. 9 Федерального закона от 26 июня 2008 г. № 102 «Об обеспечении единства измерений» Государственная служба стандартных образцов состава и свойств веществ и материалов (ГССО), находящаяся в составе Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии, осуществляет деятельность по разработке, испытанию и внедрению стандартных образцов состава и свойств веществ и материалов в целях обеспечения единства измерений на основе применения указанных стандартных образцов, а также по ведению соответствующих разделов Федерального информационного фонда по обеспечению единства измерений. Схема деятельности ГССО приведена на рис. 6.

Особое место в деятельности ГССО занимают стандартные образцы, которые необходимы для контроля качества при производстве лекарственных препаратов. Подавляющее большинство используемых отечественными фармацевтическими предприятиями стандартных образцов импортного производства (преимущественно EDQM, USP, LGC и др.), что обусловлено использованием в нормативной документации аналитических методик контроля качества лекарственных средств ведущих зарубежных фармакопей. Иностранные стандартные образцы действующих веществ и примесей постоянно [используются в рутинном контроле качества каждой серии лекарственного средства](#)¹³ как для собственно относительных методов анализа, так и для аттестации вторичных стандартных образцов. В настоящее время в связи со сложившимися экономическими условиями иностранные произ-

¹³ <https://newprospect.ru/news/opinions/aleksandr-semyenov-rossiyskie-farmkompanii-mogut-zakryt-do-90-rynka-no-im-nado-pomoch/>

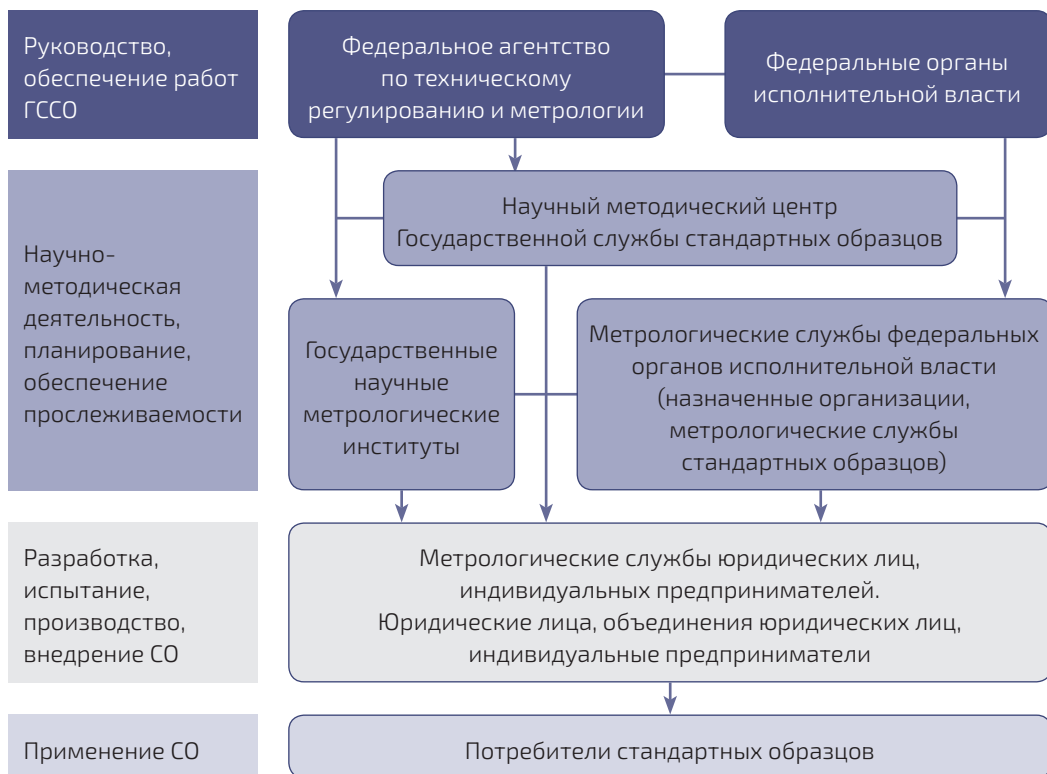


Рис. 6. Схема деятельности ГССО

водители прекращают поставки в Россию этой продукции, что [требует наполнения собственного банка стандартных образцов](#)¹⁴. По состоянию на июнь 2022 г. в нашей стране стандартные образцы в количестве нескольких десятков [выпускают ФГБУ «Национальный центр экспертизы средств медицинского применения»](#)¹⁵, ФГУП «Московский эндокринный завод»¹⁶ и «Активный компонент»¹⁷. Однако данные производители не покрывают колоссальную потребность в данном виде продукции как в количественном, так и в ассортиментном выражении. Так, только для списка жизненно важных лекарственных препаратов (ЖНВЛП) необходимо разработать и аттестовать около 800 образцов! ФГБУ «Национальный центр экспертизы средств медицинского применения» уже получил запросы более чем на 47 000 стандартных образцов.

Данный вопрос был рассмотрен Инной Ивановной Тернинко, начальником испытательной лаборатории Центра контроля качества лекарственных средств (ЦККЛС)

¹⁴ <https://gxpnews.net/2022/03/zapadnye-kompanii-prekrashhayut-postavki-standartnyh-obrazczov-v-rossiyu/>

¹⁵ https://www.regmed.ru/content/page/Registry-SPhRS_Chem-smp

¹⁶ <https://endopharm.ru/product/standartnye-obraztsy/>

¹⁷ <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/19>

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, в выступлении [«Лаборатории контрольного анализа. Проблемы и перспективы»](#)¹⁸, которая отметила острую необходимость наработки стандартных образцов примесей действующих веществ, а также миксов стандартных образцов, например, для оценки пригодности хроматографической системы и так далее, а также обратила внимание на важность координации действий различных ведомств при осуществлении разрешительной деятельности. Так, в частности, необходимо осуществить взаимодействие органов Росаккредитации, в сферу компетенции которой входит сертификация независимых лабораторий по контролю качества лекарственных средств, с Минздравом в части признания фармакопейных стандартных образцов.

Также в своем видеообращении важность вопроса разработки и аттестации стандартных образцов подчеркнул Владислав Николаевич Шестаков — директор ФБУ «ГИЛС и НП».

Персонал

Компетентность и квалификация персонала, выполняющего доклинические исследования, была и остается важной составляющей этой работы.

В ходе 2-й ежегодной конференции GLP-PLANET (2021) были широко представлены отдельные курсы повышения квалификации для специалистов в области доклинических исследований, которые проводят ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России и АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ».

За истекший календарный год появилось еще некоторое количество доступных курсов повышения квалификации специалистов в сфере доклинических исследований. Данную информацию, взятую из открытых источников сети Интернет, представила специалист по валидации и статистике АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» Светлана Валерьевна Гущина на международной выставке фармацевтической отрасли России (IPHEB Russia Международная выставка и форум по фармацевтике и биотехнологиям) в апреле 2022 г. (табл. 4).

Особенностям подготовки специалистов по доклиническим исследованиям за рубежом посвящен доклад Равиля Рашидовича Ниязова (ООО «Центр научного консультирования») [«Проблемы профессионального образования в доклинических исследованиях»](#)¹⁹.

Главным отличием профессиональной подготовки специалистов в России и США является базовое образование специалистов, вовлеченных в доклинические исследования. В США — в этой отрасли в роли токсиколога преимущественно работают ветеринарные врачи, в России базовое образование очень разнится — это биологи, микробиологи, биохимики, химики, врачи и даже физики, математики, программисты и статистики.

¹⁸ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/terninko-ii.pdf>

¹⁹ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/niyazov-rr.pdf>

Таблица 4

Курсы повышения квалификации для специалистов в сфере доклинических исследований
(из открытых источников сети интернета на июль 2022 г.)

Организатор	Наименование программы
ПМГМУ им. И.М. Сеченова	<p>Доклинические, токсикологические исследования лекарственных средств («Good Laboratory Practice» — GLP).</p> <p>Организация клинических и неклинических лабораторий на основе системы менеджмента качества (СМК) и надлежащей лабораторной практики (GLP)</p>
THE QARP	<p>Good Laboratory Practice.</p> <p>Good Clinical Laboratory Practice</p>
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»	<p>Правила организации и проведения доклинических исследований лекарственных средств — GLP</p>
Российский университет дружбы народов	<p>Требования к проведению доклинических и клинических испытаний. Мониторинг безопасности лекарственных средств</p>
NBScience	<p>Надлежащая лабораторная практика — GLP</p>
НКЦТ им. С.Н. Голикова	<p>Методологические основы организации доклинических исследований в соответствии с принципами надлежащей лабораторной практики (GLP) ОЭСР</p>
«НМИЦ им. В.А. Алмазова»	<p>Качественный биомедицинский эксперимент</p>
СПХФУ	<p>Правила организации и проведения доклинических исследований.</p> <p>Основы надлежащей лабораторной практики (GLP)</p>
АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»	<p>Специалист в области доклинических исследований</p>
МНОЦ МГУ им. М.В. Ломоносова	<p>Валидация компьютеризированных систем при производстве ЛС.</p> <p>Гармонизация подходов к фармацевтической разработке.</p> <p>Инструментальные и биологические фармакопейные методы анализа.</p> <p>Правила надлежащей производственной практики GMP ЕАЭС.</p> <p>Производство, упаковка и маркировка лекарственных средств по ЕАЭС.</p> <p>Регистрация лекарственных средств по требованиям ЕАЭС.</p> <p>Фармацевтическая микробиология.</p> <p>Фармацевтическая разработка и производство суппозиториев.</p> <p>Фармацевтическая система качества.</p> <p>Фармацевтический инжиниринг</p>

Образование в США является двухуровневым для таких специалистов, как врач, фармацевт (провизор) и ветеринар, аналогичная система существует в некоторых странах Евросоюза, например, Нидерландах.

Первый уровень предусматривает 4-летнее общеуниверситетское образование, в рамках которого будущему ветеринару необходимо пройти курсы pre-vet (курсы, необходимые для поступления в ветеринарную школу, включают изучение биологии, биохимии, общей и органической химии, генетики, математического анализа, физики, статистики). Оптимальной специализацией для дальнейшего поступления в ветеринарную школу (так называемый major) является биология, а также химия/биохимия.

Равиль Рашидович привел примерную программу ветеринарной школы по специальности «доктор ветеринарной медицины» University of California (UC) Davis.

1-й год обучения.

- Основы (гистология, общая патология, биохимия, фармакология и популяционное здоровье).
- Иммунология/гематология/коагуляция.
- Фармакология/питание/токсикология, опорно-двигательный аппарат, неврология/органы чувств/поведение, желудочно-кишечный тракт, метаболизм.
- Профессиональные и клинические навыки, мини-ротация в клиническом госпитале ветеринарной медицины.

2-й год обучения.

- Мочевыделительная система, сердечно-сосудистая и дыхательная система, эндокринная и репродуктивная системы, онкология, кожа, болезни иммунитета и инфекционные заболевания.
- Популяционное здоровье.
- Клинические основы.
- Профессиональные и клинические навыки.
- Мини-ротация в клиническом госпитале ветеринарной медицины.

3-й год обучения.

- Направление «некрупные животные».
- Направление «крупные животные».
- Сравнительная ветеринария.
- Анестезия/хирургия, базовый комплекс (законодательство, этика, регуляторика, бизнес, коммуникации и медицина катастроф).
- Мелкие лабораторные млекопитающие, клиническая патология, клиническая ротация, птицы/рептилии, сельскохозяйственные птицы, сельскохозяйственные животные, лошади, экзотические животные.

4-й год обучения.

- Клинические ротации.

Все 4 года обучения сконцентрированы исключительно на ветеринарной медицине и почти не включают непрофильные курсы, кроме непродолжительных занятий, касающихся бизнеса и коммуникаций.

В дополнение к ветеринарному образованию токсикологи обычно получают дополнительное специализированное образование в рамках магистратуры.

Магистерские программы для токсикологов в целом принимают любых выпускников, имеющих образование в области Life Sciences (биологи, фармацевты, фармакологи), однако наиболее продуктивной является комбинация ветеринарного и токсикологического образования.

Таким образом, базовое ветеринарное образование в США предусматривает 8-летнее обучение.

Отдельные элементы зарубежной системы образования могут быть переняты отечественными специалистами в сфере основного и дополнительного профессионального образования.

Так, в ходе конференции GLP-PLANET III Елена Владимировна Флисюк, проректор по научной работе ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России, сообщила в своем выступлении [«Актуальные вопросы подготовки кадров для надлежащей фармацевтической разработки»](#)²⁰, что университет успешно внедрил магистерскую программу «Доклинические исследования». Она рассказала, что:

- форма обучения очная;
- выпускающая кафедра фармакологии и клинической фармакологии;
- руководитель программы — проф., доктор мед. наук Сергей Владимирович Оковитый;
- цель образовательной программы — подготовка специалистов для организации доклинических исследований.

Существуют специальные дисциплины магистерской программы «Доклинические исследования».

- Основы доклинических исследований.
- Организация работы медико-биологической клиники (вивария).
- Основы фармакокинетики и фармакодинамики лекарственных средств.
- Основы фармацевтической разработки.
- Доклинические исследования фармакокинетики и фармакодинамики лекарственных средств.
- Доклинические исследования общей токсичности.
- Доклинические исследования специфической токсичности.
- Качественный и количественный анализ испытуемых субстанций.
- Современные методы анализа в доклинических исследованиях.

Представители [Академии надлежащих практик](#)²¹ подробно представили программу повышения квалификации «Оценка соответствия испытательных центров требованиям правил GLP», которая может быть полезна не только инспекторам, но и сотрудникам службы обеспечения качества для качественного проведения внутренних инспекций и аудитов.

Помимо развития компетенций у персонала, необходим и контроль эффективности сотрудников. Валентина Станиславовна Шнаушта, заведующая лабораторией фармакологических испытаний РГП на ПХВ «Национальный центр экспертизы лекарственных средств и медицинских изделий» Министерства Здравоохранения Республики Казахстан, предложила в своем выступлении [«Опыт организации и про-](#)

²⁰ <https://conf-glp-PLANET.com/wp-content/uploads/2022/07/flisyuk-ev.pdf>

²¹ <https://gxp-academy.org/>

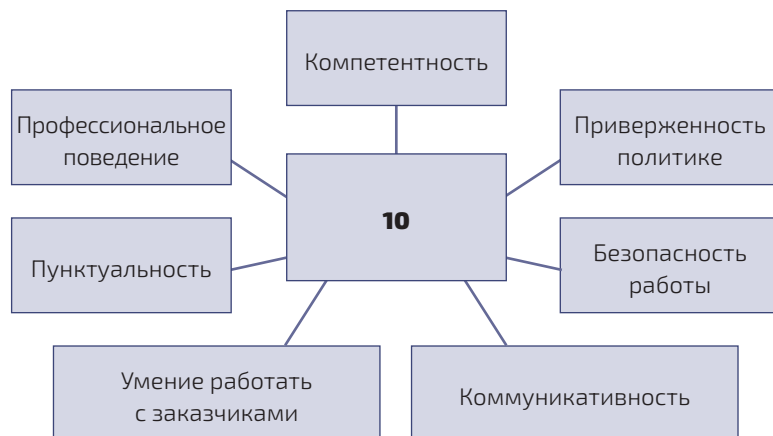


Рис. 7. Оценка эффективности сотрудников испытательного центра

[ведения исследований на соответствие принципам GLP»²²](#) интересный вариант оценки эффективности сотрудников (рис. 7).

Также сотрудники ФБУ «ГИЛС и НП» В.А. Смирнов и В.В. Горячкин представили на конференции новое издание [«Методические рекомендации по обучению/переподготовке персонала при внедрении и совершенствовании фармацевтической системы качества»²³](#).

Настоящие методические рекомендации применяются для создания системы обучения и переподготовки кадров при внедрении и/или совершенствовании фармацевтической системы качества на предприятиях (в компаниях, корпорациях и их обособленных структурных подразделениях, осуществляющих производство лекарственных средств и выпуск их в обращение).

В издании рассматриваются такие важные вопросы, как виды и типы обучения, разработка и цикл реализации программ обучения, порядок организации внешнего и внутреннего обучения, требования к преподавателям и наставникам, контроль за обучением и оценка его эффективности, а также приведены образцы форм для ведения обучения сотрудников компании, которые могут быть использованы многими компаниями на практике.

Тест-системы

На сегодняшний день в большинстве развитых стран мира существуют периодические издания, посвященные как исследованиям с использованием лабораторных животных, так и вопросам их благополучия. Данные по периодическим изданиям с указанием официальных сайтов подробно приведены в статье «Поиск научной

²² <https://conf-glp-PLANET.com/wp-content/uploads/2022/07/shnaukshta-vs.pdf>

²³ https://conf-glp-PLANET.com/wp-content/uploads/2022/07/2573_smirnov_blok-.pdf

информации для планирования доклинических исследований» (Кувшинникова Е.В., Караев А.Г., 2020).

Очевидно, что качество тест-систем, используемых в доклинических исследованиях, является основополагающим фактором надежности полученных данных. Помимо аспектов содержания и зоотехнии, не менее значимый вопрос — это благополучие лабораторных животных. Павел Валерьевич Буренков, заместитель руководителя органа инспекции ФБУ «ГИЛС и НП», в своем докладе «Надлежащая практика благополучия животных в лабораторной среде, нужен ли такой стандарт?» осветил такие вопросы, как отсутствие ратификации международных документов в отношении благополучия лабораторных животных и их рационального использования в Российской Федерации.

Деятельность в Российской Федерации международных организаций в области аккредитации вивариев и контроля за благополучием лабораторных животных (например, AAALAC) имеет единичные примеры.

Нормативные документы ЕАЭС, регулирующие доклинические исследования и устанавливающие требования к надлежащей лабораторной практике, рекомендуют руководствоваться в вопросах содержания лабораторных животных национальными нормативно-правовыми актами государств — членов Союза [Рекомендация коллегии Евразийской экономической комиссии от 21.05.20 № 10 «О Руководстве по проведению доклинических исследований токсичности при повторном (многократном) введении действующих веществ лекарственных препаратов для медицинского применения»].

На сегодняшний день при участии сотрудников АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» разработан проект Руководства по работе с лабораторными животными в доклинических исследованиях (ЕАЭС).

Предполагается, что документ будет устанавливать требования к:

- источникам получения лабораторных животных (питомники, заводчики);
- планированию и проведению исследований *in vivo*;
- рациональному использованию лабораторных животных в исследованиях;
- биоэтической комиссии;
- уходу и содержанию лабораторных животных в испытательном центре доклинических исследований;
- методам и способам эвтаназии лабораторных животных;
- классификации болезненных процедур для лабораторных животных;
- объемам вводимых веществ при разных путях введения в исследованиях.

Подводя итоги данного раздела, хочется отметить, что представители фармацевтической отрасли хорошо осведомлены об имеющихся сложностях в сфере доклинических исследований, при этом конструктивно и сообща работают над ними. Конференция GLP-PLANET стала эффективной площадкой, которая позволяет встречаться представителям регуляторных органов, производителям лекарственных средств, оборудования и реагентов и, конечно, испытательным центрам, выполняющим доклинические исследования. В текущей геополитической ситуации в мире хочется призвать коллег к девизу, предложенному одним из участников конференции: «Импортозамещение — это хорошо, а импортоулучшение — еще лучше!» и стремиться к его реализации совместными усилиями.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александров А.В. и др. Обеспечение качества доклинических исследований. Консультант GLP-Planet. Мнение фармацевтической отрасли: монография / Под ред. В.Г. Макарова и В.Н. Шестакова. Москва: ИД «Русский врач», 2021. 168 с.
2. Кувшинникова Е.В., Караев А.Г. Поиск научной информации для планирования доклинических исследований // Лабораторные животные для научных исследований. 2020. № 1. С. 1–6. <http://doi.org/10.29296/2618723X-2020-01-03>.

Обеспечение качества в лабораториях разного типа

<https://doi.org/10.57034/978-5-6048955-0-4-s2>

Р.А. Абрамович¹, П.В. Гремякова², М.В. Карлина³, И.И. Тернинко⁴,
Ж.Ю. Устенко³, И.Е. Шохин⁵

¹ ФГБОУ ВПО МГУ им. М.В. Ломоносова,

² Центр метрологии и консалтинга «Поверие»,

³ АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»,

⁴ Центр контроля качества лекарственных средств
ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России,

⁵ ООО «Центр фармацевтической аналитики»

Качество проведения исследований на доклиническом этапе имеет огромное значение для выхода нового препарата на фармацевтический рынок, так как ошибки при их проведении могут привести к снижению эффективности и безопасности разрабатываемого лекарственного средства. Лабораторные исследования имеют большое значение для создания лекарственного препарата. Они проводятся на каждом этапе создания лекарственных препаратов:

- в фармацевтической разработке лекарственного препарата задействованы аналитические и технологические лаборатории, доклинические исследования новой молекулы (*in silico*, *in vitro*, *ex vivo*, *in vivo*) проводятся в аналитических и биоаналитических лабораториях, а также в исследовательских центрах, в составе которых находятся лаборатории гематологии и биохимии, патоморфологии и гистологии, иммуногистохимии, лаборатории изучения физиологии и поведения животных;
- в проведении клинических исследований препаратов вовлечены аналитические, биоаналитические и клинико-диагностические лаборатории;
- в контроле серийного выпуска препаратов, осуществляемом в лабораториях контроля качества.

Результаты, получаемые в лабораторных исследованиях, предоставляют информацию, определяющую большую часть решений, касающихся судьбы лекарственного препарата.

Система менеджмента качества в лаборатории — применимость и взаимосвязь нормативных документов

Основная цель любого лабораторного исследования — это получение качественных и достоверных данных.

Некачественно проведенные лабораторные исследования могут привести к получению некорректных результатов доклинических и клинических исследований эффективности и безопасности лекарственных средств, нарушению преемственности результатов при переходе от одних видов лабораторных исследований к другим (Лянг О.В. и др., 2017).

Ключевую роль в получении достоверного результата играет построение эффективной системы менеджмента качества лаборатории и создание условий для получения достоверных данных.

Система менеджмента качества лаборатории включает:

- документацию системы менеджмента; управление документами системы менеджмента;
- управление записями;
- действия, связанные с рисками и возможностями;
- действия;
- внутренние аудиты;
- анализ со стороны руководства и др.

Сегодня ключевыми нормативными документами в области лабораторной деятельности являются:

- ISO 9000:2015 «Системы менеджмента качества»;
- ISO 17025 «Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий»;
- ISO 22870 «Исследования по месту лечения — требования к качеству и компетентности»;
- ISO 15189 «Медицинские лаборатории. Требования по качеству и компетентности».

ГОСТ ISO 17025 предназначен для испытательных (исследовательских) и калибровочных лабораторий, в его основе лежит модель управления качеством ISO 9001 с учетом специфики метрологических организаций.

Стандарты ISO 22870 и ISO 15189 предназначены непосредственно для медицинских организаций и лабораторий (клинико-диагностических, бактериологических, вирусологических и др.), в них рассматриваются особенности проведения диагностических исследований и взаимодействие лабораторий с медицинскими организациями. Эти стандарты определяют действия лаборатории, которые позволяют выдавать качественные результаты, то есть устанавливают требования к системе управления качеством в медицинской лаборатории.

Основными документами, регулирующими проведение исследований и устанавливающими требования к лабораториям, задействованным в доклинических исследованиях, являются документы, определяющие принципы надлежащей лабораторной практики [Good Laboratory Practice (GLP)]:

- ГОСТ 33044–2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» (Система норм, правил и указаний, направленных на обеспечение согласованности и достоверности результатов лабораторных исследований);

- Решение Совета ЕЭК № 81 от 03.11.16 «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств».

Принципы GLP — это система обеспечения качества процессов организации, планирования, порядка проведения и контроля исследований, а также оформления, архивирования и представления результатов исследований. Главная задача GLP — обеспечить возможность полного прослеживания и восстановления всего хода исследования. Во всем мире система GLP является основой качества лабораторных исследований. Однако требования к самим лабораториям внутри испытательного центра, проводящего доклинические исследования, эти стандарты не устанавливают.

ГОСТ 17025 разработан с целью укрепления доверия к результатам лабораторной деятельности, устанавливает общие требования к компетентности, беспристрастности и стабильному функционированию лабораторий. Этот стандарт разработан специально для испытательных и калибровочных лабораторий, но в целом применим ко всем организациям, занимающимся лабораторной деятельностью, независимо от численности персонала, включая неклинические лаборатории.

И GLP (ГОСТ 33044), и ГОСТ 17025 устанавливают требования к системам управления качеством, в соответствии с которыми проводятся испытания, однако это документы различного назначения. В центре внимания GLP находится индивидуальное исследование. Принципы GLP специально разработаны для применения к отдельным исследованиям с учетом их сложности и изменчивости. В центре внимания [ГОСТа 17025](#)¹ находятся непрерывная работа и управление самой лабораторией.

Отдельные типы лабораторий

На конференции GLP-PLANET в 2022 г. были подробно обсуждены 3 типа лабораторий: контрольно-аналитические, биоаналитические и лаборатории гистологии и патоморфологии.

Особенностям деятельности лаборатории в области фармацевтики в соответствии с ГОСТом 17025 был посвящен доклад Инны Ивановны Тернинко [«Лаборатории контрольного анализа. Проблемы и перспективы»](#)² (Центр контроля качества лекарственных средств ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета» Министерства здравоохранения Российской Федерации). В своем докладе она рассказала о проблемах и перспективах обеспечения качества в лабораториях рутинного независимого анализа. В докладе были обозначены проблемные точки контроля качества: родственные примеси, методики анализа и их валидация, стандартные образцы и открытость регистрационного досье.

Родственные примеси выступают в качестве источников риска, поскольку:

- окончательный перечень примесей может быть установлен только после изучения стабильности лекарственных средств;

¹ [https://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2016\)47&doclanguage=en](https://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2016)47&doclanguage=en)

² <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/terninko-ii.pdf>

- возможно появление новых примесей, вызванное взаимодействием со вспомогательными веществами/упаковкой или активной фармацевтической субстанцией, или друг с другом, некоторые примеси являются полупродуктами синтеза и не имеют стандартных образцов (СО);
- для большинства химических молекул отсутствуют данные о генотоксичности, что не дает возможность правильно интерпретировать рекомендованные Руководством ИСН пределы допусков по содержанию их в качестве примесей;
- при трансфере технологии и ее масштабировании «поведение» первых промышленных серий активной фармацевтической субстанции (АФС) непредсказуемо и нуждается в тщательном контроле примесей.

Методики и их валидация могут выступать в качестве источников риска за счет отсутствия унифицированных критериев приемлемости отдельных валидационных параметров, обязательного требования по оценке расширенной неопределенности методики, а также из-за отсутствия понимания «достаточности» валидационных и верификационных испытаний.

Отсутствие доступа к регистрационному досье для испытательных лабораторий, как еще один источник рисков, связано с недоступностью валидационных данных, что не дает возможности оценить достоверность полученного результата с учетом доверительных интервалов и расширенной неопределенности.

Инна Ивановна подробно остановилась на проблеме рутинного контроля качества препаратов, включая биологические лекарственные препараты. К таким проблемам она отнесла:

1. Стандартные образцы. Отсутствие понятного взаимодействия на законодательном уровне между Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии (Росстандарт) Минпромторга [в ведении которых находятся полномочия по аттестации государственных стандартных образцов (ГСО)] и ФГБУ «НЦЭСМП» [потенциальные инициаторы и регуляторы создания фармакопейных стандартных образцов (ФСО)]; минимальное наполнение банка ФСО; необходимость коррекции нормативной документации (НД) производителей в части рекомендованных СО.
2. Биологические препараты. Методологический, образовательный, информационный, приборный, кадровый «голод» по анализу «больших» молекул с переменным составом; высокая стоимость оборудования и реактивов для определения специфической активности; отсутствие отечественного производства реактивов для анализа; отсутствие понимания необходимости подготовки кадров по контролю качества данных препаратов со стороны руководящих структур.
3. Аккредитованные лаборатории. Единые методологические подходы к аккредитации любых лабораторий, которые не всегда применимы к испытательным лабораториям по контролю качества лекарственных средств; отсутствие в Федеральном агентстве «Росаккредитация» специалистов-экспертов по контролю качества лекарственных средств; отсутствие коммуникации между Федеральным агентством «Росаккредитация» и ФГБУ «НЦЭСМП» в части разъяснения понятийного аппарата, требований нормативной базы по контролю

качества лекарственных средств; требование Минпромторга о необходимости лицензирования аккредитованных испытательных лабораторий.

В отношении биологических/биотехнологических препаратов вариантами решения этих проблемных точек может стать:

1. Ориентация фармацевтического анализа (образовательная, приборная, кадровая и т.д.) на анализ «больших» молекул и субстанций с переменным составом, например, на применение эксклюзионной хроматографии, оценки специфической биологической активности.
2. Подготовка кадров и оснащение лабораторий по контролю качества для определения специфической активности (как метода контроля качества) биологическими методами.
3. Поиск способов стимулирования (например, налоговые льготы на производство данной продукции, государственные заказы и т.д.) отечественных химических предприятий на производство специфических реактивов.
4. Финансирование научных центров, которые занимаются фармацевтическим анализом для расширения приборного парка, в том числе для закупки оборудования, которое используется в сфере подтверждения идентичности структуры новых молекул: масс-спектрометров высокого разрешения (в том числе TOF), спектрометров ЯМР и т.д.

В отношении аккредитованных лабораторий вариантами решения могли бы быть:

1. Рекомендация к Федеральному агентству «Росаккредитация» о включении в состав экспертных групп по аккредитации испытательных лабораторий по контролю качества лекарственных средств специалистов в области фармации и информирование об особенностях подтверждения соответствия лекарственных средств.
2. Для преодоления невозможности полной реализации отдельных пунктов ГОСТа ИСО 17025–2019: разъяснение для Федерального агентства «Росаккредитация» особенностей использования фармацевтических стандартных образцов, поскольку широта ассортимента и особенности их характеристики затрудняют реализацию отдельных пунктов: п. 7.7. «Обеспечение достоверности результатов» путем проведения внутрилабораторного контроля качества и межлабораторных сравнительных испытаний и п. 7.2.1. «Выбор и верификация метода», а также отсутствие в методиках указаний расширенной неопределенности, что нивелирует необходимость реализации п. 7.6. «Оценивание неопределенности измерений».

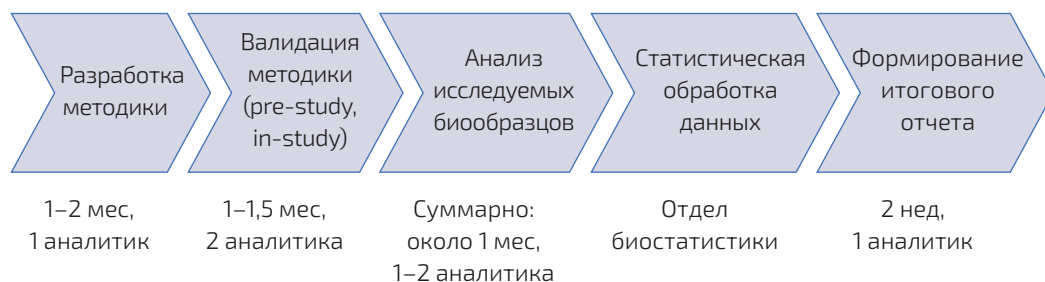
Схожие моменты отметил в своем докладе [«Вопросы GLP в исследованиях биотехнологических ЛС»](#)³ Игорь Евгеньевич Шохин (ООО «Центр фармацевтической аналитики»). Особое внимание было уделено работе биоаналитических лабораторий, освещены основные проблемы, цели и задачи, стоящие перед лабораторией при выполнении исследования.

К основным проблемам Игорь Евгеньевич относит:

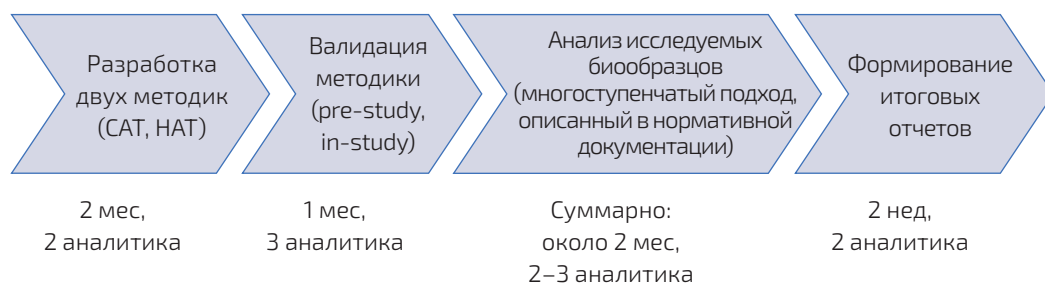
- необходимость комплексного подхода к исследованию;
- логистику материалов и реактивов;

³ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/14-55-shohin-i-kolganova.pdf>

1. ФК-анализ:



2. ИГ-анализ (в т.ч. анализ HAT):



ФК-анализ — измерение концентрации анализируемого вещества;

ИГ-анализ — определение наличия антилекарственных антител;

CAT — связывающие антитела к препарату; HAT — нейтрализующие антитела к препарату.

Рис. 1. Основные этапы исследования с точки зрения биоаналитической лаборатории

- проектный менеджмент и управление лабораторными единицами (проектные команды и их слаженная работа);
- длительность исследования (1–1,5 года);
- объективную и своевременную оценку изменений, которые оказывают влияние на валидированные методики.

Целями исследования в таких лабораториях являются, как правило, измерение концентрации анализируемого вещества, определение наличия антилекарственных антител/характеризация антилекарственных антител и статистическая обработка полученных результатов. Соответственно целям задачами исследования являются:

- разработка и валидация биоаналитических методик;
- непосредственное проведение анализа биообразцов с использованием валидированных методик;
- статистическая обработка полученных данных (если применимо);
- формирование отчетности.

Также очень интересными были приведенные данные, касающиеся основных этапов исследования в биоаналитической лаборатории (рис. 1), необходимости в персонале на каждом из этапов и длительности каждого этапа, что позволяет хорошо спланировать работы и обеспечить их качество.

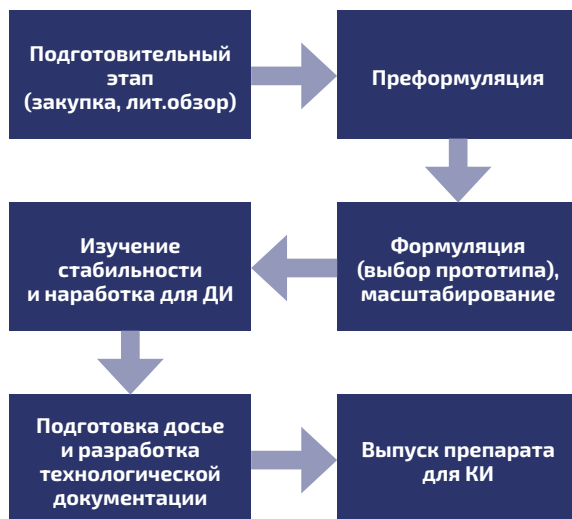


Рис. 2. Этапы фармацевтической разработки

В докладе Риммы Александровны Абрамович [«Современные требования к фармацевтической разработке биологических препаратов»](#)⁴ (кафедра фармацевтической технологии МГУ им. М.В. Ломоносова), были рассмотрены современные требования к фармацевтической разработке биологических препаратов.

Регуляторные требования к разработке биологических препаратов предъявляются в следующих нормативных документах:

- ФЗ № 180 «О биомедицинских клеточных продуктах» действует с 1 января 2017 г., далее подзаконные акты;
- Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 89 «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза»;
- «Правила надлежащей производственной практики Евразийского экономического союза» утверждены решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 77 (Решение от 14 июля 2021 г. № 65);
- «Правила регистрации и экспертизы лекарственных средств Евразийского экономического союза» утверждены решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 78, (изменения Решения от 17.03.22 № 36);
- EMEA/CHMP/BWP/118264/2007 (вступило в силу с 01.06.17) Guideline on non-clinical and clinical development of similar biological medicinal products containing low-molecular-weight-heparins.

Фармацевтическая разработка включает этапы, представленные на рис. 2.

Жанна Юрьевна Устенко (АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ») в своем докладе [«Обеспечение качества в гистологической лаборатории»](#)⁵ изложила особенности обеспе-

⁴ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/abramovich-ra.pdf>

⁵ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/ustenko-zhyu.pdf>

чения качества в гистологических лабораториях, обратила внимание на ключевые точки в работе лаборатории.

В частности, к особенностям работы в лаборатории гистологии и патоморфологии Жанна Юрьевна отнесла:

- разнообразие методик в зависимости от задач исследования;
- чувствительность методик к качественным изменениям материала;
- широкий спектр видового разнообразия и индивидуальной изменчивости;
- значительную долю субъективности при оценке результатов;
- отсутствие при оценке значительной части параметров четких критериев «нормы».

В качестве основной меры по снижению рисков для качества в этом типе лабораторий можно отнести подготовку внутренних нормативных документов (СОП, инструкций, рабочих инструкций) и обучение персонала. Однако при работе с лабораторными животными или материалом, полученным от них, нерегулируемыми остаются индивидуальная чувствительность и особенности животных.

Также фактически нерегулируемым является этап оценки патологических изменений и формулировки патолого-анатомического диагноза, на котором невозможно провести инспекцию, или подготовить на него СОП, поскольку это будет требовать от проверяющего компетенций, равных или выше, чем у патологоанатома, что весьма затруднительно и создает избыточное количество персонала в лаборатории.

Альтернативными решениями могут быть обращение к «экспертному» мнению внутри своей организации или вне ее, качественное освещение/инструментарий для работы патологоанатома, разработка СОП на преаналитические этапы (отбор органов, обнаружение и хранение трупного материала), мониторинг внутрилабораторных «норм», использование рекомендаций профессиональных сообществ и номенклатур (в случае если таковые имеются).

Однако в лаборатории гистологии и патоморфологии есть этапы, на которые можно и нужно влиять. Например, возможными мерами по обеспечению качества могут быть:

1. На всех этапах:

- разработка СОП, содержащих базовую информацию о процессах в лаборатории, дающую четкое представление о закономерностях процессов и влияющих на них факторов;
- разработка СОП с четким протоколом для рутинных регулярно используемых методов (например, окраска гематоксилином и эозином);
- контроль, в первую очередь, внутренний в виде обратной связи патолога с лаборантом. Важно понимание патологом и лаборантом, какие артефакты возможны, с чем они могут быть связаны и как их устранять.

2. На этапах заливки и микротомирования очень велико влияние человеческого фактора, следовательно, СОП должны это учитывать и быть максимально простыми для понимания, введение «критериев качества блока/гистологического стекла».

3. На этапах окраски и заключения контроль качества выполняется максимально часто и обязательно при смене реагента/типа материала (в идеале с каждой новой баночкой краски). Осуществляется патологами посредством

обратной связи с лаборантом. Возможны создание контрольного гистологического стекла и контроль качества за счет сравнения рабочего стекла с контрольным. При этом критерии качественного гистологического стекла будут отличаться в зависимости от целей и задач исследования. Однако это не исключает и использование базовых критериев, применяемых всегда, например, отсутствие пузырей воздуха под покровным стеклом.

4. На этапе просмотра гистологических стекол и формулировки патогистологического диагноза сложности такие же, как на этапе оценки патологических изменений и формулировки патолого-анатомического диагноза, — невозможно провести инспекцию или подготовить на него СОП, поскольку это будет требовать от проверяющего компетенций, равных или выше, чем у гистолога. Возможные меры схожи:
 - использование рекомендаций профессиональных сообществ и номенклатур;
 - внутрилабораторные стандарты описания/анализа;
 - ослепление и параллельное исследование двумя патологами.

Основные составляющие обеспечения качественной работы лаборатории: персонал, помещения и условия окружающей среды, оборудование, реактивы, стандарты и объекты испытаний, методы и методики, документация и прослеживаемость

Персонал является ключевым фактором обеспечения качества работы в любой лаборатории. Сотрудники лабораторий должны соответствовать квалификационным требованиям, быть компетентными и беспристрастными; работать в соответствии с системой менеджмента лаборатории; понимать и соблюдать принципы конфиденциальности; проходить обучение с целью повышения квалификации.

Необходимость и важность обучения персонала, составления программы обучения сотрудников как важнейшего элемента GLP обсуждались в докладе [«Программа обучения сотрудников лаборатории как важный элемент GLP»](#)⁶ Полины Владиславовны Гремяковой (Центр метрологии и консалтинга «Поверие»). Особое внимание было уделено проблемам программ обучения (формальный подход, избыточность, отсутствие итоговой оценки знаний, скучный формат) и возможным путям их решения, а именно: адаптация программы обучения под функционал сотрудника, учет входного уровня знаний сотрудника, обучение с тренером, геймификация, разбивка на этапы при первичном обучении, мастер-классы, формирование культуры доверия и лояльности к программе обучения, обратная связь от сотрудников, непрерывный анализ эффективности программы обучения, непрерывное улучшение.

Помещения и условия окружающей среды должны быть пригодными для осуществления лабораторной деятельности. Требования к помещениям и условиям окружающей среды должны быть задокументированы. В лаборатории любого типа

⁶ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/gremyakova-pv.pdf>

Таблица 1

Климатические параметры химико-аналитических, гистологических, биохимических, клеточных и технологических лабораторий

Параметр	Значение	Нормативный документ
Кратность воздухообмена	2–3/5–6 (приток/вытяжка)	РД-АПК 3.10.07.02–09; ГОСТ 30494–2011; СанПиН 2.1.3.2630–10; СП 158.13330.2014
Температура	18–26 °С	СанПиН 2.1.3684–21
Влажность	40–60%	СанПиН 2.1.3684–21
Освещенность	300 лк	СП 52.13330.2016; СанПиН 2.1.3.2630–10

должен осуществляться мониторинг климатических параметров (влажность, температура), должны быть разработаны процедуры по проведению квалификации помещений, регистрации климатических параметров и отклонений от них. Общие требования к климатическим параметрам химико-аналитических, гистологических, биохимических, клеточных и технологических лабораторий приведены в табл. 1.

Однако в ряде случаев в лабораториях требуется соблюдение более жестких климатических норм. Так, например, в микробиологических лабораториях устанавливаются более жесткие требования по температуре 20–26 °С (СанПиН 2.1.3684–21).

При работе с гигроскопичными веществами влажность более 40% может приводить к нежелательным последствиям, влияя на достоверность получаемых данных, так как повышение влажности может приводить к увеличению массы и/или объема веществ, изменению электрической проводимости, теплопередачи и теплоотдачи, скорости протекания химических реакций, вязкости жидкостей, изменению пластичности, условий роста бактерий и микроорганизмов.

В технологических лабораториях (лабораториях фармацевтической разработки), например, при разработке шипучих таблеток принято считать, что относительная влажность должна быть не выше 30%, так как процессы взвешивания навесок и таблетирования требуют сухого места проведения технологических работ. Если не соблюсти это условие, то происходит увлажнение компонентов таблетки, вследствие чего нарушаются точность дозировки и время растворения препарата.

Из всего вышесказанного следует, как важно в каждой лаборатории проводить оценку рисков для выполнения тех или иных работ, это позволяет более взвешенно подходить к возможностям лаборатории, дооснащать лаборатории необходимыми климатическими установками, зонировать помещения и пр.

В зависимости от специфики лаборатории в ней используется **оборудование** различного типа. Выбор подходящего оборудования, его установка, обеспечение правильной работы, а также наличие системы по его обслуживанию являются составными частями программы управления оборудованием в системе управления качеством.

Лаборатория должна иметь оборудование, соответствующее целям и задачам исследования.

Единой классификации оборудования не существует. В зависимости от сферы применения и функциональных особенностей оборудование может быть разделено на несколько типов:

- 1) испытательное оборудование — средства испытаний, представляющие собой технические устройства для воспроизведения условий испытаний;
- 2) средства измерения — оборудование, техническое средство, с помощью которого физическая величина может быть обнаружена и измерена. Средство измерения обладает нормированными метрологическими характеристиками и внесено в реестр средств измерения [ФГИС «АРШИН»](https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry)⁷;
- 3) технологическое оборудование — оборудование, устройства или технические средства, являющиеся средствами измерения, непосредственно используемыми при проведении НИР и обеспечивающими технологические, программные или иные условия и процессы;
- 4) вспомогательное оборудование — легко заменяемое оборудование, применяемое при проведении научно-исследовательских работ, но не оказывающее прямое влияние на их результат;
- 5) источники излучения — устройства, испускающие или способные испускать излучение;
- 6) производственное оборудование — устройства, приборы и механизмы, применяемые, в том числе для облегчения условий труда, и напрямую не задействованные в НИР.

Измерительное оборудование должно быть калибровано (достоверность результатов измерений, метрологическая прослеживаемость). Все оборудование, которое требует калибровки или имеет определенный срок годности, должно быть маркировано, чтобы была возможность быстро идентифицировать статус калибровки или срок годности. В любой лаборатории в обязательном порядке должны вестись записи о состоянии оборудования.

В соответствии со статьей 13 Федерального закона от 26 июня 2008 г. № 102-ФЗ «Об обеспечении единства измерений» средства измерений подлежат первичной и периодической поверке. Поверку средств измерений осуществляют аккредитованные организации. Современные лаборатории обычно имеют разнообразное оборудование, от простых приборов до сложных автоматизированных систем. Исходя из необходимого уровня квалификации, оборудование удобно разделить на три группы (USP 39, 1058).

Группа А включает стандартное оборудование, которое не имеет возможности измерять какую-либо величину и требует обычной калибровки, для такого оборудования спецификация производителя принимается в качестве требований пользователя. Соответствие оборудования группы А требованиям пользователя может быть проверено и задокументировано посредством визуального наблюдения за его работой. Примерами оборудования этой группы являются магнитные мешалки, вортексы, центрифуги и др.

⁷ <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry>

Группа Б включает стандартное оборудование и приборы, для которых требуется калибровка, и требования пользователя к оборудованию обычно совпадают со спецификацией производителя по функциональности и эксплуатационным ограничениям. Соответствие оборудования этой группы требованиям пользователя определяется согласно стандартным операционным процедурам и документируется. Примерами оборудования этой группы являются весы, приборы для определения точки плавления, рН-метры, дозаторы, рефрактометры, термометры, титраторы и вискозиметры, муфельные печи, холодильники-морозильники, водяные бани, насосы и пр.

Группа С — это приборы и компьютеризированные аналитические системы, в которых требования пользователя по функциональности и эксплуатационным ограничениям являются специфическими для аналитического применения. Соответствие приборов группы С требованиям пользователя определяется специальными функциональными испытаниями и испытаниями производительности. Установка подобного оборудования — сложная задача и, как правило, требует участия специалистов. К этим приборам должен применяться полный процесс квалификации. Примерами приборов этой группы являются атомно-абсорбционные спектрометры, дифференциальные сканирующие калориметры, масс-спектрометры, хроматографы и пр.

Такое деление может быть проведено сотрудниками лабораторий в зависимости от конкретного оборудования и целей его применения. В зависимости от использования конкретного оборудования в конкретной лаборатории один и тот же прибор может попасть в одну группу в одной лаборатории и в другую группу в другой.

Разделение оборудования таким образом позволяет применить риск-ориентированный подход и осуществить с оборудованием только те действия, которые необходимы.

Реактивы, стандартные образцы и объекты исследования так же, как и оборудование, эталоны и расходные материалы, — продукция, поступающая от внешних поставщиков. Лаборатория должна обеспечить пригодность используемой продукции и услуг, предоставляемых внешними поставщиками.

В лаборатории должны быть разработаны процедуры и вестись записи для определения и утверждения требований к продукции и услугам внешних поставщиков, критериев выбора, мониторинга деятельности и периодического оценивания внешних поставщиков.

Для реактивов, стандартных образцов и объектов исследования необходимо осуществлять входной контроль (документарный, визуальный), должна быть обеспечена маркировка (этикетки с наименованием вещества, концентрацией, датой окончания срока хранения и инструкцией по хранению). Кроме того, должна быть доступна информация об изготовителе, дате производства и стабильности.

В лаборатории должны быть обеспечены надлежащие условия хранения и учет расхода реактивов. Все реактивы, стандартные образцы, объекты испытаний подлежат учету на всех этапах испытания. Как правило, такой учет ведется в специальных программах, в которые заносится вся информация по каждому реактиву, результаты входного контроля, данные по сопроводительной документации, а также сведения о том, когда, сколько и на какое исследование расходуется. Также указывается место хранения. Работа в таких программах должна быть описана во внутренних инструкциях каждой лаборатории.

Методы и методики. Каждая лаборатория должна применять соответствующие методы и методики для всех видов своей лабораторной деятельности. Все методы, методики и сопутствующие документы (инструкции, стандарты, руководства по эксплуатации и справочные данные) должны поддерживаться в актуальном состоянии и быть легкодоступными для персонала. До внедрения методов в работу лаборатория должна подтвердить, что она может надлежащим образом применять выбранные методы, обеспечивая требуемое исполнение.

Подтверждением надлежащего выполнения методик является их валидация и верификация.

Валидация — доказательство того, что методика пригодна для решения конкретной аналитической задачи, то есть позволяет получать достоверные результаты. Валидацию проводят при разработке новой методики; при значительных изменениях в существующей валидированной методике (модификация методики); когда существующая валидированная методика применяется к образцу, состав которого значительно отличается от того, для анализа которого методика была разработана.

Валидацию биоаналитических и аналитических методик проводят в соответствии со следующими документами:

- ICH, Q2A, Harmonized tripartite guideline, text on validation of analytical procedures, IFPMA, in: Proceedings of the International Conference on Harmonization, Geneva, March 1994, p. 1–5;
- ICH, Q2B, Harmonized tripartite guideline, validation of analytical procedure: methodology, IFPMA, in: Proceedings of the International Conference on Harmonization, Geneva, March 1996, p. 1–8;
- Guidance for Industry: Bioanalytical method for validation. Rockville, MD, U.S. Department of Health and Human Services, FDA, Center for Drug Evaluation and Research, Center for veterinary medicine, 2018;
- Guideline on bioanalytical method validation. EMEA/CHMP/EWP192217/2009, London, Committee for medicinal products for human use (CHMP), 2011;
- Guideline on the investigation of bioequivalence. EMEA/CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1/Corr, London, Committee for medicinal products for human use (CHMP), 2010;
- правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза, 2016. 161 с. (утверждены Решением Совета ЕЭК № 85 от 03.11.16);
- МУ 3.3.2.1886–04. Медицинские иммунобиологические препараты. Валидация методов контроля химических и физико-химических показателей качества МИБП: организация, порядок проведения и представление результатов. Методические указания, 2004;
- ОФС. 1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд., Москва: МЗ РФ., 2018. Т. 1–4. 7019 с.;
- Руководство по валидации аналитических методик проведения испытаний лекарственных средств. Утверждено Решением коллегии стран ЕЭК от 17.07.18 № 113. 2018. 26 с.;
- Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств. Москва: Министерство здравоохранения и социального развития РФ, 2007. 49 с.

Набор исследуемых валидационных характеристик зависит от назначения аналитической методики. Валидационные характеристики методик, применяемых для целей идентификации (подлинности), контроля примесей (количественные испытания и лимитирующие тесты) и количественного определения в образцах активной субстанции или готового лекарственного препарата, а также для количественного определения других компонентов лекарственного препарата (например, консервантов), приведены в табл. 2. Этот список следует рассматривать как типовой для указанных испытаний (аналитических методик), возможны исключения, которые рассматриваются отдельно в каждом конкретном случае.

В качестве параметров валидации биоаналитических методик определяют:

- специфичность (specificity);
- линейность (linearity) и аналитическую область методики (range);
- степень экстракции (recovery);
- правильность (или точность, accuracy);
- прецизионность (precision);
- предел обнаружения (limit of detection — LOD);
- предел количественного определения (limit of quantitation — LOQ).

Верификация — подтверждение лабораторией способности получать достоверные результаты (пригодные для решения конкретной задачи) по готовой валидированной методике. Верификацию проводят для фармакопейных методик, которые впервые применяются в лаборатории, для стандартных методик, валидированных в лаборатории, при их последующем использовании.

Валидация и верификация не требуются для методик «мокрой» химии (например, определение кислотного числа), для простых инструментальных определений (в частности, pH), при определении потери массы при высушивании, остатка после прокаливании тяжелых металлов.

В настоящее время в лабораторную практику широко вошли методы иммуноферментного анализа благодаря относительной простоте и высокой чувствительности. Иммуноферментный анализ (ИФА, от англ. enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) — лабораторный иммунологический метод выявления антигенов и антител, основанный на определении комплекса антиген — антитело за счет введения в один из компонентов реакции ферментативной метки с последующей ее детекцией с помощью соответствующего субстрата, изменяющего свою окраску. Основой проведения любого варианта ИФА служит определение продуктов ферментативных реакций при исследовании тестируемых образцов в сравнении с негативными и позитивными контролями. Метод ИФА позволяет идентифицировать и количественно определять многие биологические компоненты — это гормоны, ферменты, антигены, онкомаркеры, белки сыворотки крови и т.д. Методы ИФА приходят на помощь, когда традиционные подходы к изучению фармакокинетики препаратов (как правило, в случае препаратов растительного и животного происхождения), основанные на хроматографических методах (ВЭЖХ-УФ/ФЛ/МС, ГХ-МС и др.), оказываются неэффективными. В этом случае проводят изучение фармакокинетики, основанное на применении биологических маркеров (биомаркеров), связанных с биологической активностью изучаемых препаратов (Косман В.М. и др., 2021). Подход к оценке фармакокинетики с использованием биомаркеров (приме-

Таблица 2

Основные валидационные характеристики в зависимости от типов валидируемых аналитических методик анализ лекарственных средств (согласно ОФС. 1.1.0012.15 Валидация аналитических методик ГФ XIV)

Характеристика	Типы аналитических методик					
	Испытание на подлинность	Посторонние примеси		Количественное определение		
		количественные	предел содержания	основного действующего вещества, нормируемых компонентов	действующего вещества в тесте «растворение»	
Специфичность**	Да	Да	Да	Да	Да	Да
Предел обнаружения	Нет	Нет	»	Нет	Нет	Нет
Предел количественного определения	»	Да	Нет	»	»	»
Аналитическая область	»	»	»	»	Да	Да
Линейность	»	»	»	»	»	»
Правильность	»	»	»	*	»	»
Прецизионность:						
— повторяемость (сходимость);	»	»	Нет	»	»	»
— промежуточная (внутрилабораторная) прецизионность	»	»	»	»	»	Нет
Устойчивость	»	*	*	*	*	*

* Может определяться при необходимости.

** Отсутствие специфичности одной аналитической методики может быть компенсировано использованием другой.

няют также такие термины, как «суррогатные маркеры концентрации», «конечные точки фармакокинетики») встречается в ряде регулирующих документов и монографий {Guidance for Industry. Exposure-Response Relationships — Study Design, Data Analysis, and Regulatory. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Center for Biologics Evaluation and Research (CBER). 2003. 28 p.; Guideline on non-clinical and clinical development of similar biological medicinal products containing low-molecular-weight-heparins. EMEA/CHMP/BMWP/118264/2007 Rev. 1. 2017. 8 p.; Правила проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза. 2016. 716 с. [Pravila provedeniya issledovanij biologicheskikh lekarstvennykh sredstv Evrazijskogo ekonomicheskogo soyuza. 2016. 716 s. (In Russ.)]; Drug and Biological Development: From Molecule to Product and Beyond. Ed. Evens R. Springer Science & Business Media, 2007. 383 p.}.

Для каждой лаборатории необходимо иметь **свои стандартные методики**. Это связано с тем, что не каждая методика, планируемая для выполнения в лаборатории, может быть внедрена без изменений (например, в случае отсутствия оборудования, замены реагентов, при необходимости применить методику к анализу иного образца и т.д.). До внедрения методов (опубликованных в международных, региональных и национальных стандартах) в работу лаборатория должна подтвердить, что она может надлежащим образом применять выбранные методы, обеспечивая требуемое исполнение. Записи о верификации должны сохраняться. Если изменения в метод были внесены организацией-разработчиком, то верификация должна быть проведена повторно в необходимом объеме (п. 7.2.1.5 ISO/IEC 17025).

Стандартная методика — это внутренний документ лаборатории, в котором описаны:

- принцип метода;
- регулирующие стандарты/литература;
- необходимые реактивы;
- необходимое оборудование;
- контрольные материалы;
- информация о виде и минимальном количестве материала/биоматериала;
- расчет количества реагентов и количества биопроб;
- подготовка биопроб;
- возможность хранения биопроб;
- приготовление растворов реагентов;
- построение калибровочной кривой;
- ход анализа;
- обработка результатов;
- ожидаемые результаты.

Примером разработки стандартной методики по оценке патологических компонентов мочи стал доклад [«Качественные реакции для определения патологических показателей в моче лабораторных животных как альтернатива тест-полоскам»](#)⁸ Алины Игоревны Кузнецовой (АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»), который был посвящен сравнительному анализу преимуществ и недостатков различных методов анализа

⁸ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/kuzneczova-ai.pdf>

патологических показателей [белок, кетоновые тела, глюкоза, желчные пигменты, кровь (гемоглобин)] в моче лабораторных животных. Известно, что анализ мочи лабораторных животных, как правило, выполняется с помощью тест-полосок для исследования мочи человека, однако этот метод зачастую дает искаженные результаты, так как моча разных видов животных имеет существенные отличия от человеческой. Этот факт обуславливает необходимость разработки альтернативных методов определения. В докладе проанализированы преимущества и недостатки разных методов выявления патологических показателей в моче, выбран ряд альтернативных методик для анализа мочи животных, которые адаптированы для 96-луночного планшета, что позволяет существенно сократить объем биоматериала и время анализа. При необходимости легко перейти от качественной оценки к количественному анализу на основании результатов измерения оптической плотности растворов и построения калибровочного графика.

Документация и прослеживаемость. В соответствии с ГОСТом 17025 лаборатория должна установить и поддерживать метрологическую прослеживаемость результатов своих измерений. Метрологическая прослеживаемость — свойство результата измерения, в соответствии с которым результат может быть соотнесен с основой для сравнения через документированную непрерывную цепь калибровок, каждая из которых вносит вклад в неопределенность измерений. Обеспечение метрологической прослеживаемости это:

- поверка средств измерений (свидетельства о поверке тех средств измерений, на которые распространяется сфера госрегулирования);
- калибровка средств измерения;
- основа для сравнения (методика измерений, эталон, в том числе сертифицированный стандартный образец);
- сопроводительные документы на стандартные образцы;
- использование валидированных методик.

В соответствии с требованиями ГОСТа 17025 в лаборатории должны вестись технические записи для каждого вида лабораторной деятельности, позволяющие идентифицировать факторы, влияющие на результат измерения и связанную с ним неопределенность измерений, а также обеспечить возможность повторного проведения данной лабораторной деятельности в условиях, максимально близких к первоначальным. Технические записи должны включать дату и сведения о персонале лаборатории, который несет ответственность за каждый вид лабораторной деятельности и за проверку данных и результатов. Первичные наблюдения, данные и расчеты должны быть записаны в момент, когда они были получены, и отождествляться с конкретной работой. Лаборатория обеспечивает прослеживаемость изменений, вносимых в технические записи, к предыдущим версиям либо к первичным наблюдениям.

Поскольку документации в лаборатории ведется очень много, требуется увеличение эффективности работы с записями:

- унификация шаблонов записей;
- минимизация вносимых от руки данных;
- встраивание принципов сохранения целостности данных в шаблоны заполняемых форм.

Для стандартных методик перспективно создание аналитических форм. Аналитическая форма своя для каждой стандартной методики, она содержит информацию о фактически использованных в эксперименте реактивах и оборудовании, пробах и пробоподготовке. Создание аналитических форм значительно экономит время при проведении эксперимента (меньше ручных записей), это удобно для персонала и обеспечивает прослеживаемость получаемых результатов.

Целостность данных — степень, в которой данные полны, последовательны и точны на протяжении всего их жизненного цикла. Чтобы обеспечить целостность данных, требуется соблюдение ключевых принципов документооборота (принципов Alcoa+).

Attributable — кто и когда выполнил определенное действие.

Legible (читаемость) — данные должны быть читаемыми на протяжении их жизненного цикла.

Contemporaneous (своевременность) — данные должны быть зарегистрированы во время выполнения действия.

Original (подлинность) — должна использоваться оригинальная запись данных или ее заверенная копия.

Accurate (точность) — в данных не должно быть ошибок и изменений, внесенных без соответствующего документирования.

Полнота — наличие всех данных, включая данные всех испытаний, повторов и дополнительных анализов.

Последовательность — все этапы одинаковых экспериментов всегда выполняются в одинаковой последовательности.

Долговечность — данные должны быть зарегистрированы в лабораторных журналах или сертифицированных системах.

Доступность — данные должны быть доступны для просмотра, контроля или аудиторской проверки в течение всего жизненного цикла записей.

Принципы целостности данных применяются к данным (записям) на всех носителях (бумажные, электронные, гибридные) и на протяжении всего их жизненного цикла.

Для обеспечения качества в лабораториях разных типов необходимо установить, документировать, внедрить и поддерживать систему менеджмента, которая способна обеспечивать и демонстрировать качество выполненных лабораторией работ.

Согласно стандарту (п. 5.6 ISO/IEC 17025), лаборатория должна иметь лиц, **ответственных по качеству**. Ответственные по качеству — персонал, который независимо от других обязанностей имеет полномочия и ресурсы, необходимые для выполнения таких обязанностей, как внедрение, поддержание и совершенствование системы менеджмента качества; выявление отклонений от системы менеджмента или от процедур осуществления лабораторной деятельности, инициирование мер

по предотвращению или минимизации таких отклонений, предоставление руководству лаборатории отчетов о функционировании системы менеджмента и необходимости ее улучшения.

Основные функции ответственного по качеству:

- проведение самоинспекций и внутрилабораторного контроля;
- взаимодействие со службой качества и участие в инспекциях;
- разработка внутренних нормативных документов;
- организация и контроль обучения сотрудников подразделения;
- контроль ведения документации;
- контроль состояния оборудования;
- выдача готовых результатов руководителям исследования.

Самоинспекция — это внутренняя самостоятельная проверка соответствия правилам GLP, а также принятие необходимых корректирующих действий. Самоинспекция позволяет своевременно выявить малейшие отступления от установленного порядка и не дать развиться критическим отклонениям. Основной задачей самоинспекции является документальное подтверждение и соблюдение требований нормативных документов по обеспечению надлежащего качества выполняемых процедур в рамках осуществляемой деятельности. В лабораториях самоинспекция реализуется при помощи проведения внутрилабораторного контроля качества.

Внутрилабораторный контроль качества (ВЛК) измерений — комплекс мероприятий, обеспечивающий качество лабораторных исследований, который гарантирует и позволяет контролировать соответствие метрологических характеристик измерений предъявляемым требованиям. ВЛК выполняется лабораторией самостоятельно. Мероприятия направлены на оценку надежности результатов, получаемых лабораторией, а также на устранение причин неудовлетворительных параметров полученных результатов. ВЛК требуется при выполнении измерений, предполагающих многостадийные методики с большой долей ручного труда. Недостаточно контролировать условия измерений, требуется контролировать также сам результат. Поэтому ВЛК необходим для лабораторий, систематически выполняющих однотипные рутинные анализы, а также в научных исследованиях для обеспечения лучшей сопоставимости результатов, получаемых в разное время.

Периодичность и критерии самоинспекции и ВЛК зависят от вида деятельности лаборатории, результаты ВЛК регистрируются в чек-листах и передаются в службу качества для дальнейшего анализа и разработки планов корректирующих и предупреждающих мероприятий.

В зависимости от лаборатории чек-листы содержат свой перечень регламентированных показателей, например, температура и влажность в помещениях, параметры температуры холодильного оборудования, контроль эксплуатации оборудования, учет и хранение химических реактивов, объектов испытания, питательных сред, стандартных образцов, приготовленных растворов, в том числе наличие и правильность сопроводительной документации и т.д.

Несмотря на то, что в стандартах GLP такой функционал не предполагается и никак не оговаривается, привлечение таких специалистов и применение рабочих функций может существенно повысить качество при проведении НИР.

Особенностям внутрिलाбораторного контроля был посвящен доклад Натальи Владимировны Родионовой [«Внутрिलाбораторный контроль»](#)⁹ (АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»), в котором была отмечена необходимость контроля в любой лаборатории независимо от специфики ее деятельности, ключевых моментов, обеспечивающих прослеживаемость, качество и достоверность получаемых результатов, и подробно обсуждена роль ответственного по качеству.

В докладе Елены Петровны Гуляевой [«Стандарты оценки качества выполнения исследования»](#)¹⁰ (Центр неклинических испытаний на базе Центра генетических ресурсов лабораторных животных Федерального исследовательского центра Института цитологии и генетики СО РАН) обсуждены вопросы инспекции исследований службой по обеспечению качества и стандарты оценки качества выполнения исследования. В докладе подняты вопросы, касающиеся частоты проведения инспекций, содержания отчетов о проведенных проверках, особое внимание уделено несоответствиям, выявляемым в ходе инспекции исследований и проверки отчета об исследовании.

Завершая раздел «Обеспечение качества в лабораториях разного типа», необходимо подчеркнуть, что получение качественных и достоверных данных в любой лаборатории является результатом внедрения эффективной, легко управляемой системы менеджмента качества, напрямую зависит от соблюдения требований надлежащей лабораторной практики, действующих нормативно-правовых стандартов и создания соответствующих условий для получения данных.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лянг О.В., Черничук О.В., Рысенкова Е.Ю., Жирова И.А., Кочетов А.Г. Проблемы управления качеством лабораторных исследований в России // Лабораторная служба. 2017. № 6 (2). С. 33–37. DOI: [10.17116/labs20176233-37](https://doi.org/10.17116/labs20176233-37).
2. СанПиН 2.1.3684–21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».
3. USP 39, 1058, Analytical Instrument Qualification. URL: https://www.bioglobax.com/wp-content/uploads/2020/02/USP_1058_analytical_instrument_qualification.pdf (дата обращения: 07.2022).
4. Косман В.М., Фаустова Н.М., Карлина М.В., Макаров В.Г., Макарова М.Н. Использование биомаркеров в фармакокинетических исследованиях лекарственных препаратов природного происхождения // Ведомости научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2021. Т. 11. № 1. С 24–35. DOI: [10.30895/1991-2919-2021-11-1-24-35](https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-1-24-35).

⁹ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/rodionova-nv.pdf>

¹⁰ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/gulyaeva-ep.pdf>

Дизайн фармакологического эксперимента. Внедрение принципов ARRIVE в работу исследовательских центров

<https://doi.org/10.57034/978-5-6048955-0-4-s3>

Ю.Р. Болсуновская¹, Г.Н. Енгальчева¹, Д.Ю. Ивкин², М.А. Ковалева³, В.Г. Макаров³,
М.Н. Макарова³, Я.Г. Муразов⁴, М.В. Сергеева⁵, И.М. Суханов⁶, Р.Д. Сюбаев¹, Я.Г. Торопова⁷,
Н.М. Фаустова³

¹ ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России,

² ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России,

³ АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»,

⁴ ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России,

⁵ ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России,

⁶ ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова Минздрава России,

⁷ ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России

Этап доклинической разработки лекарственного препарата условно может быть разделен на 2 блока — это изучение фармакологической активности и оценка безопасности.

О комплексной оценке безопасности лекарственного препарата с использованием критериев значимости рассказала главный эксперт Управления № 2 по эффективности и безопасности лекарственных средств ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России Галина Нинелевна Енгальчева (доклад [«Комплексная оценка безопасности лекарственного препарата с использованием критериев значимости»](#)¹). Со вступлением в силу документов Евразийского экономического союза произошли изменения рекомендаций, предъявляемых к объему доклинических исследований безопасности на разных стадиях разработки лекарственного средства. На ранних этапах допускается проведение исследований в сокращенном объеме, а результаты полностью выполненных исследований требуются непосредственно на стадии регистрации лекарственного препарата. В связи с этим большее значение приобретает комплексная оценка имеющихся доклинических данных для гарантирования безопасности пациентов в самом начале клинической разработки, выделения ключевых факторов риска и анализа их значимости при оценке достаточности объема

¹ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/engalycheva-gn.pdf>

доклинических исследований и, при необходимости, планирования дополнительных экспериментов. На примере оригинального препарата Галина Нинелевна подробно представила современные требования к объему доклинических экспериментов. Особое место в своем выступлении она уделила токсикокинетическим исследованиям, которым заявители часто не уделяют должного внимания, и отметила, что это необходимые исследования, которые должны обязательно проводиться при изучении:

- токсичности при многократном введении;
- канцерогенности (долгосрочные исследования);
- репродуктивной токсичности.

Г.Н. Енгальчева напомнила слушателям о рекомендациях коллегии Евразийской экономической комиссии от 22.12.20 № 33 [«О Руководстве по изучению токсикокинетики и оценке системного воздействия в токсикологических исследованиях лекарственных препаратов»](#)². Согласно рекомендациям, токсикокинетические исследования являются неотъемлемой частью программы доклинического исследования, поскольку они позволяют обосновать интерпретацию полученных токсикологических данных, экстраполировать их на человека, а также сравнивать токсикологические и клинические данные для общей оценки рисков и безопасности лекарственного средства при медицинском применении. Основная цель токсикокинетических исследований — описание системной экспозиции лекарственного средства, достигаемой у животных, и ее связи с вводимой дозой, длительностью токсикологического исследования и токсическими эффектами.

Была указана важность выбора максимальных доз при изучении токсичности в случае повторного введения. Согласно решению коллегии Евразийской экономической комиссии от 26.11.19 № 202 [«О Руководстве по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов»](#)³, изученная доза признается достаточной, если достигнут один из критериев:

- максимальная переносимая доза;
- насыщение экспозиции;
- максимальная достижимая доза;
- превышение средней экспозиции по сравнению с клинической в 50 раз и более.

Если не выполнено ни одно из условий, необходимо следовать рекомендованному алгоритму, приведенному в вышеуказанном руководстве.

При разработке стратегии комплексного изучения репродуктивной токсичности целесообразно учитывать ключевые факторы, указанные в руководстве ICH S5(R2). К ним относятся:

- целевая популяция пациентов/терапевтические показания;
- состав препарата и способ(ы) введения, предназначенные для человека;
- соответствующие данные о токсичности, фармакодинамике, фармакокинетики и фармакологическом сходстве с другими препаратами;
- аспекты общей биологии фармакологической мишени или известное влияние мишени в воспроизведении (reproduction) или развитии (development).

² <https://docs.cntd.ru/document/573225495>

³ https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01523931/clcd_29112019_202

Согласно руководству ICH S5(R2), важными также являются исследования токсикокинетики и фармакокинетики:

- данные о системной экспозиции препарата могут быть получены либо при изучении репродуктивной токсичности (исследования по подбору доз или основное исследование), либо в исследованиях общетоксического действия;
- рекомендуется определить, влияет ли беременность на системную экспозицию;
- данные о токсикокинетики у беременных животных (по GLP) используются для выбора дозы;
- определение концентрации препарата у эмбриона/плода облегчает интерпретацию результатов исследования репродуктивной токсичности;
- данные о выведении препарата с грудным молоком можно получить путем отбора проб молока или демонстрации воздействия препарата на потомство экспериментальных животных в период грудного вскармливания.

Для оценки токсического потенциала лекарственного препарата (например, канцерогенного, иммунотоксического), а также принятия решения о необходимости дополнительных исследований (в том числе при разработке педиатрических препаратов) международные руководства (ICH S1B, ICH S8, ICH S11) рекомендуют использовать метод весомости признака (*Weight of evidence — WOE*). Данный подход применяется для оценки комплекса информации, полученной из нескольких независимых источников, с целью определения достаточности доказательств для обоснования клинических исследований или необходимости проведения дополнительных доклинических исследований при решении проблем безопасности, которые не могут быть решены клинически. Весомость имеющихся доказательств зависит от таких факторов, как качество данных, сопоставимость результатов, характер и тяжесть эффектов, релевантность информации. Подход весомости доказательств требует использования научного суждения, поэтому должен учитывать надежность и достоверность данных из различных источников. Вывод о безопасности препарата делается на основе анализа всех факторов.

Согласно руководству ICH S1B, при проведении WOE-анализа канцерогенности рекомендуется учитывать следующие факторы:

- фармакологические свойства (мишень действия, вторичная фармакодинамика, распределение фармакологической мишени у животных и человека);
- пролиферативные свойства препарата (при изучении токсичности при повторном введении);
- результаты изучения генотоксичности;
- наличие гормональных нарушений;
- иммуносупрессивные эффекты;
- результаты специально проведенных исследований по изучению механизма развития нежелательных эффектов;
- прочее.

При оценке наличия иммунотоксического действия учитывают следующие факторы в WOE-анализе (ICH S8):

- результаты стандартных токсикологических исследований;
- фармакологические свойства препарата;

- предполагаемую популяцию пациентов;
- структурное сходство с известными иммуномодуляторами;
- распределение препарата (если соединение и/или его метаболиты сохраняются в высоких концентрациях в клетках иммунной системы, следует рассмотреть возможность дополнительного изучения иммуотоксичности);
- клиническую информацию.

При разработке педиатрических препаратов решение о необходимости или нецелесообразности проведения дополнительных исследований (в том числе на неполовозрелых животных) также рекомендовано использовать WOE-анализ (ICH S8). Ключевыми являются следующие факторы:

- наименьший предполагаемый возраст пациентов;
- влияние препарата на рост и развитие органов и систем ребенка;
- объем и характер уже имеющихся данных (полученных в доклинических и клинических исследованиях);
- влияние мишени фармакологического действия препарата на развитие органов и систем;
- избирательность действия препарата;
- продолжительность клинического применения препарата.

Таким образом, современные нормативные документы предусматривают при разработке лекарственных препаратов возможность поэтапного проведения доклинических исследований безопасности и их оптимизацию. Решение о целесообразности проведения дополнительных исследований принимают на основании тщательного анализа факторов риска. При оценке результатов доклинических исследований рекомендуется использовать WOE-анализ. Если дополнительные исследования признаны нецелесообразными, в досье должно быть представлено обоснование разработчика. Вывод о безопасности препарата возможен только на основании комплексной оценки результатов доклинических и клинических исследований с учетом значимости факторов риска.

Руководитель отдела технологии, кинетики и анализа лекарственных средств АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» Марина Валерьевна Карлина в своем докладе [«Взаимосвязь фармакокинетики и фармакодинамики с фармацевтической разработкой»](https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/karlina-mv.pdf)⁴ полностью поддержала необходимость оценки фармакокинетических и токсикокинетических показателей в исследованиях эффективности и безопасности препаратов. Она отметила целесообразность проведения отдельных пилотных исследований еще на этапе фармацевтической разработки препарата, по ее мнению, это позволит получить «хорошую» готовую лекарственную форму не только с позиций технолога, но и клинициста, а также поможет снизить экономические и временные затраты на разработку препарата.

Об особенностях объема и дизайна экспериментальных исследований и биоаналитической части исследования эквивалентности сообщили:

- научный сотрудник Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный технический университет» Анастасия Викторовна Корель (доклад

⁴ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/karlina-mv.pdf>

[«Создание биорезорбируемого бактериального терапевтического комплекса для коррекции микробиоты кишечника»⁵\);](#)

- научный сотрудник Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный технический университет» Александр Геннадьевич Самохин (доклад [«Биоразлагаемые гелевые носители в хирургии — перспективы и реалии»⁶\);](#)
- старший научный сотрудник факультета фундаментальной медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» Ольга Игоревна Рудько (доклад [«Разработка новой фармакологической модели мигрени на грызунах»⁷\);](#)
- руководитель химико-аналитической лаборатории АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» Вера Михайловна Косман (доклад [«Особенности оценки биоэквивалентности препаратов низкомолекулярных гепаринов»⁸\).](#)

Докладчики отметили важность планирования исследований и научного обоснования методических подходов.

В последние годы научное сообщество, специалисты фармацевтических компаний, являющиеся спонсорами доклинических исследований, а также представители регуляторных органов все чаще высказываются о необходимости повышения воспроизводимости результатов доклинических исследований. Среди факторов, негативно влияющих на воспроизводимость, выделяют:

- непродуманный дизайн исследования, который не позволяет достичь поставленной цели;
- нарушение обращения с биологическим материалом в исследовании (например, нарушение требований хранения образцов крови до анализа);
- использование реагентов и наборов, утративших потребительские свойства;
- неадекватные методы статистического анализа;
- недостатки в изложении методологии и обсуждении результатов;
- отсутствие быстрого доступа к первичным данным.

Данный вопрос подробно рассматривался на конференции GLP-PLANET II, прошедшей в 2021 г. (Галагудза М.М. и др., 2021).

Заместитель директора Института экспериментальной медицины по научной работе Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России Яна Геннадьевна Торопова в докладе [«Референсные значения в первичной документации, сопровождающей доклинические исследования»⁹](#) привела результаты анализа воспроизводимости данных, опубликованных в 2016 г., согласно которым 70% исследователей не могут воспроизвести опубликованные результаты, а 50% — свои собственные (Baker M., 2016). Настолько низкая воспроизводимость (внешняя валидность) связана в том числе с ненадлежащим документированием результатов экспериментов.

⁵ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/korel-av.pdf>

⁶ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/samohin-a.g.pdf>

⁷ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/rudko-oi.pdf>

⁸ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/kosman-vm.pdf>

⁹ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/toropova-yag.pdf>

Следует отметить, что по состоянию на 2022 г. в Российской Федерации отсутствуют единые требования, предъявляемые к объему предоставленной информации на этапах планирования доклинических исследований и подготовки заключительного отчета, оформленных в виде конкретных рекомендаций и/или руководств. Представлены лишь общие признаки качественно проведенного исследования.

Для повышения качества заключительных отчетов об исследовании с использованием лабораторных животных (*in vivo*) в 2010 г. были опубликованы рекомендации ARRIVE (Animal Research — Reporting of In Vivo Experiments, исследования на животных: отчеты об экспериментах *in vivo*). В рекомендации ARRIVE 1.0 представлен контрольный перечень из 20 пунктов, которые должны быть включены в любую рукопись, содержащую результаты исследований с использованием лабораторных животных, с целью повышения «прозрачности» полученных результатов и возможности проведения экспертной оценки для понимания соотношения риска для используемых животных и пользы исследования для общества. Предпосылками создания данных рекомендаций стал в том числе ранее опубликованный обзор качества отчетности по финансируемым государством исследованиям на животных в Великобритании и США. Яна Геннадьевна привела результаты обзора, в рамках которого была проанализирована 271 статья. Рукописи были опубликованы в период с 2003 по 2005 г. и содержали результаты исследований с использованием разных видов животных. Рукописи были изучены на предмет включения информации, позволяющей оценить и воспроизвести исследование (Kilkenny С. и др., 2009). Проведенный анализ показал, что:

- рандомизация описана в 12% изученных рукописей, из которых 9% имели подробное описание;
- ослепление — в 14%;
- гипотеза, характеристики животных — в 59%;
- количество животных в разделе «материал и методы» — в 4%;
- обоснование размера выборки составило 0%;
- подробное описание методов статистического анализа дано в 70%, однако не был описан выбор используемых критериев.

За 10 лет рекомендации многократно обсуждались научным сообществом и были одобрены более чем 1000 научных журналов. Принципы ARRIVE 1.0 были размещены на веб-сайтах журналов и включались в инструкции для авторов. Научный руководитель АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» Валерий Геннадьевич Макаров в своем докладе [«Актуальные вопросы доклинических исследований в Российской Федерации»](#)¹⁰ привел результаты ретроспективного обсервационного когортного исследования V. Leung и соавт., опубликованного в 2018 г. Авторы рассмотрели 120 статей, опубликованных в 2009 г. и 116 статей — в 2015 г. В целом можно отметить, что к 2015 г. качество научных статей о результатах исследований с участием животных стало выше, но ряд пунктов ARRIVE (размер выборки, рандомизация, характеристика лабораторных животных и их содержание, дизайн исследования и др.) по-прежнему освещался не в полной мере (Leung V. и др., 2018).

В.Г. Макаров высказал мнение о целесообразности рассмотрения ARRIVE как руководства для создания научной системы менеджмента качества, поскольку отсут-

¹⁰ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/makarov-v.g..pdf>

ствие грамотного планирования, некачественное изложение методологии и результатов в отчете о доклиническом исследовании не позволяют получить воспроизводимые данные в клинической практике. Эту тему также затронул руководитель отдела экспериментальной медицины Научного центра инновационных лекарственных средств Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации Иван Николаевич Тюренков. В докладе [«Успехи и неудачи разработки лекарственных средств для лечения нейродегенеративных заболеваний»](#)¹¹ на примере препаратов для терапии нейродегенеративных заболеваний он рассказал, с чем могут быть связаны неудачи поиска перспективных лекарств, выделив в качестве основных позиций:

- подход к стратегии разработки лекарственных препаратов;
- выбор валидных моделей экспериментальной патологии;
- выбор валидных методов оценки терапевтического потенциала исследуемых веществ.

В дальнейшем рекомендации ARRIVE были пересмотрены. В рабочую группу вошли фармакологи, биологи, токсикологи, статистики и представители фармацевтических компаний. Тестирование нового списка контрольных вопросов одновременно проводилось в 19 странах. В 2020 г. сразу в 7 научных журналах была опубликована вторая версия [ARRIVE 2.0](#)¹² (du Sert N. P. и др., 2020). Ключевая идея пересмотра рекомендаций — необходимость публикации пояснений и уточнений к имеющемуся списку контрольных вопросов, обосновывающих необходимость представления информации в рукописях и отчетах по каждому пункту ARRIVE. Руководство применимо ко всем исследованиям с использованием разных живых организмов — млекопитающих, рыб, а также *Drosophila* и *Caenorhabditis elegans*. Авторы руководства сообщают, что при необходимости объем информации по каждому пункту может варьировать, это связано с особенностью исследования, поставленными целями и используемой тест-системой. Сегодня ARRIVE — контрольный список, состоящий из 21 вопроса и разделенный на 2 раздела (табл. 1).

Перечень «Минимальные требования» (ARRIVE Essential 10) предъявляет требования к предоставлению информации в отчете, без которой эксперт не может с уверенностью оценить достоверность представленных результатов. Он включает подробную информацию о дизайне исследования, размере выборки, мерах по уменьшению субъективной систематической ошибки, показателях результатов, статистических методах, животных, экспериментальных процедурах и результатах (табл. 2).

«Рекомендуемые требования» (Recommended Set) добавляют контекст описываемому исследованию и включают этическое заявление, заявление о заинтересованности сторон, доступ к данным, а также более подробную информацию о методологии разведения и содержания животных, об уходе и о мониторинге. Пункты, касающиеся реферата, предпосылок и целей исследования, интерпретации и обобщения результатов, описывают, какую именно информацию следует включать в повествовательные части отчета (табл. 3).

¹¹ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/tyurenkov-i.v.pdf>

¹² <https://journals.plos.org/plosbiology/article?id=10.1371/journal.pbio.3000411>

Таблица 1

Контрольный перечень вопросов ARRIVE 2.0

Контрольные вопросы	Раздел
1. Дизайн исследования	
2. Размер выборки	
3. Критерии включения и исключения	
4. Рандомизация	
5. Ослепление	ARRIVE Essential 10,
6. Критерии оценки	или
7. Статистические методы	Минимальные требования
8. Экспериментальные животные	
9. Экспериментальные процедуры	
10. Результаты	
11. Реферат	
12. Предпосылки	
13. Цели	
14. Этическое заявление	
15. Условия размещения и содержания животных	
16. Уход за животными и наблюдение	Recommended Set,
17. Интерпретация/научное значение	или
18. Возможность обобщения полученных результатов/трансляционность	Рекомендуемые требования
19. Регистрация протокола	
20. Доступ к данным	
21. Конфликт интересов	

Стоит отметить, что пересмотренная версия рекомендаций не содержит требований к предоставлению данных о выборе вида лабораторных животных для исследования, хотя данный вопрос является чрезвычайно важным при проведении доклинических исследований и во многом определяет возможность трансляции полученных результатов в клиническую практику.

Несмотря на одобрение принципов ARRIVE международным научным сообществом, они не нашли повсеместного применения в Российской Федерации. Принципы ARRIVE чаще рассматривались отечественными учеными не как надежный

Таблица 2

Минимальные требования	
Контрольный вопрос	Комментарии
1. Дизайн исследования	Для каждого эксперимента предоставьте краткие сведения о дизайне исследования, включая: а) сравниваемые группы, в том числе контрольные, если контрольной группы нет, должно быть изложено обоснование; б) экспериментальная единица (например, отдельное животное, помет или клетка с животными)
2. Размер выборки	Укажите точное количество экспериментальных животных (непосредственно участвовавших в эксперименте), выделенных для каждой группы, и общее количество в каждом эксперименте (например, если моделирование проводилось на большем количестве животных). Также укажите общее количество использованных животных. Объясните, как был определен размер выборки. Предоставьте подробную информацию о любых предварительных расчетах размера выборки, если таковые были
3. Критерии включения и исключения	Опишите все критерии, используемые для включения и исключения животных (или экспериментальных единиц) во время эксперимента, а также временные точки для применения критериев во время анализа. Уточните, были ли эти критерии установлены априори (например, границы массы животных, вероятность осложнения после операций и т.п.). Если критерии не были установлены, укажите это со всей очевидностью. Для каждой экспериментальной группы укажите всех животных, экспериментальные единицы или данные, не включенные в анализ, и объясните почему. Если не было исключений, укажите это. Для каждого анализа укажите точное значение n в каждой экспериментальной группе
4. Рандомизация	Укажите, использовалась ли рандомизация для распределения экспериментальных единиц в контрольные и лечебные группы. Если это сделано, укажите метод, используемый для создания последовательности рандомизации. Опишите стратегию, используемую для минимизации потенциальных искажающих факторов, таких как порядок лечения и обследования (например, очередность проведения манипуляций, может повлиять на результат) или расположение животного/клетки (например, положения клетки в разных частях бокса может приводить к разным условиям освещенности). Если вмешивающиеся факторы не контролировались, укажите это прямо
5. Слепление	Опишите, кто был осведомлен о характеристике групп на разных этапах эксперимента (во время распределения, проведения эксперимента, оценки результатов и анализа данных)

Окончание таблицы 2

Контрольный вопрос	Комментарии
6. Критерии оценки	<p>Четко определите все оцениваемые показатели результатов (например, гибель клеток, молекулярные маркеры или поведенческие изменения).</p> <p>Для исследований по проверке гипотез укажите основную меру результата, то есть меру результата, которая использовалась для определения размера выборки</p>
7. Статистические методы	<p>Предоставьте подробную информацию о статистических методах, используемых для каждого анализа, включая используемое программное обеспечение.</p> <p>Опишите любые методы, использованные для оценки соответствия данных предложенным статистическим подходам, а также, что было сделано, если предложенные статистические подходы не подошли</p>
8. Экспериментальные животные	<p>Предоставьте данные об использованных животных, включая виды, линию, пол, возраст или стадию развития и, если необходимо, массу.</p> <p>Предоставьте дополнительную соответствующую информацию о происхождении животных, здоровье/иммунном статусе, статусе генетической модификации, генотипе и о любых предшествующих процедурах</p>
9. Экспериментальные процедуры	<p>Для каждой экспериментальной группы, включая контрольную, опишите процедуры достаточно подробно, чтобы другие могли их воспроизвести, в том числе:</p> <ul style="list-style-type: none"> а) что было сделано, как это было сделано и что использовалось; б) когда и как часто; в) где (включая подробную информацию о периодах акклиматизации); г) зачем (объяснение процедуры)
10. Результаты	<p>По каждому проведенному эксперименту, включая независимые повторности, представьте:</p> <ul style="list-style-type: none"> а) сводную/описательную статистику для каждой экспериментальной группы с мерой вариабельности, где это применимо (например, среднее и стандартное отклонение или медиана и размах); б) если применимо, размер эффекта с доверительным интервалом

Таблица 3

Рекомендуемые требования	
Контрольный вопрос	Комментарии
11. Реферат	Предоставьте точное резюме целей исследования, видов животных, породы и пола, ключевых методов, основных результатов и выводов исследования
12. Предпосылки	Включите достаточный научный фон, чтобы понять обоснование и контекст исследования, а также объяснить экспериментальный подход (актуальность). Объясните, как используемые виды животных и модели решают научные задачи и при необходимости актуальность для биологии человека
13. Цели	Четко опишите вопрос исследования, цели исследования и конкретные проверяемые гипотезы
14. Этическое заявление	Укажите название комитета по этической экспертизе или его эквивалента, который одобрил использование животных в этом исследовании, а также номера соответствующих лицензий или протоколов (если применимо). Если этическое одобрение не запрашивалось или не предоставлялось, предоставьте обоснование
15. Условия размещения и содержания животных	Предоставьте подробную информацию о размещении и условиях содержания животных, включая любые улучшения окружающей среды
16. Уход за животными и наблюдение	Опишите любые вмешательства или шаги, предпринятые в экспериментальных протоколах для уменьшения боли, страданий и дистресса. Сообщайте обо всех ожидаемых или неожиданных нежелательных явлениях. Опишите гуманные конечные точки, установленные для исследования, признаки, за которыми наблюдали, и частоту мониторинга. Укажите, если исследование не имело гуманных конечных точек
17. Интерпретация/научное значение	Интерпретируйте результаты, принимая во внимание цели и гипотезы исследования, текущую теорию и другие соответствующие исследования в литературе. Прокомментируйте ограничения исследования, включая потенциальные источники систематической ошибки, ограничения модели на животных и неточности, связанные с результатами
18. Возможность обобщения полученных результатов/трансляционность	Прокомментируйте, могут ли и каким образом результаты этого исследования распространяться на другие виды или экспериментальные условия, включая какое-либо отношение к биологии человека (при необходимости)

Окончание таблицы 3

Контрольный вопрос	Комментарии
19. Регистрация протокола	Укажите, был ли протокол/план исследования (включая гипотезу, ключевые особенности дизайна и план анализа) подготовлен до исследования, а также был ли и где этот протокол зарегистрирован
20. Доступ к данным	Опишите, доступны ли и где данные исследования
21. Конфликт интересов	Заявите о любых потенциальных конфликтах интересов, в том числе финансовых и нефинансовых. Если таковых не существует, об этом следует указать. Перечислите все источники финансирования (включая идентификатор гранта) и роль спонсоров в разработке, анализе и отчетности исследования

инструмент, повышающий качество доклинических исследований, а как необходимый список контрольных вопросов при публикации рукописей в зарубежных изданиях.

В рамках сессии «Дизайн фармакологического эксперимента. Внедрение принципов ARRIVE в работу исследовательских центров» специалисты обменялись мнениями и личным опытом о возможности применения пунктов руководства при проведении доклинических исследований в отечественных испытательных центрах.

Руководитель научно-методической группы АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» Мария Александровна Ковалева в своем докладе [«ARRIVE как инструмент, позволяющий повысить качество отчета о доклиническом исследовании»](#)¹³ предложила взглянуть на рекомендации [ARRIVE 2.0](#) с другой стороны и пойти от обратного, то есть разработать стандартные операционные процедуры (СОП) организации на основании пунктов [ARRIVE 2.0](#), или провести оценку, в каком объеме они уже включены в СОП. Это позволило бы до начала написания научной работы (статьи или отчета) быть уверенным, что все процедуры в организации описаны, и созданы условия для их выполнения. Фактически руководство [ARRIVE 2.0](#) может рассматриваться как перечень СОП, необходимых для выполнения научно-исследовательских работ с использованием лабораторных животных.

Отдельное внимание было уделено вопросу, в каком объеме следует включать рекомендации в работу центра. Так, на примере пункта «Ослепление» М.А. Ковалева поделилась опытом внедрения в своей организации. В целом специалисты организации поддерживают мнение, изложенное в [ARRIVE 2.0](#), о том, что ослепление является надежным инструментом для минимизации субъективных убеждений участников доклинических исследований в пользу предпочтительной для них гипотезы. Процесс ослепления не должен усложнять проведение эксперимента, повышать затраты и затягивать сроки его выполнения, поэтому

¹³ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/9-00-kovaleva-m.a.-arrive.pdf>

используется подход частичного ослепления, который распространяется на специалистов, осуществляющих введение препаратов или манипуляции с животными, патоморфологические и клинико-лабораторные анализы, при этом руководитель исследования проводит статистический анализ параметров вне ослепления. Такой подход является эффективным и позволяет исключить субъективный взгляд специалистов, при этом является удовлетворительным только в том случае, если полностью отсутствует конфликт интересов между руководителем исследования и спонсором. В докладе также был освещен вопрос предоставления первичных данных экспериментов. Этот вопрос остро стоит как при проведении клинических, так и доклинических исследований. Мария Александровна показала материалы 2022 г., опубликованные Nature в отношении клинических исследований, где согласно проведенному анализу лишь 6,7% авторов реально предоставляют первичные данные исследований (при условии, что в публикации заявлена возможность их выдачи по запросу), а также выразила надежду, что в скором времени вопрос начнет решаться для доклинических исследований в нашей стране. В своем докладе она упомянула и другие рекомендации, нацеленные на повышение качества и воспроизводимости доклинических исследований — [PREPARE: guidelines for planning animal research and testing](#)¹⁴ и [DEPART: Design and Execution of Protocols for Animal Research and Treatment](#)¹⁵. PREPARE включает 3 основные области, определяющие качество подготовки к исследованиям на животных: формулирование исследования, коммуникацию научного звена со специалистами вивария и методы. Некоторые пункты PREPARE избыточны и должны решаться не на уровне каждого отдельного исследования, а на уровне организации. Таким примером может служить вопрос об обращении с биологическими отходами и биобезопасность. В целом эти процессы одинаковы, регламентированы на государственном уровне, а дополнительное обсуждение данного вопроса перед каждым отдельным экспериментом будет способствовать только увеличению сроков его проведения. Рекомендации DEPART являются частным случаем, разработанным в отношении исследований на животных с экспериментальной моделью остеоартрита, и могут рассматриваться как дополнение к ARRIVE. М.А. Ковалева подчеркнула, что именно рекомендации [ARRIVE 2.0](#) в большей степени применимы в отечественных испытательных центрах к этапам планирования исследования, а главное — к подготовке заключительного отчета. По мнению докладчика, внедрение данных рекомендаций будет способствовать повышению прозрачности отчетности об исследовании и публикационной активности отечественных специалистов, упростит процесс экспертной оценки данных исследований научным сообществом и позволит более детально оценивать соотношение пользы/риска для каждого эксперимента. Внедрение ARRIVE как эффективного инструмента повышения качества отчета о доклиническом исследовании принесет ощутимую пользу для всех сторон, вовлеченных в доклинический этап разработки лекарственных препаратов.

Заведующий лабораторией поведенческой фармакологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования

¹⁴ https://norecopa.no/media/apkzy31/prepare_checklist_russian.pdf

¹⁵ <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27816577/>

«Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации Илья Михайлович Суханов в докладе [«Использование ARRIVE 2.0 в научно-исследовательской практике на примере экспериментальной оценки развития толерантности к стимулирующему действию ингибиторов фосфодиэстеразы 10A на двигательную активность крыс»](#)¹⁶ поделился личным опытом использования принципов ARRIVE 2.0 в научно-исследовательской практике на примере экспериментальной оценки развития толерантности к стимулирующему действию ингибиторов фосфодиэстеразы 10A на двигательную активность крыс. В своем докладе он осветил результаты доклинического исследования, которое было проведено в 9 этапов, на каждом из которых были применены принципы ARRIVE, относящиеся к Recommended Set (рекомендуемые требования). Было указано, что 1-й этап представляет собой пилотное исследование, проведенное с использованием минимального количества лабораторных животных, с целью валидации экспериментальной модели и выбора дозы индуктора патологии. Илья Михайлович подробно рассказал о виде животных, используемых в исследовании, условиях их содержания, дизайне исследования и методах статистического анализа, которые были обсуждены еще до начала исследования, также сообщил о том, что исследование было одобрено биоэтической комиссией. На 2-м и 3-м этапах проводили оценку ингибиторов фосфодиэстеразы 10A у животных, которым предварительно вводили индуктор патологии. На этих этапах не выполняли пререгистрацию протокола, рандомизацию и ослепление. Полученные результаты позволили провести расчет мощности выборки для последующих исследований. Было установлено, что для следующих этапов, 4, 5 и 6-й (подтверждающие исследования), потребуется 9–12 животных. На этих этапах оценивали действие ингибиторов фосфодиэстеразы 10A при однократном введении. Протоколы этих этапов пререгистрированы на сайте <https://preclinicaltrials.eu/>. Проведено ослепление при выполнении следующих манипуляций: введение растворов, помещение животных в экспериментальную установку, перенос данных и их первоначальная статистическая обработка. Выполнена простая рандомизация с использованием функции RAND Excel. Эти же пункты ARRIVE были использованы при проведении последующих этапов исследования (7-й — пилотное и 8–9-й — подтверждающие исследования при повторном введении). Результаты 2-летнего многоэтапного исследования демонстрируют не только возможность, но и необходимость применения руководства ARRIVE 2.0 при осуществлении доклинических исследований.

Научный сотрудник лаборатории химиопрофилактики рака и онкофармакологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации Ярослав Геннадьевич Муразов представил доклад «Метаанализ как инструмент статистического синтеза данных доклинических исследований». Он отметил, что современный исследователь должен уметь использовать статистический аппарат для повышения качества и доверия к данным доклинических исследований. Ярослав Геннадьевич рассказал, что цели

¹⁶ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/suhanov-im.pdf>

и задачи метаанализа доклинических исследований кардинально отличаются от таковых для результатов клинических исследований. Систематические обзоры и метаанализы доклинических исследований являются гипотезогенерирующими и преследуют исследовательские цели, они позволяют включать все имеющиеся данные по разрабатываемому вопросу. Метаанализ доклинических исследований повышает трансляционность результатов для последующих клинических исследований, обеспечивает объективность результатов при соблюдении принципов 3Rs (replacement, reduction, refinement), позволяя получить новые знания на основании уже проведенных исследований, избежать дублирования экспериментов и повысить благополучие животных в исследовании. Так, например, в метаанализе с моделью цисплатин-индуцированной рвоты, предназначенной для изучения эффектов антиэметиков, установлено, что оценка эффекта не обязательно должна проводиться в течение 24 ч, достаточно и 4 ч для получения данных (du Sert N.P., 2011). Важная задача метаанализа доклинических исследований состоит в том, чтобы выявить источники возможных систематических ошибок для дальнейшей подготовки дизайна клинических исследований и повышения качества их выполнения. Для метаанализа доклинических исследований не совсем важна общая оценка размера эффекта вмешательства, куда важнее оценить направленность эффекта, включая его «устойчивость», а также выявить возможные источники гетерогенности между исследованиями. Я.Г. Муразов поделился личным опытом подготовки метаанализа в отношении влияния противоопухолевого соединения из класса нитрозоалкилмочевин на общую выживаемость лабораторных грызунов с интракраниальными опухолями. Полученные результаты не только были освещены на конференции, но и опубликованы в журнале «Лабораторные животные для научных исследований» (Муразов Я.Г. и др., 2022). Подготовка метаанализа обеспечивает требование пункта 12а руководства [ARRIVE 2.0](#), позволяет предоставить достаточную научную базу, чтобы обосновать контекст исследования, объяснить используемый экспериментальный подход и повысить методологическое качество исследований.

При обосновании контекста исследования отдельное внимание стоит уделять оценке возможности использования альтернативных методов исследования без участия лабораторных животных. Об этом в своем докладе [«Методика поиска альтернативных методов исследования»](#)¹⁷ рассказала директор АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» Марина Николаевна Макарова. На этапе планирования исследователю следует описать, какие попытки предпринимались для поиска подходящей замены. Была ли собрана вся возможная информация результатов исследований *in vitro* и *ex vivo*. Марина Николаевна отметила, что на сегодняшний день информации о том, как провести такую оценку, в каких случаях она будет достаточной и исчерпывающей, не существует. Спикер предложила использовать работу (Макарова М.Н., Макаров В.Г., 2022), в которой систематизированы современные методы *in vitro* и *ex vivo*, рассмотренные или рассматриваемые референсной лабораторией Европейского союза по альтернативным испытаниям на животных (EURL ECVAM — European Union Reference Laboratory for alternatives to animal testing). В случае если

¹⁷ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/makarova-mn.pdf>

применение других методов не позволяет достичь цели эксперимента, следует представить обоснование выбора вида животных. Как было отмечено Галиной Нинелевной Енгальчевой, такое обоснование не должно сводиться к фразе — «в исследовании был использован данный вид животных, поскольку он является стандартной тест-системой», требуется научное обоснование.

Продолжая тему принципов 3Rs, руководитель компании «Ин Виво Технологии» Сергей Евгеньевич Чалов в своем докладе [«Система оптической визуализации *in vivo*»](#)¹⁸ осветил возможности методов оптической визуализации в исследованиях *in vivo*, позволяющих проводить прижизненные наблюдения в режиме реального времени.

Как уже было указано выше, руководство [ARRIVE 2.0](#) не содержит требований к представлению данных о выборе вида лабораторных животных для исследования, пункт 8 рекомендует давать общую информацию о виде, линии/породе, поле, возрасте и массе животных, а также сопутствующую — источник получения, статус здоровья, генотип и т.д. Пункты 15 и 16 предлагают предоставить информацию об условиях содержания животных и о соблюдении норм по обеспечению благополучия животных в исследовании. Безусловно, описанная информация будет способствовать повышению воспроизводимости, но не трансляционности данных. С вопросом отсутствия достаточного количества опубликованных данных, касающихся выбора лабораторных животных для исследований, столкнулись специалисты Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Сотрудник лаборатории векторных вакцин Мария Валерьевна Сергеева в докладе [«Опыт применения хлопковых крыс для моделирования РСВ инфекции и иммунопатологии»](#)¹⁹ рассказала об опыте использования хлопковых крыс (*Peromyscus gossypinus*) для изучения вакцин. Данная тест-система редко применяется для проведения доклинических исследований, но является наиболее релевантной для изучения вакцин, используемых в терапии респираторно-синцициально-вирусных инфекций. Сегодня данная модель коммерциализирована компанией Sigmovir Biosystems, Inc. (США), впервые она была описана в 1971 г. советскими учеными и позднее, в 1987 г., группой американских исследователей. Мария Валерьевна поделилась рядом трудностей, с которыми столкнулись специалисты при внедрении данной модели. Хлопковая крыса — подвижное животное, требующее особенного внимания при содержании и проведении манипуляций. Нет обучающих видео по работе с данным видом животных, количество научных публикаций крайне мало, отсутствуют конкретные руководства по работе с этими животными. В ходе обсуждения доклада научный руководитель АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» В.Г. Макаров предложил коллегам из ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России опубликовать полученный бесценный опыт в отечественном журнале для расширения знаний о данном виде животных.

В рамках сессии были освещены вопросы, касающиеся возможности включения в дизайн исследований дополнительных биохимических биомаркеров в токсиколо-

¹⁸ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/chalov-se.pdf>

¹⁹ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/sergeeva-mv.pdf>

Таблица 4

Примеры лекарственных препаратов, влияющих на эндокринную систему

МНН	Фармакотерапевтическая группа	Известные негативные эффекты
<i>Функции щитовидной железы</i>		
Амиодарон	Антиаритмическое средство	Гипотиреоз (вследствие ингибирования поглощения йода фолликулярными клетками)
Алемтузумаб	Селективный иммунодепрессант	Гипертиреоз (следствие активации аутоиммунных механизмов)
Интерлейкин-2	Цитокин	Гипотиреоз (из-за повышенного уровня антитироглобулина и антитиреоидных микросомальных антител)
<i>Половая функция</i>		
Вальпроевая кислота	Противоэпилептическое средство	Прямое токсическое действие на ткани яичек, приводит к эректильной дисфункции
Карбамазепин	Противоэпилептическое средство	Увеличение синтеза глобулина, связывающего гормоны; снижение уровня половых гормонов
Тамоксифен	Противоопухолевое средство	Остановка овуляции (снижение синтеза ЛГ, блокирование рецептора эстрогена)
<i>Углеводно-липидный обмен</i>		
Ставудин, зидовудин; ритонавир	Противовирусное (ВИЧ) средство	Усиление процессов липолиза, приводящее к увеличению свободных жирных кислот в плазме и резистентности к инсулину
Хлорталидон	Диуретическое средство	Повышенный уровень глюкозы в крови натоцак, являющийся следствием гипокалиемии, что приводит к снижению секреции инсулина
Симвастатин, аторвастатин	Гиполипидемическое средство — ингибитор ГМГ-КоА-редуктазы	Повышенная резистентность к инсулину и снижение экспрессии GLUT4 в адипоцитах

Примечание. МНН — международное непатентованное название.

Таблица 5

Содержание некоторых гормонов основных вертикальных осей
у человека и лабораторных животных

Гормон	Мужчины и женщины	Крысы	Кролики	Карликовые свиньи
<i>Тиреотропная ось</i>				
Тиреотропный гормон (ТТГ), мМЕ/л	0,3–5,0	0,07–0,10	0,56–0,70	≥0,03; 0,01–0,38
Трийодтиронин (Т ₃), нмоль/л	1,2–3,1	6,1–7,2; 0,38–1,53	2,3–2,7; 1,7–2,1	1,3–2,7; 4,1–98,7
Тироксин (Т ₄), нмоль/л	39–155	44,1–51,5; 45,3–61,0; 37,5–87,5	23,8–51,3; 52,4–72,0	Самцы: 35–43; 43–356 Самки: 30–89; 17–243

Примечание. Здесь и в табл. 6 и 7 — собственные данные выделены жирным шрифтом, через точку с запятой приведены значения из различных литературных источников.

гических доклинических исследованиях для оценки риска, создаваемого здоровью человека. Руководитель лаборатории иммуноферментного анализа АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» Наталья Михайловна Фаустова в своем докладе [«Дизайн экспериментов — вклад биохимических методов»](#)²⁰ подробно рассмотрела группы биомаркеров, позволяющих оценить влияние на различные жизненно важные системы и органы (биомаркеры влияния на систему крови, биомаркеры нефро-, гепато-, иммуно- и нейротоксичности, биомаркеры токсического действия на респираторную и репродуктивную системы). Включение определения биомаркеров на этапе подготовки плана (протокола) исследований позволяет обеспечить принципы 3Rs и получить более точные суждения об эффектах препарата. Отмечено, что выбор биомаркеров и их проверка должны производиться с учетом специфичности и чувствительности каждого из них в развитии наблюдаемого неблагоприятного исхода для здоровья. Столь же тщательным должен быть подход к оценке точности и обеспечению высокого качества аналитических процедур, выполняемых для определения выбранного биомаркера. Наталья Михайловна также рассказала об основных вертикальных осях гормональной регуляции, эндокринных дизрапторах и привела примеры таких веществ (табл. 4).

В докладе Наталья Михайловна обсудила регуляторные аспекты оценки безопасности эндокринных дизрапторов (Крышень К.Л. и др., 2022) и акцентировала внимание на том, что при выборе релевантного вида животных для таких исследований необходимо определить нормальный уровень (референсные интервалы) гормонов эндокринных осей (табл. 5–7).

²⁰ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/faustova-nm-.pdf>

Таблица 6

Содержание некоторых гормонов гонадотропной оси
у человека и лабораторных животных

Гормон	Мужчины	Женщины	Крысы	Кролики	Карликовые свиньи
Тестостерон, нмоль/л	4,5–35,4	0–3,1	Самцы: 0,64–21,2 Самки: 0,94–3,47	Самцы: 50,6–56,2 Самки: 0,08–0,14	Самцы: 4,4–27,8; 5,1–25,2
Эстрадиол, пг/мл	30–68	28–178 (фол.) 51–549 (ов.)	Самцы: 37,2–43,4 Самки: 47–191	Самки: 408–564	Самки: 29–85; 30–90
Прогестерон, нмоль/л	0,5–6,0	0,5–6,0 (фол.) 10–94 (лют.)	18,7–21,3	4,6–10,0	66,8–270; 63,6–175
Фолликуло-стимулирующий гормон, нг/мл	0,05–0,55	0,07–0,68 (фол. и лют.) 0,26–1,04 (ов.)	Самцы: 8,6–12,2 Самки: 4,0–7,0	1,1–5,5	Самцы: 1,1–4,5 Самки: 1,5–7,2
Лютеинизирующий гормон, нг/мл	0,13–2,0	0,13–2,34 (фол. и лют.) 1,75–12,9 (ов.)	Самцы: 0,3–0,5 Самки: 0,1–0,5	0,55–1,4	Самцы: 0,64–3,1 Самки: 1,2–7,8

Примечание. Для женщин приведены диапазоны значений гормонов в различные фазы цикла: фол. — фолликулярная фаза, лют. — лютеиновая фаза, ов. — овуляторная фаза.

Таблица 7

Содержание некоторых гормонов кортикотропной оси
у человека и лабораторных животных

Гормон	Мужчины и женщины	Крысы	Кролики	Карликовые свиньи
Адренкортикотропный гормон (АКТГ), пг/мл	6–76	Самцы: 83–162; 6,3–12,7 Самки: 12,0–7,0	95–165	90–170
Кортизол, нмоль/л	138–635 (утром); 82–441 (вечером)	65–106; 26,6–44,0	22–27 (утром); до 38 (вечером)	Самцы: 25–33 Самки: 14,1–18,5
Кортикостерон, нмоль/л	3,8–66,5	Самцы: 197–1205; 655–855 Самки: 258–387; 1015–1415	252–284; 59–73	Нет данных

Несмотря на то, что руководство [ARRIVE 2.0](#) может стать реальным инструментом для повышения качества доклинических исследований, следует помнить, что внедрение данного руководства должно быть осознанным. Все пункты нужно проанализировать и использовать в объеме, необходимом для достижения научных целей конкретного испытательного центра.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Baker M. 1,500 scientists lift the lid on reproducibility // *Nature*. 2016. Vol. 533. P. 452–454. DOI: [10.1038/533452a](https://doi.org/10.1038/533452a).
2. du Sert N. P., Ahluwalia A., Alam S. et al Reporting animal research: Explanation and elaboration for the ARRIVE guidelines 2.0 // *PLoS Biology*. 2020. Vol. 18. N. 7. P. e3000410. <http://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000410>.
3. du Sert N. P., Rudd J.A., Apfel C.C. et al Cisplatin-induced emesis: systematic review and meta-analysis of the ferret model and the effects of 5-HT3 receptor antagonists // *Cancer Chemother Pharmacol*. 2011. Vol. 67. N. 3. P. 667–686.
4. Leung V., Rousseau-Blass F., Beauchamp G. et al ARRIVE has not ARRIVED: Support for the ARRIVE (Animal Research: Reporting of in vivo Experiments) guidelines does not improve the reporting quality of papers in animal welfare, analgesia or anesthesia // *PLoS One*. 2018. Vol. 13. N. 5. P. e0197882. DOI: [10.1371/journal.pone.0197882](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197882).
5. Kilkenny C., Parsons N., Kadyszewski E. et al Survey of the quality of experimental design, statistical analysis and reporting of research using animals // *PLoS One*. 2009. Vol. 30;4 (11). P. e7824. DOI: [10.1371/journal.pone.0007824](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007824).
6. Галагудза М.М. и др. Методология доклинических исследований. Консультант GLP-Planet. Мнение фармацевтической отрасли: монография / Под ред. В.Г. Макарова и В.Н. Шестакова. Москва: ИД «Русский врач», 2021. 168 с.
7. Крышень К.Л., Фаустова Н.М., Макарова М.Н. и др. Эндокринные нарушения при применении лекарственных средств: подходы к доклинической оценке безопасности // *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2022. С. 1–15 (Online First).
8. Макарова М.Н., Макаров В.Г. Альтернативные методы оценки токсичности в рамках этической экспертизы. Обзор // *Лабораторные животные для научных исследований*. 2022. № 1. С. 1–22. DOI: [10.29296/2618723X-2022-01-07](https://doi.org/10.29296/2618723X-2022-01-07).
9. Муразов Я.Г., Стуков А.Н., Змитриченко Ю.Г. и др. Влияние отечественного противоопухолевого соединения из класса нитрозоалкилмочевин хлонизола на общую выживаемость лабораторных грызунов с интракраниальными опухолями: метаанализ результатов доклинических исследований // *Лабораторные животные для научных исследований*. 2022. № 2. С. 1–8. DOI: [10.29296/2618723X-2022-02-05](https://doi.org/10.29296/2618723X-2022-02-05).

Референтные интервалы. Показатели нормы у лабораторных животных

<https://doi.org/10.57034/978-5-6048955-0-4-s4>

М.Л. Васютина¹, М.М. Галагудза¹, Я.А. Гушин², Д.Ю. Ивкин³, Н.С. Ильинский⁴, А.З. Матуа⁵,
М.В. Мирошников²

¹ ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России,

² АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»,

³ ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России,

⁴ ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт
военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации,

⁵ НИИЭПуТ АНА

Референтные интервалы (РИ), также называемые «нормальные диапазоны», или «референтные диапазоны» в доклинических исследованиях, — это оценочные значения биохимических, физиологических, морфологических и прочих параметров, рассчитанные для группы здоровых животных определенного вида и для определенного теста (Jones G., Barker A., 2008; Geffré A. et al., 2011; Friedrichs K.R. et al., 2012; Siest G. et al., 2013; Arnold J.E. et al., 2019; Евгина С.А., Савельев Л.И., 2019). Референтные интервалы (РИ) являются неотъемлемым компонентом лабораторного диагностического тестирования в доклинических исследованиях. Данные интервалы используют с целью выявления аномалий/отклонений от нормы. Другими словами, РИ позволяют критически взглянуть на полученные в эксперименте результаты. РИ могут выражаться как в абсолютных количественных значениях, так и в баллах, процентах и др. Американское общество ветеринарной клинической патологии (ASVCP — American Society for Veterinary Clinical Pathology) рекомендует придерживаться руководства CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) для определения популяционных РИ. Определение РИ является трудоемкой, но необходимой задачей доклинических исследований. Сложность определения РИ заключается в проблематичности отбора достаточного количества хорошо охарактеризованных здоровых субъектов и обеспечении идеально контролируемых преаналитических и аналитических условий.

Таблица 1

Разновидности референтных интервалов при работе с лабораторными животными

Группа референтных интервалов	Примеры параметров
Биохимические (кровь, моча, ткани и др.)	Общий белок, креатинин, мочевина
Гематологические	Эритроциты, лейкоцитарная формула
Физиологические	Артериальное давление, жизненная емкость легких, кислотность желудочного сока
Морфологические: макроскопические, микроскопические	Масса тела, массовые коэффициенты, диаметр аорты, «гистологическая норма»
Микробиологические	Гигиенический статус лабораторных животных

В своем докладе [«Разновидности референсных интервалов при экспериментировании на животных: зачем держать рамки?»](#)¹ Михаил Михайлович Галагудза (ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России) на конференции GLP-PLANET III сообщил о важности и необходимости создания РИ в доклинических исследованиях. В выступлении были обозначены общие положения определения «нормальных» диапазонов в выборке лабораторных животных, соответствующих определенным обозначенным критериям, то есть в группе референтных особей, представляющих популяцию. Отмечено, что РИ отражают межиндивидуальную и внутрииндивидуальную вариацию животных. Михаил Михайлович предложил классифицировать РИ на биохимические, физиологические, морфологические, микробиологические и другие подразделы (табл. 1).

В ходе доклада были отмечены главные функции РИ. Во-первых, РИ необходимо использовать для выявления отклонений от нормы при воспроизведении моделей патологических процессов или заболеваний, в ходе оценки безопасности и эффективности лекарственных средств. Во-вторых, РИ применяются для оценки внутрилабораторной воспроизводимости результатов.

Михаил Михайлович также отметил, что размер тела также влияет на метаболизм и большинство физиологических параметров организма (рис. 1), данную информацию необходимо учитывать при составлении РИ.

Спикером были рассмотрены методы определения РИ — прямой и непрямой. Так, прямой метод (целенаправленный проспективный набор значений), рекомендованный CLSI, обеспечивает контроль преаналитического и аналитического этапов и сохраняет полную информацию о референтных особях, включенных в исследование (рис. 2). В данном случае исследователь самостоятельно формирует критерии

¹ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/galagudza-mm.pdf>

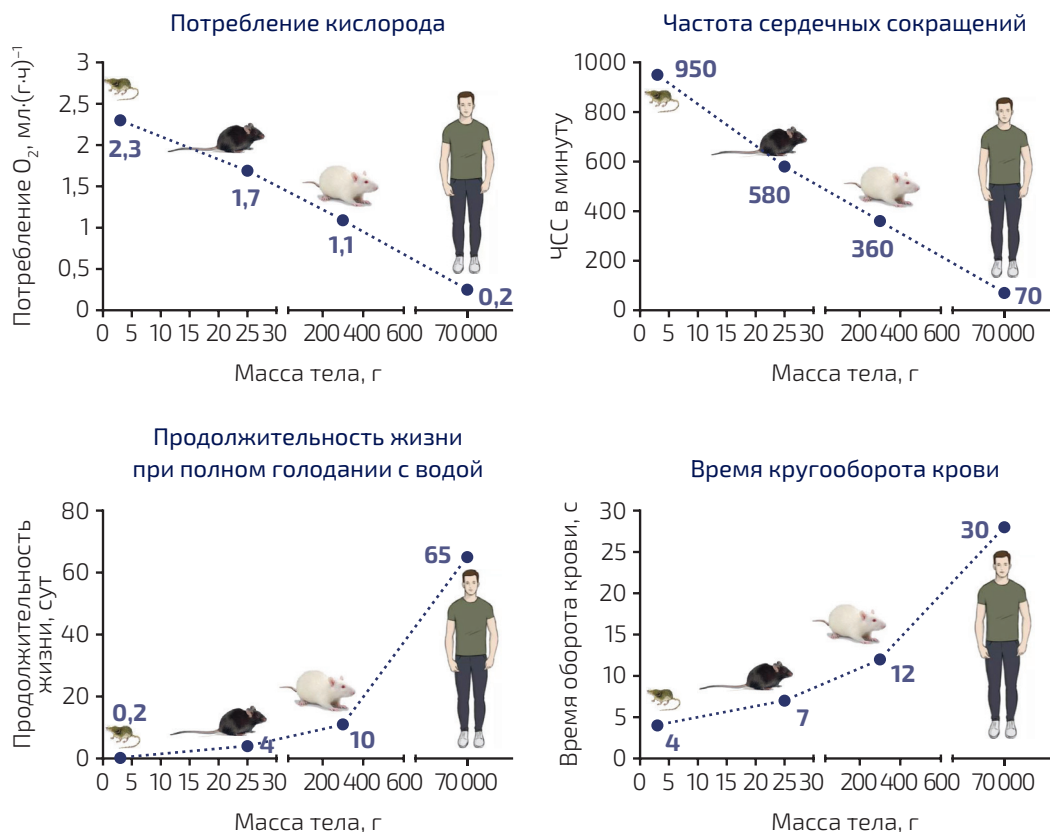


Рис. 1. Влияние размера тела на метаболизм и физиологические параметры

включения/исключения. Другим методом является не прямой ретроспективный анализ баз данных, характеризующийся меньшими материальными затратами и более обширной выборкой.

В конце своего доклада Михаил Михайлович Галагудза предложил обсудить наиболее дискуссионные вопросы, которые возникают при создании РИ, а также использовании их непосредственно в практической деятельности.

- Какое количество животных должно составлять референтную выборку?
- Животные какого качества должны формировать референтную выборку?
- Какие факторы влияют на результаты оценки референтных значений?
- Следует ли формировать базу референтных значений в каждом испытательном центре?
- Можно ли вводить референтные интервалы при моделировании патологии («эталон патологии» в доклинических исследованиях)?
- Следует ли бороться за максимально узкие референтные диапазоны?

К биологическим источникам варибельности РИ (рис. 3) можно отнести широкий перечень параметров, которые в зависимости от поставленных целей и задач



Рис. 2. Этапы процесса прямого получения референтных интервалов

могут вносить свои коррективы в финальный подсчет. Так, например, животные, полученные из разных источников, практически всегда будут иметь свои биохимические особенности. Другим примером является возраст, который будет весомым показателем при исследованиях на юных животных или в геронтологических группах. Помимо вариабельности, обусловленной биологическими показателями, следует обратить внимание и на аналитические показатели, к которым относятся пробоподготовка, метод анализа, способ обработки данных и др.

Ввиду большого количества показателей, влияющих на РИ, логично, что «нормальные диапазоны» одного и того же параметра, рассчитанного в разных лабораториях, будут отличаться между собой (табл. 2). Опираясь на вышесказанное, можно сказать, что выход из сложившейся ситуации — создание РИ в каждом доклиническом центре.

Спикер высказал мысль о целесообразности создания наряду с РИ их антиподов — «эталонов патологии» (рис. 4): величины, указывающей не на «нормальное состояние» лабораторного животного, а на успешно смоделированную или достигнутую патологию. «Эталон патологии» наряду с РИ, по словам докладчика,

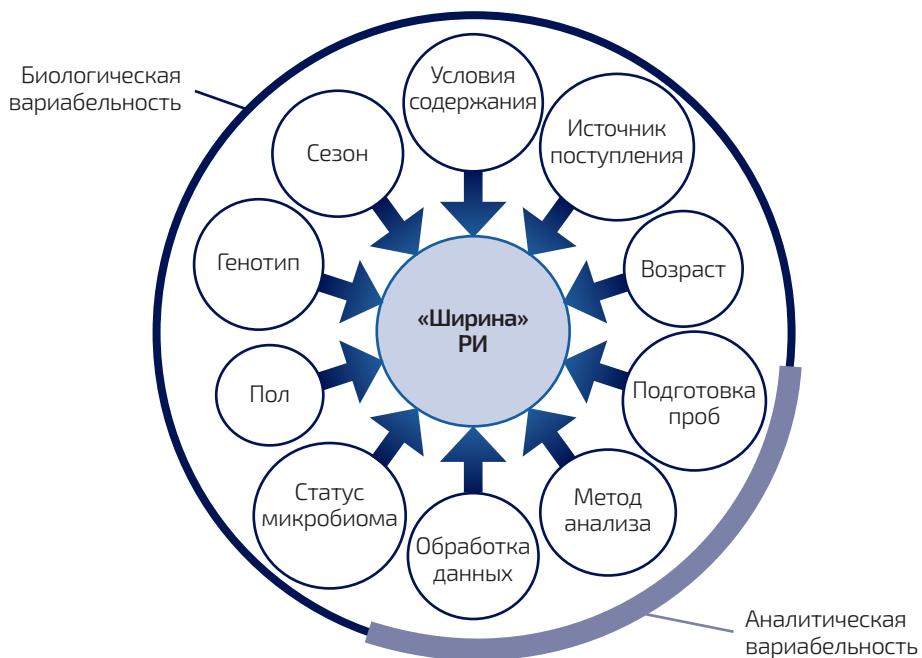


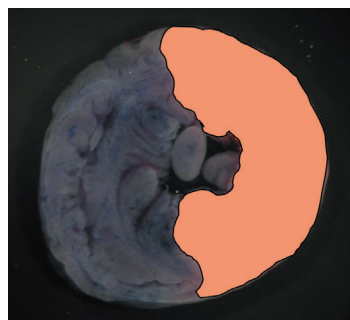
Рис. 3. Источники вариабельности референтных интервалов

Таблица 2

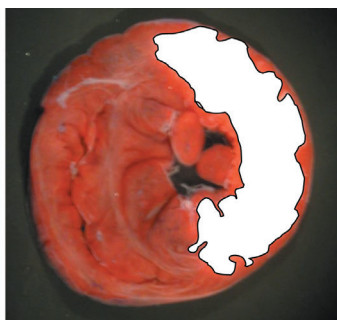
Пример сравнения референтных интервалов, составленных в АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», и данных литературы

Параметр	Данные литературы		Результат оценки референтного значения	
	Самцы	Самки	Самцы	Самки
Креатинин, мкмоль/л	60–140	60–140	70,4–130,4	69,7–155,8
Холестерин, ммоль/л	0,2–2,3	0,6–2,6	0,28–1,91	0,53–2,33
Общий белок, г/л	54–72	51–74	44–67	45–68
Альбумин, г/л	34–49	32–47	37–55	36–56
Глобулины, г/л	14–34	16–33	2,3–16	1,7–18,9
Глюкоза, ммоль/л	6,2–22,8	6,9–20	5,61–8,78	5,9–9,42
Общий билирубин, мкмоль/л	1,7–6,8	1,7–6,9	0,61–3,37	0,75–2,8

Модель регионарной
ишемии-реперфузии миокарда у крысы



Размер зоны
ишемии 34–46%



Размер зоны
некроза 56–68%

- Модель стрептозотоцинового сахарного диабета 1 типа — РИ уровня гликемии?
- Модель вазоренальной гипертензии — РИ уровня артериального давления?
- Модель ожирения, индуцированного диетой — РИ содержания жировой ткани в организме?

Рис. 4. Пример «эталона патологии» в доклинических исследованиях

смогли бы комплексно и в динамике оценить состояние животного, а именно определить, присутствует ли у лабораторного животного патологический процесс и насколько он развился.

В докладе Михаила Владимировича Мирошников (АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ») [«Установление референтных интервалов биохимических и гематологических показателей некоторых лабораторных животных в доклинических исследованиях»](#)² тема установления «нормальных» диапазонов также была дополнена рядом особенностей. Так, спикер упомянул о том, что референтные диапазоны обычно указываются как контрольные границы, включающие 95% здоровой контрольной популяции исследуемого вида животных. Критерии выбора животных для составления РИ должны включать биологические, клинические и географические особенности. Происхождение, аномалии или индивидуальные особенности могут также оказывать значительное влияние на точность РИ. Действительно, рассчитанные значения у животных в каждом конкретном случае могут быть весьма переменными, что требует повторных пересмотров или доработок действующих диапазонов. Важным моментом является определение критериев, по которым не следует включать определенных животных в исследование, поскольку они могут негативным образом повлиять на дальнейшие шаги в установлении интервалов (рис. 5).

Кроме того, Михаил Владимирович сказал, что важно помнить о таких понятиях, как «аналитическая ошибка», которая может быть систематической (результаты лабораторных исследований либо завышены, либо занижены и связаны с одинаковыми и определенными причинами), случайной (единичные ошибки одиночного значения, нет закономерности в их появлении, они не выходят за пределы области исследуемого компонента и влияют на индивидуальные результаты исследования),

² <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/miroshnikov-mv.pdf>

Критерии выбора животных

В идеале образцы должны быть взяты у животных, отражающих популяцию лаборатории. Хотя можно сформулировать референтные интервалы для конкретных возрастов или пород.

Общие критерии включения животных в определение референтного интервала:

- здоровые особи;
- отсутствие какой-либо лекарственной терапии;
- половозрелые особи;
- отсутствие беременности;
- среда обитания;
- диета и уход.



Рис. 5. Общие критерии включения животных для составления референтного интервала

и грубой (результаты исследований выходят за пределы области определяемого компонента как нормы, так и патологии).

Особенности преаналитического этапа

В ходе доклада Михаила Владимировича Мирошникова было сказано, что одним из важных факторов установления широкого спектра РИ в доклинических центрах является этап, предшествующий непосредственному выполнению исследования. Подготовка животных к отбору биоматериала, место отбора образцов, использование антикоагулянтов, система сбора материала, особенности центрифугирования, дальнейшая транспортировка — все это должно проводиться стандартизированным образом для всех животных, включенных в исследование.

Необходимо учитывать потенциальное неблагоприятное воздействие преаналитических факторов — стресс, анестезию, время отбора биообразца и сезонные колебания. Тип биоматериала (сыворотка, плазма, определенная часть органа) должен быть одинаковым для всех исследуемых животных (табл. 3 и рис. 6).

Анатомо-физиологические особенности биологических тест-систем

Название доклада Марины Львовны Васютиной (ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России) [«Референтные анатомо-физиологические значения биологических тест-систем»](#)³. В ходе доклада

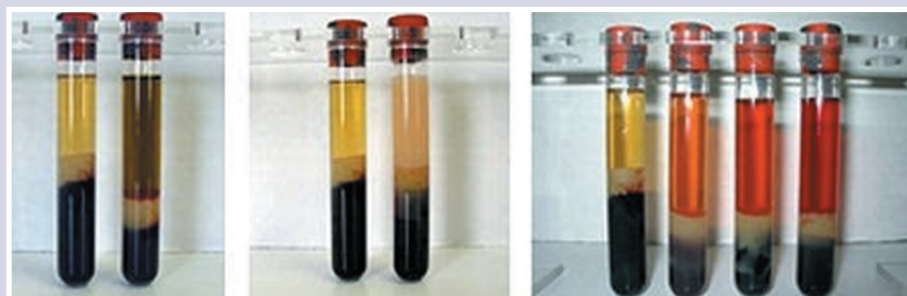
³ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/vasyutina-ml.pdf>

Таблица 3

Примеры влияния гемолиза, хилеза и иктеричности сыворотки на результаты биохимических анализов

Фактор	Показатель	
	Ложного понижения	Ложного повышения
Липемия или хилез	Мочевина, креатинин, калий	Общий билирубин, фосфор, глюкоза, общий белок, липаза, АЛТ, щелочная фосфатаза, кальций, гемоглобин
Иктеричность	Триглицериды, магний, креатинин	Общий белок, фосфор, хлориды
Гемолиз	Креатинин, глюкоза, хлориды, щелочная фосфатаза	АЛТ, АСТ, общий билирубин, кальций, фосфор, общий белок, магний, железо, калий

Три «врага» врача клинической и лабораторной диагностики



Норма
и иктеричность

Норма
и хилез

Норма
и гемолиз

<http://4gr.by/stat/tri-vraga-bioximii.html>

Рис. 6. Сравнение нормы, гемолиза, хилеза и иктеричности сыворотки крови в пробирке

спикером представлены компоненты качества лабораторных животных, на которые должны опираться формируемые РИ — стандартизированные условия содержания, генетический статус животных и контролируемая микробиота. Апеллируя к докладу Михаила Михайловича Галагудзы, спикер озвучил мысль о том, что понимание РИ необходимо для валидации моделей и воспроизводимости результатов, выполнения правила «трех R» (Refinement, Reduction, Replacement).

В своем докладе Марина Львовна также говорила, что порой стрессовая реакция лабораторных животных на фиксацию может быть сильнее, чем на экспериментальную процедуру, особенно для неприученных животных. В этой ситуации спикер призывал к необходимости соблюдения ряда процедур. Необходимо подбирать метод фиксации, доставляющий меньше дискомфорта животному, причем заранее надо предварительно адаптировать животного к фиксатору, габариты которого должны

Таблица 4

Пример влияния декапитации на ряд показателей крови лабораторных животных

Биологические эффекты декапитации	
Эффект	Механизм
Увеличение содержания Na, K, Ca, Mg в плазме	—
Увеличение концентрации ГАМК в мозгу	—
Увеличение концентрации аланина в мозгу	—
Увеличение содержания аскорбиновой кислоты в плазме	Гемолиз
Увеличение уровня катехоламина крови	Посмертные биохимические изменения
Изменения функции митохондрий в сердечной мышце	—
Увеличение содержания кортикостерона в крови	Стресс-фактор → мобилизация из тканей в кровь; общая метаболическая реакция, связанная с симпатoadренальным ответом на внешнее воздействие

соответствовать размеру животного. Продолжительность пребывания животного в фиксаторе не должна превышать время, необходимое для проведения исследования, при этом за животным необходимо присматривать. Аналогичная ситуация связана и с методами эвтаназии (табл. 4). Несоблюдение данных правил может привести к неправильным выводам и ложным результатам эксперимента.

В рамках анатомо-физиологических особенностей биологических тест-систем спикером было сказано о специфике сердечно-сосудистой системы человека, собаки и свиньи (рис. 7, табл. 5) в контексте моделирования сердечно-сосудистой патологии на крупных животных и экстраполяции данных. Сердце собаки плохо подходит для моделирования ишемического поражения ввиду большого количества сосудов, коллатералей и хороших механизмов компенсации функции органа в отличие от сердца свиньи, которое обладает схожими с человеческим массой и гемодинамическими показателями. Ввиду вышесказанного моделирование различных сердечно-сосудистых патологий лучше всего проводить на лабораторных свиньях.

Доклад Ярослава Александровича Гущина (АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ») [«Фоновая патология ЖКТ лабораторных животных \(крыс\)»](#)⁴ был посвящен распространенным патологиям животных, не связанным с воздействием исследуемого объекта. Эти отклонения бывают врожденными или приобретенными, физиологическими или патологическими, а могут быть и уникальными для данного вида. Докладчик обозначил определенные группы фоновых патологий крыс. К возрастным изменениям относятся инволюция тимуса, яичников, матки, кардиомиопатия, нефропатия

⁴ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/gushhin-yaa.pdf>

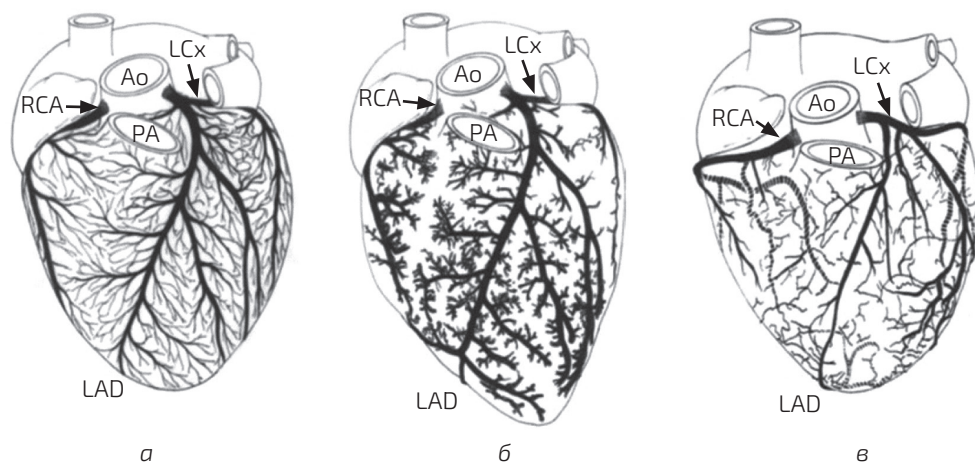


Рис. 7. Схематическое изображение коронарного артериального кровообращения в сердце собаки (а), свиньи (б) и человека (в). У свиней и людей коллатерализация между артериями относительно невелика, у собак она более обширная

Таблица 5

Специфика сердечно-сосудистой системы у человека, свиньи и собаки

Параметр	Человек	Свинья	Собака
Масса сердца, г	148–383	250–400	107–500
Соотношение массы сердца и тела	0,4	0,32	0,64–0,80
Кровяное давление, мм рт.ст.	120/80	130/75	136/66
Объем сердечного выброса, мл/мин	4,9–16	3	3,086–3,633
Частота дыхания в минуту	12–15	15–20	15–25

и опухолевые процессы. Также у животных распространены различные травмы — раны, переломы, ушибы, укусы, включая ятрогенные травмы (перфорация зондом, проколы иглой и др.). Необходимо учитывать и видовую предрасположенность животных к определенным заболеваниям. У крыс часто возникают нефропатии, кролики и хорьки подвержены патологии легких, мини-пиги — атеросклерозу и кардиомиопатии, а морские свинки — поражениям печени. Также у животных могут развиваться внутрилабораторные инфекции и паразитарные поражения.

Ярослав Александрович обозначил распространенность некоторых фоновых патологий. К наиболее часто встречающимся макроскопически выявляемым изменениям

Таблица 6

Наиболее распространенная фоновая патология пищевода у лабораторных крыс

Пищевод (n=1400)			
Макроскопические проявления		Микроскопические проявления	
Патология	Частота встречаемости, %	Патология	Частота встречаемости, %
Эрозивно-язвенное поражение	0,9	Эзофагит	2,4
Гиперемия	1,1	Эрозии	1,0
Последствия перфорации при внутрижелудочном введении	0,6	Язвы	0,1
		Гиперкератоз	1,7
		Гиперплазия эпителия	2,0
		Последствия перфорации при внутрижелудочном введении	0,6

Таблица 7

Наиболее распространенная фоновая патология желудка у лабораторных крыс

Желудок (n=1400)			
Макроскопические проявления		Микроскопические проявления	
Патология	Частота встречаемости, %	Патология	Частота встречаемости, %
Эрозивно-язвенное поражение безжелезистой части	0,9	Эрозии безжелезистой части	0,6
Эрозивно-язвенное поражение железистой части	1,9	Эрозии железистой части	1,1
Гиперемия	8,4	Гастрит	5,0
		Язвы безжелезистой части	0,4
Кровоизлияния	4,4	Язвы железистой части	0,8
		Гиперкератоз	3,3
		Расширение желез	3,9
		Гиперплазия эпителия	0,5

Таблица 8

Наиболее распространенная фоновая патология
двенадцатиперстной кишки, тонкой и толстой кишки у лабораторных крыс

Макроскопические проявления		Микроскопические проявления	
Патология	Частота встречаемости, %	Патология	Частота встречаемости, %
Двенадцатиперстная кишка (n=1400)			
Кровоизлияния	1,7	Дуоденит	2,2
Гиперемия	4,2	Эрозии	0,6
		Язвы	0,2
Тонкая кишка (n=1400)			
Кровоизлияния	3,1	Энтерит	2,9
Гиперемия	3,4	Эрозии	0,6
Эрозивно-язвенное поражение	0,8	Язвы	0,5
Переполненный кишечник	2,2		
Толстая кишка (n=1400)			
Кровоизлияния	1,9	Колит	4,4
		Эрозии	1,0
Гиперемия	3,8	Язвы	0,7
Эрозивно-язвенное поражение	0,4		
Переполненный кишечник	1,7		

пищевода относится гиперемия и эрозивно-язвенное поражение, а к микроскопическим — эзофагит и гиперплазия эпителия (табл. 6).

Чаще всего макроскопическими проявлениями фоновой патологии желудка являются гиперемия и кровоизлияние, а микроскопическими — гастрит, расширение желез и гиперкератоз (табл. 7).

В целом частота встречаемости подавляющего числа фоновых патологий колеблется от 0,1 до 5% от общего количества выборки животных (табл. 8). В завершение доклада Ярослав Александрович обозначил правила, которые должны выполняться в ходе исследования для предотвращения ошибок. Необходимо при составлении дизайна исследования включать группы интактных животных и контрольных (контроль носителя и манипуляции). Также важно контролировать состояние животных и вести базы данных, в которых должна быть задокументирована вся встречающаяся фоновая патология.

Еще одно сообщение, описывающее анатомо-физиологические особенности референтных интервалов крыс, представил Никита Сергеевич Ильинский (ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны России). В докладе [«Электронейромиография в токсикологическом эксперименте на грызунах»](#)⁵ Никита Сергеевич озвучил, что в экспериментальной практике довольно мало данных о РИ лабораторных животных по электрофизиологии, что обуславливает необходимость определения РИ параметров электронейромиографии крыс. Применение данных РИ возможно в рамках изучения фармакологической безопасности, а также в ходе моделирования заболеваний нервной системы при разработке новых терапевтических агентов. Спикер отметил необходимость проведения предэкспериментального скрининга животных с целью выбраковки/соответствия состояния здоровья. Были определены РИ основных параметров электронейромиографии у белых беспородных крыс и особенности их электрофизиологического статуса (табл. 9).

Докладчик сообщил, что признаки токсических поражений периферической нервной системы могут быть выявлены с помощью электронейромиографии в течение первых минут после интоксикации, а динамическое сравнение параметров стимуляции обеспечивает высокую диагностическую ценность. Электронейромиография позволяет проводить дифференциальную диагностику поражения нейротоксинами периферического действия различных групп за счет регистрации типовых электрофизиологических паттернов, а применение высокочастотной ритмической стимуляции повышает вероятность выявления нарушений нервно-мышечной передачи различного генеза, в том числе среди интактных животных.

Стоит отметить, что возможность диагностики ранних признаков повреждения структур периферической нервной системы определяет перспективность применения электронейромиографии в доклинических исследованиях безопасности лекарственных средств.

Документация и форма подачи материала

Своевременное заполнение первичной документации является необходимой составляющей процедуры установления РИ. Для предотвращения ошибок все этапы должны быть отражены. Форма представления РИ может быть различной, в некоторых случаях это могут быть целочисленные значения, отражающие количество изучаемого параметра (биохимические показатели), проценты или же баллы (форма/интенсивность исследуемого параметра). Необходимо фиксировать информацию, содержащую условия и время хранения биообразцов (температуру помещения, использование формальдегида или холодильника/морозильной камеры, немедленное исследование полученного материала).

Дмитрий Юрьевич Ивкин (ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России) в своем выступлении

⁵ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/ilinskij-ns.pdf>

Таблица 9

Референтные интервалы основных параметров электроэнцефалографии у самцов белых беспородных крыс в возрасте 8–10 нед в норме (n=80)

Параметр	Среднее значение	Стандартное отклонение	95% доверительный интервал	Коэффициент вариации, %	Медиана	Квартиль 1; Квартиль 3
Масса тела, г	237,4*	22,36	230,25; 244,52	9,42	237,53	224,32; 249,85
Амплитуда М-ответа, мВ	34,95*	7,146	32,67; 37,24	20,45	35,85	29,70; 38,85
Сила тока супрамаксимальной стимуляции, мА	8,22*	3,31	7,17; 9,28	40,23	8,00	5,00; 11,00
Длительность М-ответа, мс	2,27*	0,282	2,18; 2,36	12,45	2,20	2,10; 2,47
Дистальная латентность М-ответа, мВ·мс	0,93	0,308	0,83; 1,03	33,14	0,80	0,70; 1,20
Площадь М-ответа, мВ·мс	37,57*	10,02	34,36; 40,78	26,68	36,95	30,93; 43,53
Скорость распространения двигательной волны, м/с	28,13*	10,24	24,85; 31,40	9,421	26,70	19,40; 34,38

Примечание. * Нормальное распределение (критерий Колмогорова–Смирнова).

«Регламентирование исследований фармакодинамики (модель, эффект, механизм действия)»⁶ сообщил о проблеме трансляции полученных результатов с доклинических на клинические исследования. Правовой «разлом» регуляции, который на сегодняшний день присутствует в доклинических исследованиях, заключается в том, что очень жестко регулируются исследования безопасности, но при этом отсутствует жесткая регуляция эффективности как таковая (рис. 8).

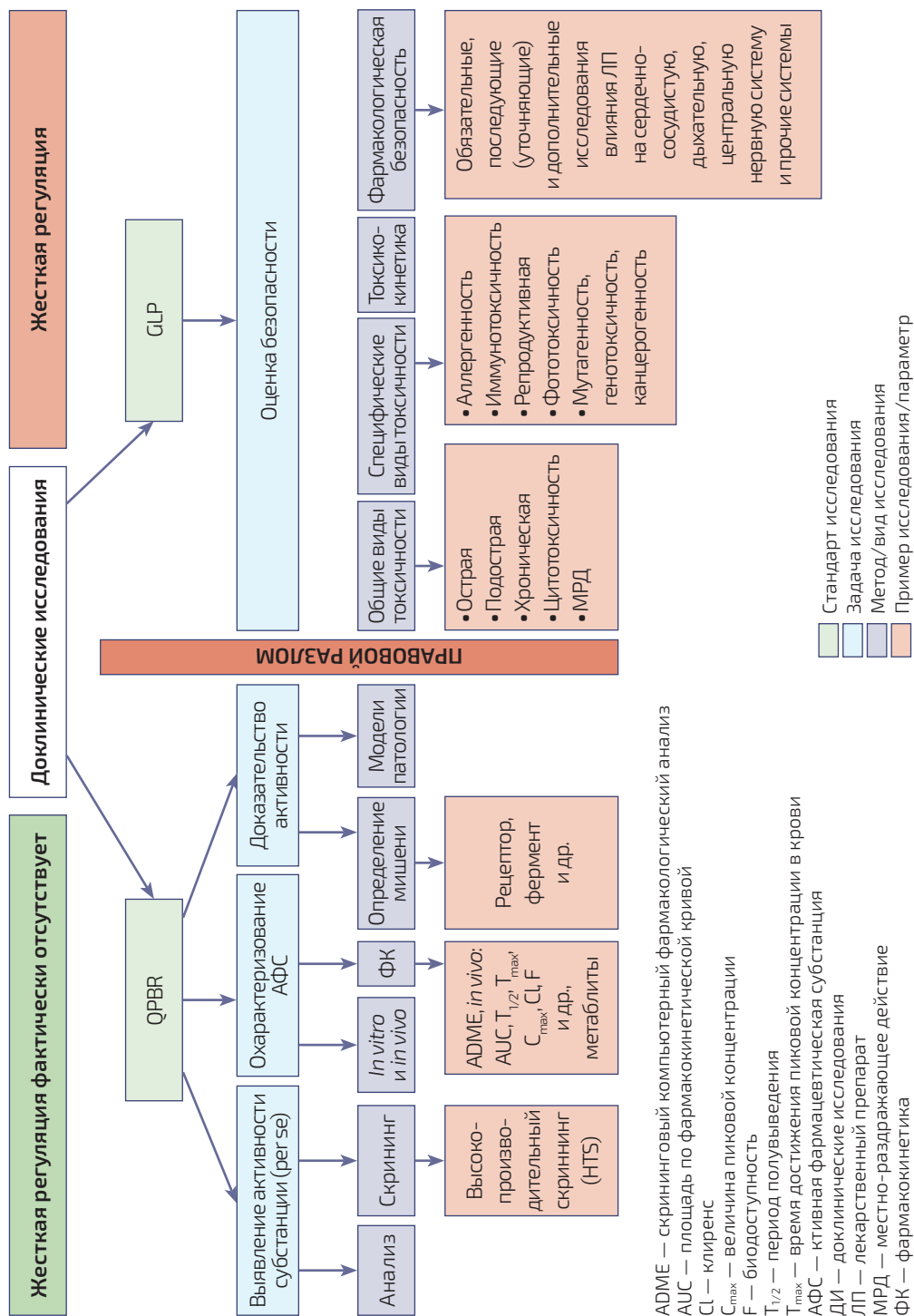
По словам докладчика, все это неизменно приводит к ситуации, когда на фармацевтическом рынке появляются новые безопасные препараты, но при этом сложно судить об их эффективности. Данная проблема приводит к появлению так называемой долины смерти лекарственных средств, заключающейся в том, что 90% лекарственных средств не проходит клинических исследований. Как было сказано Дмитрием Юрьевичем, результаты, полученные в исследованиях на животных, не всегда адекватно транслируются на людей. Безопасность лекарственных веществ оценивается в большей степени на здоровых животных, а нацелена на людей с определенной патологией. Докладчик упомянул, что на сегодняшний день существует достаточное количество публикаций, например, Quality practices in basic biomedical research (QPBR), направленных на регламентирование и моделирование патологического процесса в доклинических исследованиях, вопрос только в том, насколько эта модель соответствует необходимым требованиям и задачам. К основным признакам качественно проведенного исследования Дмитрий Юрьевич отнес надлежащее планирование (согласно QPBR или другим регламентирующим документам), проведение, контроль работы и составление отчета. Также результаты исследования, по словам докладчика, должны быть релевантные, достоверные, воспроизводимые, этические, верифицируемые и являться общественным достоянием.

Аналитический этап

Данный этап осуществляется непосредственно в лаборатории и зависит от современного передового оборудования, квалифицированных специалистов и наборов реагентов, имеющих высокую диагностическую чувствительность и специфичность. Биообразцы следует тестировать с использованием валидированных методик, которые проводятся с надлежащим контролем качества. Результаты должны контролироваться в режиме реального времени, чтобы возникающие ошибки можно было обнаружить и исправить.

В докладе Михаила Владимировича Мирошниковца говорилось о проблемах установления «нормальных диапазонов» для животных. В своем выступлении спикер отметил, что гематологические и биохимические РИ играют фундаментальную роль для оценки состояния здоровья, физиологических изменений, диагностики заболеваний и принятия решений о терапии животных (табл. 10, 11). В ходе доклада высказано предположение о том, что полученные данные, находящиеся за пределами РИ, не всегда указывают на развитие патологического процесса. По словам

⁶ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/ivkin-dyu.pdf>



ADME — скрининговый компьютерный фармакокинетический анализ

AUC — площадь под фармакокинетической кривой

Cl — клиренс

C_{max} — величина пиковой концентрации

F — биодоступность

T_{1/2} — период полувыведения

T_{max} — время достижения пиковой концентрации в крови

АФС — активная фармацевтическая субстанция

ДИ — доклинические исследования

ЛП — лекарственный препарат

МРД — местно-раздражающее действие

ФК — фармакокинетика

Рис. 8. Правовой «разлом» регуляции доклинических исследований

Таблица 10
 Референтные интервалы биохимических показателей крови человека и некоторых лабораторных животных. Зеленым цветом выделены наиболее схожие параметры

Показатель	Человек	Яванские макаки	Собаки	Кролики	Хорьки	Крысы	Мыши	Хомяки
Креатинин, мкмоль/л	74–110	49–146 (98)	64–100 (82)	70,4–130,4 (100,4)	45–91 (68)	45,0–75,1 (60,1)	33–59 (45)	20–47 (34)
Мочевина, ммоль/л	2,5–6,4	2,1–13 (5,7)	3,1–7,7 (5,4)	2,9–8,3 (5,6)	4,6–14 (9,2)	3,1–7,3 (4,8)	6,8–9,5 (8,1)	3,6–11 (7,7)
Аспаратаминотрансфераза (АСТ), Ед/л	<45	21–63 (42)	32–58 (45)	14–40 (25)	40–94 (67)	81–224 (122)	59–104 (81)	43–129 (86)
Аланинаминотрансфераза (АЛТ), Ед/л	<45	5,4–68 (37)	40–72 (56)	20–80 (44)	30–129 (80)	34–81 (53)	27–71 (49)	50–165 (108)
Щелочная фосфатаза, Ед/л	30–120	139–1107 (387)	86–219 (152)	36–224 (116)	9,1–34 (21)	79–287 (161)	78–219 (152)	82–329 (272)
Холестерин, ммоль/л	<5,2	1,3–3,8 (2,5)	4,1–7,5 (5,8)	0,28–1,9 (0,85)	2,3–5,2 (3,8)	1,0–2,7 (1,9)	1,4–6,7 (4,1)	1,6–2,8 (2,21)
Триглицериды, ммоль/л	<1,7	0,33–1,5 (0,79)	0,33–0,65 (0,49)	0,29–1,5 (0,67)	0,56–1,9 (0,79)	0,28–1,24 (0,66)	0,53–2,4 (1,2)	0,6–1,6 (1,0)
Общий белок, г/л	64–84	59–85 (73)	53–63 (58)	44–67 (55)	46–76 (61)	59–78 (70)	40–66 (53)	53–69 (61)
Альбумин, г/л	35–53	34–55 (47)	30–38 (34)	37–55 (46)	21–35 (32)	25–37 (31)	15–24 (20)	18–34 (26)
Глюкоза, ммоль/л	3,3–5,5	2,0–7,0 (4,5)	5,2–6,8 (6,0)	5,6–8,8 (7,2)	4,5–7,1 (5,8)	3,7–13 (8,3)	3,8–8,8 (6,8)	4,8–13 (9,4)
Общий билирубин, мкмоль/л	<21	0,60–5,4 (2,9)	0,93–1,9 (1,4)	0,61–3,37 (1,77)	0–2,5 (1,1)	1,14–3,7 (2,3)	2,7–6,7 (4,7)	0,6–3,4 (1,9)

Таблица 11
 Референтные интервалы показателей общего анализа крови человека и некоторых лабораторных животных.
 Зеленым цветом выделены наиболее схожие параметры

Показатель	Человек	Яванские макаки	Хорьки	Хомяки	Мыши	Кролики	Собаки	Крысы
RBC, $\times 10^9$ /dL (эритроциты)	4,3–5,7	4,7–7,6 (6,1)	9,1–12 (11)	7,3–10,5 (8,9)	7,4–9,1 (8,5)	5,1–7,5 (6,3)	6,1–8,8 (7,4)	7,7–10 (9,0)
HCT, % (гематокрит)	39–49	31–49 (40)	46–59 (53)	40–54 (47)	38–48 (43)	37–67 (45)	43–61 (52)	42–54 (48)
Hgb, g/dL (гемоглобин)	13–17	10–15 (13)	15–19 (17)	15–19 (17)	13–15 (14)	11–15 (13)	12–17 (15)	15–19 (17)
MCV, fL (средний объем эритроцита)	80–99	49–81 (65)	48–54 (51)	49–56 (54)	45–59 (52)	63–71 (68)	65–76 (70)	49–56 (53)
MCH, pg (среднее содержание гемоглобина в эритроците)	27–34	15–26 (21)	15–17 (16)	17–21 (19)	15–19 (17)	19–23 (21)	19–21 (20)	17–20 (19)
MCHC, % (средняя концентрация гемоглобина в эритроците)	30–38	28–35 (31)	31–33 (32)	35–37 (36)	31–35 (33)	29–32 (31)	27–29 (28)	34–36 (35)
Platelets, $\times 10^3$ /dL (тромбоциты)	150–400	215–641 (428)	368–978 (672)	373–646 (510)	663–849 (756)	157–566 (362)	235–483 (359)	663–804 (694)
WBC, $\times 10^3$ /dL (лейкоциты)	4–10	6,5–21 (14)	1–10 (6,2)	3,9–8,3 (6,2)	3,9–13,4 (8,7)	3,7–11 (7,1)	7,3–14 (11)	3,8–16 (9,7)
Гранулоциты, %	50–80	26–75 (51)	19–49 (34)	17–47 (32)	5,4–21 (13)	17–43 (30)	80–90 (85)	8,4–30 (19)
Лимфоциты, %	19–37	14–64 (39)	41–75 (58)	47–79 (63)	73–92 (83)	54–81 (68)	5,9–14 (9,7)	62–89 (76)
Моноциты, %	3–12	4,6–16 (10)	4,6–12 (8)	3,7–5,8 (4,8)	1,2–5,9 (3,6)	1,6–3,5 (2,5)	3,9–6,5 (5,2)	1,9–7,4 (4,7)

Михаила Владимировича, такие значения находятся в пределах небольшого 5% отклонения от установленного РИ и не сопровождаются другими лабораторными или клиническими признаками, которые могут быть связаны с какой-либо патологией.

Статистическая обработка данных

Тема статистических методов обработки данных в контексте создания РИ была озвучена в докладах Михаила Михайловича Галагудзы и Михаила Владимировича Мирошников.

Распределение данных может быть гауссовым (параметрическим) или негауссовым (непараметрическим). Поскольку статистические методы для идентификации выбросов и определения пределов референтных значений могут зависеть от распределения, следует воспользоваться тестами Андерсона–Дарлинга, Колмогорова–Смирнова, или Шапиро–Уилка.

Далее было сказано, что идентификация, устранение или исправление выбросов («экстремально» высокие или «экстремально» низкие значения) — важный шаг в оценке референтных данных. Включение таких выбросов в финальный массив оказывает отрицательное влияние на определение референтного предела. Для проверки полученных значений на выбросы должны использоваться определенные статистические методы, такие как алгоритмы Диксона, Хорна, метод Тьюки и др.

Спикерами также поднимался вопрос рекомендуемого, по данным литературы (ASVCP), количества лабораторных животных, необходимого для составления РИ. По словам докладчиков, выборка должна включать до 120 животных. С биоэтической точки зрения (правило «трех R») следует планировать наименьшее количество животных в группе, необходимое для получения достоверного результата, и избегать неоправданного использования животных. Оптимальным количеством для расчета РИ был назван диапазон от 20 до 120 животных. Можно использовать и меньшее количество, но при нехватке животных или других обоснованных причинах.

В докладах также упоминался коэффициент вариации. Данный показатель служит характеристикой случайных погрешностей, который используется для оценки сходимости и воспроизводимости измерений. Коэффициент вариации является отношением среднеквадратичного отклонения к среднеарифметическому значению определенного количества результатов измерений. Было сообщено, что он может использоваться для одних и тех же данных за два временных периода или за один и тот же период, но в двух разных местах. Коэффициент вариации показывает степень изменчивости по отношению к среднему показателю выборки. В статистике принято, если данный показатель меньше 10%, то степень рассеивания данных считается незначительной, если от 10 до 20% — средней, больше 20% и меньше/равно 33% — значительной. Если значение коэффициента вариации не превышает 33%, то совокупность считается однородной, а если больше 33% — неоднородной.

Дифференциация полученных данных

В ряде докладов конференции GLP-PLANET III неоднократно было сказано, что важным аспектом составления РИ является разделение животных по определенным критериям. Распределение на подгруппы должно основываться на следующих физиологических особенностях — пол и возраст, географических — животные из разных вивариев или стран, время года получения биообразцов, медикаментозные манипуляции и т.д. Разделение способствует однородности субпопуляции и уменьшает изменчивость внутри группы.

Алиса Зауровна Матуа (Государственное научное учреждение Научно-исследовательский институт экспериментальной патологии и терапии Академии наук Абхазии) в своем докладе [«Сравнительно-возрастное исследование приматов»](#)⁷ говорила об особенностях физиологических систем низших обезьян и человека. Было проведено исследование нескольких групп обезьян (макаки-резусы, павианы гамадрилы, яванские макаки): детеныши (от 1 мес до 1 года), неполовозрелые (от 1 года до 3–4 лет), молодые половозрелые (от 4 до 11 лет), зрелого возраста (от 12 до 19 лет), старые животные (от 20 до 26 лет) и долгожители (от 27 лет и старше). В работе рассматривался широкий спектр лабораторных исследований: гематологические, биохимические, иммунологические, коагулометрические и др. Спикером было отмечено, что итогом такого глобального подхода могут являться более качественные данные и возможность сбора полноценной информации об изучаемом животном. Наиболее часто встречающиеся отклонения от нормы среди лабораторных параметров, зависящие от возраста, биохимические: общий холестерин, липопротеины низкой и высокой плотности (снижались в течение жизни), креатинин и мочевины (повышались в течение жизни). Среди коагулометрических исследований наиболее часто в зависимости от возраста изменялись протромбиновое время, активированное частичное тромбопластиновое время и фибриноген. Гематологические показатели (количество эритроцитов, уровень гемоглобина, лейкоцитов и СОЭ) с возрастом также изменялись, а среди иммунологических (фагоцитарная активность нейтрофилов и NK-клетки) увеличивались с возрастом, при этом уровень Т-лимфоцитов снижался. Итогом выступления была мысль, что макаки с высокой степенью вероятности являются своего рода «двойниками» человека по многим рассматриваемым параметрам. Данное сходство прослеживается также и между соответствующими возрастными группами макак и человека, что свидетельствует о крайне перспективном участии этих животных в доклинических исследованиях.

Русскоязычные публикации по референтным интервалам лабораторных животных

В последнее время увеличилось количество российских публикаций на тему РИ. Мы предприняли попытку систематизировать данные публикации за последние 5 лет

⁷ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/matua-az.pdf>

в надежде, что это поможет читателю сориентироваться в данной проблеме и заполнить пробелы по некоторым вопросам.

За последние годы появилась серия статей, описывающих биохимические показатели сыворотки крови лабораторных животных в журнале «Лабораторные животные для научных исследований». Выпуск статей продолжается, при этом в настоящий момент представлено 6 научных трудов. Так, описаны биохимические показатели крыс (Войтенко Н.Г. и др., 2020), кроликов (Войтенко Н.Г. и др., 2020), карликовых свиней (Войтенко Н.Г. и др., 2020), мышей (Мирошников М.В. и др., 2021), хорьков (Мирошников М.В. и др., 2021) и яванских макак (Мирошников М.В. и др., 2021). Для формирования РИ использовали данные, полученные от интактных животных на базе АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ». В статьях рассматривались такие показатели, как креатинин, мочевины, аспартатаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза, холестерин, триглицериды, общий белок, альбумин, глюкоза, лактатдегидрогеназа, креатинкиназа и щелочная фосфатаза. Полученные референтные диапазоны биохимических показателей крови лабораторных животных необходимы в доклинических исследованиях для создания высококачественной основы будущих экспериментальных работ, более точного анализа полученной информации, лучшего понимания экстраполяции данных с животных на человека и мониторинга здоровья животных.

В последние несколько лет также растет число публикаций, связанных с анатомо-физиологическими характеристиками лабораторных животных. Так, в журнале «Лабораторные животные для научных исследований» можно ознакомиться со статьями, направленными на сопоставление органов и систем лабораторных животных и человека, — это касается пищеварительного тракта (Макарова М.Н. и др., 2016), морфологии печени и желчного пузыря (Гущин Я.А. и др., 2018), кожи, слюнных желез (Мужикян А.А. и др., 2020) и т.д. Приведенные в обзорах сведения освещают схожесть общих принципов строения и функции органов и систем человека и лабораторных животных (крысы, мыши, кролики, морские свинки, хомяки и др.), а также их варибельность, что объясняется прежде всего филогенетическими особенностями. Представленные в данных обзорах сведения о строении, топографии и синтопии органов и систем могут быть полезны при выполнении хирургических манипуляций, лечебно-диагностических процедур и моделировании патологий, а знание особенностей гистологического строения позволит избежать затруднения при постановке диагнозов, а также неверной интерпретации данных (Мужикян А.А. и др., 2017; Гущин Я.А., 2019; Гущин Я.А. и др., 2019).

В журнале также представлены научные работы, посвященные оценке параметров, актуальных в токсикологических исследованиях, — это РИ по массовым коэффициентам органов животных и их абсолютным значениям (Луговик И.А., Макарова М.Н., 2021; Рощина Е.А., 2022). Данная оценка массы органов животных — неотъемлемая часть изучения токсичности фармацевтических препаратов, химических веществ и медицинских устройств. В связи с этим доклиническим центрам для корректной интерпретации данных следует устанавливать внутренние РИ по массовым коэффициентам и абсолютным значениям внутренних органов экспериментальных животных. Последние работы этого цикла посвящены массовым коэффициентам кроликов, а также массовым коэффициентам внутренних органов аутбредных крыс

и историческим контрольным данным в исследованиях пренатальной токсичности на крысах Sprague-Dawley.

Анализ данных литературы показал, что РИ, направленные на изучение иммунологических особенностей лабораторных животных, слабо освещены. К исключениям можно отнести статью «Анализ показателей клеточной составляющей иммунного статуса макак-резусов» (Борисевич Г.В. и др., 2020), в которой были отдифференцированы Т-лимфоциты (CD2+CD20-), В-лимфоциты (CD2-CD20+), натуральные киллеры (CD2+CD56+), Т-хелперы (CD2+CD4+), цитотоксические Т-лимфоциты (CD2+CD8+), дубль-позитивные Т-лимфоциты (CD4+CD8+) и Т-лимфоциты, позитивные по антигенам CD2 и CD20 (CD2+CD20+). Как позиционируют свою работу авторы, результаты проведенного исследования могут стать основой нормативных показателей субпопуляционного состава клеток иммунной системы макак-резусов, широко используемых в доклинических исследованиях.

Цитологические нормы лабораторных животных представлены в статье «Оценка красного костного мозга в доклинических исследованиях» (Тютин К.В. и др., 2020), в которой содержатся данные о нормах миелограммы кроликов крыс и мышей. Подобная информация может быть необходима при оценке противоопухолевых, противосудорожных, некоторых противомикробных противовоспалительных и высокотоксичных препаратов. Статей, касающихся цитологических норм других лабораторных животных, в русскоязычной литературе в течение последних 5 лет найдено не было.

Также за последние 5 лет нам не встретились русскоязычные публикации по гематологическим, коагулометрическим и эндокринным нормам, а также показателям мочи, что свидетельствует о необходимости создания широкого перечня «нормальных диапазонов» лабораторных животных. Итогом такого глобального подхода станет расширение информации о физиологических особенностях лабораторных животных, что позволит повысить корректность интерпретации данных, получаемых в ходе экспериментов, и повысит трансляционную значимость определяемых параметров.

Заключение

В ходе проведения сессии «Референтные интервалы. Показатели нормы у лабораторных животных» на конференции GLP-PLANET III было прослушано 9 выступлений. Данные сообщения в полной мере раскрыли понятие «нормальных» величин в доклинических исследованиях. По итогам сессии можно заключить, что такие интервалы являются наиболее распространенным инструментом принятия решений, используемым для интерпретации полученных значений в доклиническом эксперименте. В заключение стоит отметить общую для всех спикеров мысль о том, что правильно рассчитанные диапазоны и понимание видовых различий лабораторных животных — основа для исследования новых химических соединений на доклиническом этапе. Пренебрежение этим правилом может стать причиной ошибочных выводов и отсутствием удовлетворительных результатов дальнейших клинических испытаний.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Arnold J.E., Camus M.S., Freeman K.P. et al. ASVCP guidelines: principles of quality assurance and standards for veterinary clinical pathology (version 3.0): developed by the American Society for Veterinary Clinical Pathology's (ASVCP) Quality Assurance and Laboratory Standards (QALS) Committee. 2019. DOI: [10.1111/vcp.12810](https://doi.org/10.1111/vcp.12810).
2. Friedrichs K.R., Harr K.E., Freeman K.P. et al. ASVCP reference interval guidelines: determination of de novo reference intervals in veterinary species and other related topics // *Veterinary clinical pathology*. 2012. Vol. 41. N. 4. P. 441–453. DOI: [10.1111/vcp.12006](https://doi.org/10.1111/vcp.12006).
3. Geffré A., Concordet D., Braun J.P. et al. Reference Value Advisor: a new free-ware set of macroinstructions to calculate reference intervals with Microsoft Excel // *Veterinary Clinical Pathology*. 2011. Vol. 40. N. 1. P. 107–112. DOI: [10.1111/j.1939-165X.2011.00287.x](https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2011.00287.x).
4. Jones G., Barker A. Reference intervals // *The Clinical Biochemist Reviews*. 2008. Vol. 29. Suppl. 1. P. S93.
5. Siest G., Henny J., Gräsbeck R. et al. The theory of reference values: an unfinished symphony // *Clinical chemistry and laboratory medicine*. 2013. Vol. 51. N. 1. P. 47–64. DOI: [10.1515/cclm-2012-0682](https://doi.org/10.1515/cclm-2012-0682).
6. Борисевич Г.В., Кириллова С. Л., Сидорова О.Н. и др. Анализ показателей клеточной составляющей иммунного статуса макак-резусов // *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020. № 4. С. 41–46. DOI: [10.21055/0370-1069-2020-4-41-46](https://doi.org/10.21055/0370-1069-2020-4-41-46).
7. Войтенко Н.Г., Макарова М.Н. Вариабельность биохимических показателей крови и установление референсных интервалов в доклинических исследованиях. Сообщение 3: карликовые свиньи // *Лабораторные животные для научных исследований*. 2020. № 3. С. 7–15.
8. Войтенко Н.Г., Макарова М.Н., Зуева А.А. Вариабельность биохимических показателей крови и установление референсных интервалов в доклинических исследованиях. Сообщение 1: крысы // *Лабораторные животные для научных исследований*. 2020. № 1. С. 47–53. DOI: [10.29296/2618723X-2020-01-06](https://doi.org/10.29296/2618723X-2020-01-06).
9. Войтенко Н.Г., Макарова М.Н., Ковалева М.А. Вариабельность биохимических показателей крови и установление референсных интервалов в доклинических исследованиях. Сообщение 2: кролики // *Лабораторные животные для научных исследований*. 2020. № 2. С. 3–10. DOI: [10.29296/2618723X-2020-02-01](https://doi.org/10.29296/2618723X-2020-02-01).
10. Гущин Я.А. Сравнительная анатомия сердца человека и экспериментальных животных // *Лабораторные животные для научных исследований*. 2021. № 1. С. 56–67. DOI: [10.29296/2618723X-2021-01-06](https://doi.org/10.29296/2618723X-2021-01-06).
11. Гущин Я.А., Ковалева М.А. Сравнительная морфология кожи человека и лабораторных животных (краткое сообщение) // *Лабораторные животные для научных исследований*. 2019. № 2. С. 6. DOI: [10.29296/2618723X-2019-02-06](https://doi.org/10.29296/2618723X-2019-02-06).
12. Гущин Я.А., Мужикян А.А., Шедько В.В. и др. Сравнительная морфология нижнего отдела желудочно-кишечного тракта экспериментальных животных и человека // *Международный вестник ветеринарии*. 2018. № 1. С. 138–150.

13. Евгина С.А., Савельев Л.И. Современная теория и практика референтных интервалов // *Лабораторная служба*. 2019. Т. 8. № 2. С. 36–44. DOI: [10.17116/labs2019802136](https://doi.org/10.17116/labs2019802136).
14. Луговик И.А., Макарова М.Н. Токсикологические исследования. Референтные интервалы массовых коэффициентов внутренних органов на выборке, состоящей из 1000 аутбредных крыс // *Лабораторные животные для научных исследований*. 2021. № 1. DOI: [10.29296/2618723X-2021-01-01](https://doi.org/10.29296/2618723X-2021-01-01).
15. Макарова М.Н., Рыбакова А.В., Гущин Я.А. и др. Анатомо-физиологическая характеристика пищеварительного тракта у человека и лабораторных животных // *Международный вестник ветеринарии*. 2016. № 1. С. 82–104.
16. Мирошников М.В., Султанова К.Т., Ковалева М.А. и др. Вариабельность биохимических показателей крови и установление референсных интервалов в доклинических исследованиях. Сообщение 4: мыши // *Лабораторные животные для научных исследований*. 2021. № 3. С. 64–70. DOI: [10.29296/2618723X-2021-03-08](https://doi.org/10.29296/2618723X-2021-03-08).
17. Мирошников М.В., Султанова К.Т., Ковалева М.А. и др. Вариабельность биохимических показателей крови и установление референсных интервалов в доклинических исследованиях. Сообщение 5: Хорьки // *Лабораторные животные для научных исследований*. 2021. № 4. С. 29–39. DOI: [10.29296/2618723X-2021-04-04](https://doi.org/10.29296/2618723X-2021-04-04).
18. Мирошников М.В., Султанова К.Т., Ковалева М.А. и др. Вариабельность биохимических показателей крови и установление референтных интервалов в доклинических исследованиях. Сообщение 6: яванские макаки // *Лабораторные животные для научных исследований*. 2022. № 2. С. 14–25. DOI: [10.29296/2618723X-2022-02-02](https://doi.org/10.29296/2618723X-2022-02-02).
19. Мужикян А.А., Заикин К.О., Гущин Я.А. и др. Сравнительная морфология печени и желчного пузыря человека и лабораторных животных // *Международный вестник ветеринарии*. 2017. № 4. С. 117–129.
20. Мужикян А.А., Шедько В.В., Заикин К.О. и др. Сравнительная морфология больших слюнных желез у человека и лабораторных животных // *Морфология*. 2020. Т. 157. № 1. С. 79–92. DOI: [10.34922/AE.2020.157.1.013](https://doi.org/10.34922/AE.2020.157.1.013).
21. Рощина Е.А. Неферентные интервалы по массовым коэффициентам органов кроликов и их абсолютным значениям // *Лабораторные животные для научных исследований*. 2022. № 1. С. 34–42.
22. Тютин К.В., Гущин Я.А., Макарова М.Н. и др. Оценка красного костного мозга в доклинических исследованиях // *Трансляционная медицина*. 2020. Т. 7. № 5. С. 119–130. DOI: [10.18705/2311-4495-2020-7-5-119-130](https://doi.org/10.18705/2311-4495-2020-7-5-119-130).

Исследования COVID-19

<https://doi.org/10.57034/978-5-6048955-0-4-s5>

И.В. Гордейчук¹, А.В. Дейкин², И.Н. Исакова-Сивак³, К.Л. Крышень⁴, А.Р. Соколова⁵,
Е.И. Трофимец⁴, А.У. Тулегенова⁶, Е.В. Шипаева⁷

¹ ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита),

² ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»,

³ ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»,

⁴ АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»,

⁵ АО «НПО «Микроген»,

⁶ РГП на ПХВ «Национальный центр экспертизы лекарственных средств и медицинских изделий»
КМ и ФК МЗ РК,

⁷ АО «Р-Фарм»

Пандемии в истории человечества

Массовые пандемии сопровождали человечество на протяжении всей его истории. Их распространению в древнем и средневековом обществе способствовали повышенная скученность населения, низкий уровень гигиены и развития медицины. Пандемии сеяли панику среди населения, вызывали ужас в связи с неопределенностью исхода болезни и бессилием перед неизбежным. Сама болезнь воспринималась как естественное зло, которому невозможно ничего противопоставить.

Первая масштабная эпидемия известна под названием «Антонинова чума» (чума Галена). Антонинова чума произошла в 160–180 гг., поразила каждый уголок Римской империи и, по оценкам современных историков, привела к гибели от 7 до 10 млн человек, при этом общее количество жителей империи в то время составляло чуть больше 50 млн. Современные ученые предполагают, что причиной такой эпидемии была или оспа, или корь, но определить точно на данный момент невозможно. Первая зарегистрированная эпидемия получила название «Юстинианова чума», начавшаяся в 541 г. от Рождества Христова и продлившаяся до середины XVIII века. Она захватила Северную Африку, Европу, Центральную и Южную

Азию, Аравию и унесла более 90 млн жизней. В 2017 г. ученые установили, что возбудитель Юстиниановой чумы был занесен из Китая вместе с грызунами. Одна из самых известных пандемий истории, которая принесла смерть 60% населения Земли, — Черная смерть (1338–1353 гг.). Чума приводила в ужас в связи с 99% летальностью, при этом не удалось определить причину возникновения болезни. В результате по всей Европе возникали языческие культы и суеверия, большое количество людей были убиты из-за подозрений в отравлении воды в колодцах или распространении чумы другими способами. По данным ученых, чума унесла около 200 млн жизней. Пандемия холеры в 1816–1875 гг. привела к гибели более 60 млн человек. Жертвами третьей пандемии чумы, произошедшей в период с 1855 по 1910 г., стали более 12 млн человек только в Индии и Китае. Общей статистики смертей по всему миру на данный момент нет, однако считается, что это была одна из самых смертоносных пандемий за всю историю человечества. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), отголоски этой пандемии продолжались до 1960 г. Именно за время этой пандемии удалось определить возбудителя болезни (бактерия *Yersinia pestis*) и ее переносчиков (грызуны). В 1894 г. открытия французского биолога Александра Йерсена позволили создать современные методы лечения и профилактики: инсектициды, дератизацию, антибиотики и вакцинацию. Пандемия натуральной оспы — единственная пандемия, возбудителя которой удалось полностью искоренить. В 1979 г. ВОЗ объявила о полной ликвидации пандемии. Однако за период своего существования жертвами пандемии натуральной оспы стали более 600 млн человек. В период разгара натуральной оспы Эдвард Дженнер ввел в царапину на руке сына садовника гнойный материал, собранный из пустулы с руки доярки, заразившейся коровьей оспой. В последующем более 20 попыток заразить мальчика оказались безуспешными. В 1798 г. Э. Дженнер опубликовал статью, в которой впервые был использован термин «вакцинация». Испанский грипп (Испанка, 1918–1921 гг.) унес около 100 млн жизней (Устинов А.Л. и др., 2021; Брико Н.И., 2018).

Пандемии средневековья, уносившие миллионы жизней и часто «выкашивавшие» целые города и районы, ушли в прошлое благодаря развитию медицины, гигиены и санитарного дела. Тем не менее в современном мире также наблюдаются глобальные эпидемиологические вызовы. Впервые ВИЧ/СПИД (вирус иммунодефицита человека/синдром приобретенного иммунного дефицита) был выявлен в 1976 г. Число людей, погибших от обусловленных СПИДом болезней в 2020 г., составило, по разным данным, от 480 тыс. до 1 млн человек. Несмотря на то, что были разработаны методы лечения, значительно сдерживающие развитие болезни, и активно ведется пропаганда мер профилактики среди населения, в мире ежедневно ВИЧ заражаются 8500 человек. В России, по последним данным, заражены более 1 млн человек (Чеблокова И.В., Ищенко О.Ю., 2022). Также, несмотря на разработанные меры профилактики, лечения и вакцинации, в настоящее время остается сложной ситуация с вирусом гриппа, что обусловлено главным образом высокой частотой смены вирусных антигенов в результате реассортации вирусного генома (Bull M.B. и др., 2022).

Актуальность изучения возникновения мировых пандемий в свете последних событий возрастает. Пандемия COVID-19 (коронавирусная инфекция 2019), начав-

шаяся в конце 2019 г., по оценкам ВОЗ (по состоянию на июль 2022 г.), уже унесла более 6 млн жизней по всему миру (Статистика распространения коронавируса в мире на сегодня, 2022) и, несмотря на начавшуюся активную вакцинацию по всему миру, до сих пор не остановлена. Вирусы продолжают мутировать, вслед за использованием новых способов борьбы с уже известными штаммами вирусов появляются новые, и эта борьба человека с природой не прекращается. Что касается пандемии COVID-19, то за предыдущий год широкое распространение получил сначала индийский штамм «дельта», характеризующийся высокой смертностью заболевших, а затем южноафриканский штамм «омикрон», особенностью которого является высокая скорость распространения в популяции (Арзуманян А.М., Солдатова О.В., 2022).

Еще одна острая проблема в настоящее время — вспышка оспы обезьян. Оспа обезьян до недавнего времени являлась редко встречающимся инфекционным заболеванием, которое было впервые выявлено в 1958 г. Большинство случаев заболевания ранее выявляли в африканских странах: как правило, заболевали подростки до 16 лет. Первый случай заражения в 2022 г. был подтвержден ВОЗ 7 мая у туриста из Великобритании, недавно вернувшегося из Нигерии, а уже 20 мая ВОЗ созвала чрезвычайную встречу экспертов для обсуждения вспышки оспы обезьян. Причиной тому являлось большое количество сообщений о данном заболевании из неэндемичных по вирусу стран. В настоящее время ведутся исследования эпидемиологии вируса, источников заражения и путей распространения (Семешко О.Г., 2022). По сообщению ВОЗ от 6 июля 2022 г., в мире выявлено 6027 случаев заражения оспой обезьян. В России на данный момент зарегистрирован единичный случай оспы обезьян у петербуржца, вернувшегося из поездки в Европу. Эксперты полагают, что причиной крайне низкой заболеваемости в России может быть массовая вакцинация населения от натуральной оспы в прошлые года. Так, у заболевшего петербуржца, которому ранее была проведена вакцинация от натуральной оспы, болезнь протекала в легкой форме. Доказано, что предшествующая вакцинация против натуральной оспы обеспечивает также высокоэффективную профилактику данного заболевания.

Таким образом, на протяжении всего существования человечество постоянно сталкивается с новыми пандемиями. Пандемия COVID-19 показала, что, несмотря на невозможность точно предугадать возбудителя следующей пандемической инфекции, развитие науки и биотехнологической отрасли в целом значительно повышает готовность противостоять новым эпидемиологическим вызовам.

Про вакцины от COVID-19

За период пандемии COVID-19 в разных странах было разработано большое количество вакцин-кандидатов. Как правило, разрабатываемые вакцинные препараты до того, как какие-либо из них будут признаны безопасными и эффективными, обязаны пройти многочисленные доклинические и клинические исследования. По статистике из всех вакцинных препаратов, которые тестируются в лабораторных условиях с использованием животных, будут признаны достаточно эффек-

тивными и безопасными для перехода к их испытаниям в условиях клинической практики примерно 7 из 100. Из тех вакцинных препаратов, которые достигают стадии клинических исследований с участием людей, испытания успешно проходит только 1 из 5. Наличие большого количества различных вакцинных препаратов повышает вероятность того, что один или несколько препаратов будут признаны безопасными и эффективными для вакцинации приоритетных групп населения.

Различают три основных подхода к разработке вакцин в зависимости от того, что используют для иммунизации (различные типы вакцин против COVID-19, 2021):

- цельный вирус или бактерию;
- фрагменты микроорганизма, вызывающие иммунный ответ;
- только генетический материал, содержащий код для синтеза конкретных белков, а не цельный вирус.

В табл. 1 представлены различные виды вакцин против COVID-19 и описание принципа их действия.

В частности, в докладе руководителя отдела специфической токсикологии и микробиологии АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» Кирилла Леонидовича Крышеня [«Результаты доклинического исследования субъединичной рекомбинантной вакцины на основе N-белка вируса SARS-CoV-2»](#)¹ представлены результаты доклинического исследования субъединичной рекомбинантной вакцины на основе N-белка вируса SARS-CoV-2 (коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома 2), свидетельствующие о стимуляции клеточного и гуморального иммунного ответа в экспериментах по оценке иммуногенности и о протективной активности вакцины на модели SARS-CoV-2 инфекции у сирийских хомячков. Также в докладе отражена сравнительная характеристика адъювантов, применяемых в вакцинных препаратах против COVID-19, и на примере данного вакцинного препарата рассмотрена программа регистрационных доклинических исследований.

В докладе заведующей лабораторией ГБНУ «Институт экспериментальной медицины» Ирины Николаевны Исаковой-Сивак [«Разработка и доклиническое изучение бивалентной вакцины против SARS-CoV-2 и гриппа»](#)² обсуждались особенности разработки и доклинического изучения бивалентной вакцины против SARS-CoV-2 и гриппа. В соответствии с проведенными исследованиями было сделано заключение, что аттенуированные вирусы гриппа являются перспективной векторной системой для конструирования бивалентной вакцины (интраназальное введение, стимуляция мукозального и Т-клеточного иммунитета, защита от гриппа за счет вирусного вектора). Направленный дизайн Т-клеточных вакцин от SARS-CoV-2 и других целевых патогенов требует наличия адекватной тест-системы для оценки иммуногенности встроенных эпитопов для людей. Так, трансгенные мыши, несущие человеческие молекулы главного комплекса гистосовместимости, не позволяют адекватно оценивать Т-клеточный ответ на целевые эпитопы коронавируса, встроенные в гриппозный вектор, ввиду иммунодоминантности эпитопов вируса гриппа для этих животных. Альтернативные *in vitro* модели могут быть использо-

¹ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/kryshen-kl.pdf>

² <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/isakova-sivak-in.pdf>

Таблица 1

Сводная информация по различным видам вакцин против COVID-19 и описание принципа их действия

Тип вакцины	Субъединичные	Векторные	Вакцины на основе нуклеиновых кислот	На основе вирусоподобных частиц	Цельновирионные
Разновидности	На основе различных антигенных компонентов, например, синтетически полученных пептидов или белков	Реплицирующиеся и нереплицирующиеся	ДНК- и РНК-вакцины	—	Инактивированные и живые ослабленные
Принцип действия	При попадании в организм вирусных антигенов происходит формирование эффективного противовирусного иммунного ответа	Генетический материал вируса доставляется в клетку с помощью вектора другого вируса, не вызывающего заболевание у человека. При проникновении вектора в клетку происходит синтез белков вируса и вирус-вакцины формируется противовирусный иммунный ответ	Проникая в клетку, генно-инженерные конструкции на основе РНК и ДНК обеспечивают синтез нужного вирусного белка, после чего происходит формирование противовирусного иммунного ответа	Вирусоподобные частицы имитируют структуру целого вируса, но не содержат его генетического материала, при этом способны формировать противовирусный иммунный ответ при попадании в организм человека	Для выработки противовирусного иммунитета вводятся ослабленный вирус или вирус, инактивированный термически или с применением химических агентов
Преимущества, особенности и ограничения	Низкая реактогенность благодаря отсутствию балластных вирусных антигенов, не участвующих в формировании протективного иммунного ответа, стабильность. Для усиления иммунного ответа часто требуется использование адъювантов и проведение повторных иммунизаций	Обладают высокой иммуногенностью. Формируется иммунная реакция к вирусу-вектору, может препятствовать формированию надлежащего иммунитета против вируса	Простая и быстрая разработка. Недостаточная изученность и отсутствие других зарегистрированных вакцин для использования у людей	Безопасность и выраженные иммуногенные свойства. Технологическая сложность производства	Классическая технология, приближенная к естественному механизму формирования иммунитета. Необходимость добавления адъювантов в случае с инактивированными вакцинами и вероятности реверсии патогенности вируса в живой вакцине

ваны для подтверждения корректной экспрессии целевых эпитопов в составе рекомбинантного вируса гриппа.

Про препараты от COVID-19

Наряду с разработкой средств профилактики по настоящее время ведется активный поиск лекарственных средств, направленных на лечение коронавирусной инфекции. Среди направлений в области оценки и разработки новых препаратов для лечения COVID-19 можно выделить несколько основных, таких как препараты, демонстрирующие собственно противовирусную активность в отношении вируса SARS-CoV-2, и средства, применяемые для лечения осложнений COVID-19.

В основе действия собственно противовирусных препаратов лежит механизм, препятствующий репликации вируса. Препараты можно разделить на 2 группы по способу воздействия на вирус. Первая группа препаратов ингибирует собственные белки вируса, препятствуя их проникновению в клетку или их репликацию при попадании внутрь (например, так работает ремдезивир). Проблема этого подхода заключается в том, что вирусные частицы мутируют и изменяются с течением времени. В будущем коронавирус может эволюционировать, вырабатывая резистентность к таким препаратам. Вторым альтернативным направлением является механизм блокировки взаимодействия вирусного белка с человеческим белком. Этот подход имеет большее преимущество по сравнению с «отключением» самого вируса, потому что клетка относительно не так изменчива. В этом случае препарат сохранит свою активность и в случае мутирования вируса.

В докладе руководителя отдела доклинических исследований АО «Р-Фарм» Елены Владимировны Шипаевой [«Оценка эффективности лекарственных средств для профилактики и лечения инфекции SARS-CoV-2»](#)³ была представлена сравнительная характеристика эффективности препаратов разных групп. Один из препаратов, о котором говорилось в докладе, молнупиравир. Молнупиравир — противовирусный препарат с известной активностью против SARS-CoV-2, представляет собой пролекарство, метаболизирующееся до аналога рибонуклеозида N-гидроксицитидина (ННС). ННС распределяется в клетке и фосфорилируется с образованием фармакологически активного рибонуклеозид-трифосфата (ННС-ТР). ННС-ТР встраивается в вирусную РНК с помощью РНК-полимеразы, создавая ошибки в вирусном геноме путем включения гуанозина или аденозина в цепь РНК. С каждым циклом репликации вируса мутации накапливаются, что в конечном итоге делает вирус SARS-CoV-2 неинфекционным и неспособным к репликации. Эффективность молнупиравира была показана ранее в доклинических и клинических исследованиях, что позволяет его использовать в качестве препарата сравнения при проведении исследований новых соединений. Также в докладе представлены результаты исследования протективной активности препаратов на основе моноклональных антител, действующих по принципу «ловушки» для вируса SARS-CoV-2.

³ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/shipaeva-ev.pdf>

Отдельной группой препаратов для лечения COVID-19 являются иммуноглобулины. В докладе главного специалиста-эксперта по доклиническим исследованиям АО «НПО «Микроген» Алины Рашидовны Соколовой «Оценка протективной активности препарата иммуноглобулина человека против COVID-19 *in vivo*» были приведены результаты оценки протективной активности препарата иммуноглобулина человека против COVID-19 *in vivo*. Нейтрализующие антитела выполняют важную роль в противовирусной терапии, так как приводят к эффективному ингибированию размножения вирусов и тем самым — к снижению тяжести инфекционно-воспалительного процесса. Поликлональные антитела, выделенные из реконвалесцентной плазмы, применяют в качестве экстренной терапии развивающихся инфекций. В данном ключе использование препарата иммуноглобулина G человека, содержащего специфические антитела к SARS-CoV-2, является перспективным и безопасным.

Исследование препаратов против COVID-19

Важным аспектом в разработке вакцин и новых препаратов в условиях пандемии является создание качественного и эффективного продукта в кратчайшие сроки. Обязательное условие для запуска новой вакцины или препарата в клиническое применение — доказательство эффективности и безопасности. В рутинной практике проведение необходимых исследований занимает многие годы, но в условиях пандемии получить и проанализировать данные о безопасности и эффективности кандидата необходимо в кратчайшие сроки. На начальном этапе доклинических исследований для препаратов проводят оценку потенциальной противовирусной активности в условиях *in vitro*. Потенциальная противовирусная активность, продемонстрированная *in vitro*, должна быть подкреплена данными, полученными на моделях с использованием животных. Применение *in vivo*-модели позволяет подтвердить эффективность вакцины-кандидата или препарата при выбранном способе доставки вещества в макроорганизм, сориентировать по возможному курсу применения и определить уровень эффективных доз.

В связи с этим остается важным вопрос быстрого подбора подходящей модели. Имея представление о недостатках и преимуществах различных моделей с использованием животных, нужно в кратчайшие сроки подобрать релевантную модель для конкретного исследования, тем самым сократить время на поиск и анализ подходящих моделей. В том что разработка вакцин против COVID-19 была проведена в кратчайшие сроки, важную роль сыграл имеющийся у человечества на момент начала пандемии опыт борьбы с инфекциями, вызванными коронавирусами (вспышка атипичной пневмонии в КНР (Китайская Народная Республика) в 2002 г. (Cherry J.D., 2004) и вспышка ближневосточного респираторного синдрома (MERS-CoV) в 2012 г. (Li K. и др., 2017). На момент распространения инфекции, вызванной SARS-CoV-2, научное сообщество уже имело представление о возможных экспериментальных моделях для исследования этого нового заболевания. Хотя вспышки SARS-CoV происходили более 10–20 лет назад, исследования продолжались и после их окончания. Поэтому первоначально, исходя из того, что идентичность нуклеотидных последовательностей SARS-CoV-2 и SARS-CoV составляет 79–82% (Lu R. и др., 2020), были задействованы модели, эффективные при исследовании SARS-CoV.

В статье А.М. Нагорных и соавт., опубликованной в 2020 г., сообщается, что эпидемия SARS случилась еще в 2002 г., однако, несмотря на это, не существует ни одной модели с использованием животных, полностью удовлетворяющей потребности научного сообщества в воспроизведении патогенеза, клинических проявлений, иммуногенности, в разработке и испытании средств специфической профилактики и терапии тяжелого острого респираторного синдрома, ближневосточного респираторного синдрома и коронавирусного заболевания 2019 г. (Нагорных А.М., Тюменцев А.И. и др., 2020). Ситуация не изменилась и по настоящее время. Известно, что вирус SARS-CoV-2 поражает разные виды млекопитающих, включая хорьков, кошек, собак, приматов, мышей и др. (Johansen M.D., 2020). Несмотря на большое количество восприимчивых к вирусу видов животных, клиническая картина инфекционно-воспалительного процесса значительно отличается между видами на фоне развития SARS-CoV-2 инфекции. В том числе существуют значительные отличия в течении SARS-CoV-2 инфекции у животных и человека (Lee C.Y., Lowen A.C., 2021; Takayama K., 2020). Поэтому очень важно при выборе модели акцентировать внимание на ее релевантность, заключающуюся в максимально точной имитации клинических признаков и патоморфологических изменений заболевания.

В табл. 2 представлены сводная информация по характеристике наиболее распространенных моделей COVID-19 с использованием животных с позиции их релевантности для воспроизведения клинических признаков и патоморфологических изменений, а также возможные ограничения использования данных моделей.

В своем докладе [«Модели для изучения эффективности и безопасности профилактических вакцин против COVID-19»](#)⁴ заместитель генерального директора по научной работе Федерального государственного автономного научного учреждения «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита) Илья Владимирович Гордейчук сообщил о международном и российском опыте применения лабораторных животных моделей для изучения эффективности вакцин против COVID-19, рассказал о приматной модели для изучения иммуногенности и безопасности вакцин против COVID-19 и обсудил вопросы выбора лабораторных животных в качестве модели для изучения эффективности вакцин против COVID-19. Также автор обратил внимание на то, что высокая степень влияния изменчивости вируса SARS-CoV-2 на течение инфекции может потребовать повторной отработки условий экспериментов с лабораторными животными при работе с новыми вариантами вируса.

Доказано, что SARS-CoV-2, как и SARS-CoV, вызывающий атипичную пневмонию, использует АПФ2 (ангиотензинпревращающий фермент 2) как рецептор для проникновения в клетки человека. В соответствии с результатами многочисленных исследований установлено, что сирийский хомячок и трансгенные мыши, экспрессирующие АПФ2-рецептор, являются наиболее подходящими видами лабораторных животных для воспроизведения SARS-CoV-2 инфекции. Несомненными плюсами данных видов животных являются их доступность, простота работы с ними, воспроизводимость и валидность результатов. Выработка нейтрализующих антител делает эти модели

⁴ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/gordejchuk-i.pdf>

Таблица 2

Сводная информация по характеристике наиболее распространенных моделей COVID-19 с использованием животных

Вид животных	Линия/ порода	Наблюдаемые клинические признаки	Обнаруженные патоморфологические изменения	Недостатки и ограничения использования данного вида животных
Мыши	BALB/c	Потеря массы тела (Dinnon K.H. et al., 2020)	Поражение органов нижнего отдела дыхательной системы (Hassan A.O. et al., 2020). Патоморфологические изменения в легких различаются в зависимости от возраста мышей (Dinnon K.H. et al., 2020)	Безуспешные попытки выявить репликацию SARS-CoV-2 в легочной ткани (Zhou P. et al., 2020). Резистентность их к возбудителю, по-видимому, связана с различиями строения человеческого и мышинного рецептора АПФ ₂ . Снижение массы тела удалось зафиксировать только у молодых животных.
C57BL/6	—	—	Поражение органов нижнего отдела дыхательной системы (IsraeLOW B. et al., 2020)	Отсутствие клинических признаков патологии (IsraeLOW B. et al., 2020)
Трансгенные (K18-hACE2, HFH4-hACE2)	Потеря массы тела (Jiang R.D. et al., 2020; Bao L. et al., 2020)	Поражение органов нижнего отдела дыхательной системы (Sun S.H. et al., 2020). Интерстициальная пневмония (Jiang R.D. et al., 2020; Bao L. et al., 2020).	Поражение органов нижнего отдела дыхательной системы (Sun S.H. et al., 2020). Интерстициальная пневмония (Jiang R.D. et al., 2020; Bao L. et al., 2020).	Модель летальна (Jiang R.D. et al., 2020; Bao L. et al., 2020). Различная восприимчивость к инфекции SARS-CoV-2 у мышей HFH4-hACE2 в зависимости от пола и возраста (Bao L. et al., 2020)

Продолжение таблицы 2

Вид животных	Линия/ порода	Наблюдаемые клинические признаки	Обнаруженные патоморфологические изменения	Недостатки и ограничения использования данного вида животных
Хомячки	Сирийские	Потеря массы тела (Sia S.F. et al., 2020), признаки респираторного дистресса (Chan J.F. et al., 2020; Imai M. et al., 2020). Высокая восприимчивость к SARS-CoV-2. Клеточный рецептор АПФ2 этих животных обладает высоким сродством к вирусу, что отражается на степени выраженности симптомов инфекции в малом временном промежутке. Течение патологии легких схоже с таковым у пациентов с COVID-19. Успешная передача вируса между особями посредством прямого контакта (воздушно-капельный путь)	Поражение органов нижнего отдела дыхательной системы (Sia S.F. et al., 2020; Chan J.F. et al., 2020; Imai M. et al., 2020) и органов желудочно-кишечного тракта (Chan J.F. et al., 2020)	Животных для исследования необходимо брать молодых и растущих, поскольку у взрослых животных масса тела достигает плато и невозможно зарегистрировать ее падение в ходе инфекции (основной критерий оценки общего состояния животных). Течение инфекции средней тяжести с самопроизвольным выздоровлением к 7-му дню после инфицирования
Хорьки	—	Признаки респираторного дистресса (Kim Y.I. et al., 2020). Успешная передача возбудителя между особями посредством прямого контакта (воздушно-капельный путь). Несомненными преимуществами вида являются сходное с таковым у человека строение органов респираторной системы и, как следствие, наличие сходных клинических признаков	Поражение органов нижнего отдела дыхательной системы (Kim Y.I. et al., 2020)	Легкое течение инфекции с относительно невысоким накоплением патогена в легочной ткани инфицированных особей (Kim Y.I. et al., 2020)
Нечеловекообразные приматы	Макаки-резусы, макаки-крабоеды	Признаки респираторного дистресса (Singh D.K. et al., 2020; Lu S. et al., 2020)	Поражение органов нижнего отдела дыхательной системы (Singh D.K. et al., 2020; Lu S. et al., 2020)	Не развивается острое повреждение легких, которое наблюдается на мышиных моделях (Kumar S. et al., 2020)

Примечание: АПФ₂ — ангиотензинпревращающий фермент 2.

Список общих фармакопейных статей Фармакопеи ЕАЭС, используемых для вакцин

Общие фармакопейные статьи	ФЕФЭС
Общие сведения (1.1–1.6)	I том, 1 часть
Стерильность (2.1.6.1)	I том, 1 часть
Бактериальные эндотоксины (2.1.6.8)	I том, 1 часть
Метод иммуноферментного анализа (2.1.6.10)	I том, 1 часть
Вирусная безопасность (2.3.1.3)	I том, 1 часть
Лекарственные формы	I том, 2 часть
Лекарственные препараты	I том, 2 часть
Лекарственные препараты для парентерального применения	I том, 2 часть
Вакцины и анатоксины	I том, 3 часть
Проточная цитометрия	I том, 3 часть
Иммунохимические методы	I том, 3 часть
Методы амплификации нуклеиновых кислот	I том, 3 часть
Количественное определение компонентов вакцин методом иммунонефелометрии	I том, 3 часть
Испытание вирусных вакцин на присутствие посторонних агентов	I том, 3 часть
Алюминий в адсорбированных вакцинах	I том, 3 часть

подходящими и для тестирования вакцин. В своем докладе [«Мыши — модель заражения коронавирусной инфекцией для биомедицинских исследований»](#)⁵ директор Объединенного центра генетических технологий ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Алексей Васильевич Дейкин подробно представил преимущества и недостатки мышей как модели заражения коронавирусной инфекцией, а также сообщил о новых возможностях при использовании данного вида животных для биомедицинских исследований.

Однако из двух этих видов животных наибольший интерес представляют именно сирийские хомячки. Высокое сродство рецепторов АПФ2 сирийского хомячка к SARS-CoV-2 и возможность прямой передачи вируса между особями позволяют использовать представителей данного вида в процессе изучения механизмов быстрого распространения инфекции. Также было показано, что у этого вида животных вирус реплицируется как в нижних (легких), так и верхних дыхательных путях (носовых турбинатах) с максимумом накопления на 3-и сутки. Интраназальное введение ви-

⁵ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/dejkin-a.pdf>



Рис. 1. Общие испытания, применяемые для большинства вакцин

руса SARS-CoV-2 приводит к поражению легких с развитием микроскопических признаков пневмонии. При инфекции отсутствует смертность, однако снижается активность животных и масса тела на протяжении 5–7 дней после заражения. Несмотря на большое количество несомненных плюсов при выборе данной модели, необходимо учитывать и ее недостатки и ограничения, которые приведены в предыдущей табл. 2.

При разработке вакцин в условиях пандемии нельзя забывать и о контроле их качества со стороны фармакопейного подхода, о чем в своем докладе «[Фармакопейные подходы к оценке качества вакцин против COVID-19](#)»⁶ рассказала начальник Управления совершенствования ГФ РК и Фармакопеи ЕАЭС, председатель Фармакопейного комитета ЕАЭС, РГП на ПХВ «Национальный центр экспертизы лекарственных средств и медицинских изделий» Минздрава Республики Казахстан Ардак Уринбасаровна Тулегенова. В докладе были рассмотрены такие аспекты, как специфика испытаний в зависимости от вида вакцин, методики проведения испытаний и критерии приемлемости. Был представлен список общих фармакопейных статей Фармакопеи ЕАЭС, используемых для вакцин (табл. 3).

В докладе были представлены общие испытания, применяемые для большинства вакцин (рис. 1), и специфические испытания вакцин (рис. 2).

В рамках конференции были рассмотрены основные проблемы, касающиеся доклинического изучения препаратов и средств профилактики в условиях панде-

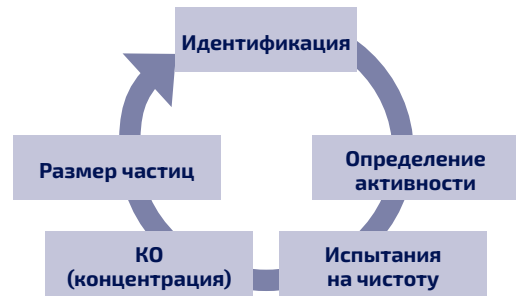


Рис. 2. Специфические испытания вакцин

⁶ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/tulegenova-a.u..pdf>

мии COVID-19. Несмотря на то, что по всему миру проводится активная вакцинация населения против вируса SARS-CoV-2, пандемия до сих пор не взята под контроль. Это свидетельствует о том, что поиск эффективных и безопасных лекарственных средств для профилактики и борьбы с SARS-CoV-2 инфекцией остается по настоящее время актуальной и важной задачей фармацевтической отрасли всего мира. Особое внимание стоит уделять релевантности лабораторных животных, используемых для модели патологии. На примере COVID-19 установлено, что не существует ни одной модели с использованием животных, полностью удовлетворяющей потребности научного сообщества в воспроизведении патогенеза, клинических проявлений, иммуногенности, в разработке и испытании средств специфической профилактики и терапии SARS-CoV-2 инфекции. Поэтому важно учитывать особенности моделей с использованием различных видов животных. Также в рамках конференции были обсуждены проблемы контроля качества иммунобиологических препаратов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bao L., Deng W., Huang B. et al. The pathogenicity of SARS-CoV-2 in hACE2 transgenic mice // *Nature*. 2020. Vol. 583. P. 830–833. DOI: [10.1038/s41586-020-2312-y](https://doi.org/10.1038/s41586-020-2312-y).
2. Bull M.B., Gu H., Ma N. L. et al. Next-generation T cell — activating vaccination increases influenza virus mutation prevalence // *Science Advances*. 2022. Vol. 8. N. 14. P. eabl5209. DOI: [10.1126/sciadv.abl5209](https://doi.org/10.1126/sciadv.abl5209).
3. Jasper Fuk-Woo Chan, Anna Jinxia Zhang, Shuofeng Yuan et al. Simulation of the clinical and pathological manifestations of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in golden Syrian hamster model: implications for disease pathogenesis and transmissibility // *Clinical Infectious Diseases*. 2020. P. 1–50. DOI: [10.1093/cid/ciaa325](https://doi.org/10.1093/cid/ciaa325).
4. James D. Cherry. The chronology of the 2002–2003 SARS mini pandemic // *Paediatric Respiratory Reviews*. 2004. Vol. 5. N. 4. P. 262–269. DOI: [10.1016/j.prrv.2004.07.009](https://doi.org/10.1016/j.prrv.2004.07.009).
5. Kenneth H. Dinno 3rd, Sarah R. Leist, Alexandra Schäfer et al. A mouse-adapted model of SARS-CoV-2 to test COVID-19 countermeasures // *Nature*. 2020. Vol. 27. P. 1–9. DOI: [10.1038/s41586-020-2708-8](https://doi.org/10.1038/s41586-020-2708-8).
6. Ahmed O. Hassan, James Brett Case, Emma S. Winkler et al. A SARS-CoV-2 infection model in mice demonstrates protection by neutralizing antibodies // *Cell*. 2020. Vol. 182. N. 3. P. 744–753. e4. DOI: [10.1016/j.cell.2020.06.011](https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.06.011).
7. Benjamin Israelow, Eric Song, Tianyang Mao et al. Mouse model of SARS-CoV-2 reveals inflammatory role of type I interferon signaling // *Journal of Experimental Medicine*. 2020. Vol. 217. N. 12. P. e20201241. DOI: [10.1084/jem.20201241](https://doi.org/10.1084/jem.20201241).
8. Masaki Imai, Kiyoko Iwatsuki-Horimoto, Masato Hatta et al. Syrian hamsters as a small animal model for SARS-CoV-2 infection and countermeasure development // *Proceedings of the National Academy of Sciences. USA*. 2020. Vol. 117. N. 28. P. 16587–16595. DOI: [10.1073/pnas.2009799117](https://doi.org/10.1073/pnas.2009799117).
9. Ren-Di Jiang, Mei-Qin Liu, Ying Chen et al. Pathogenesis of SARS-CoV-2 in transgenic mice expressing human angiotensin-converting enzyme 2 // *Cell*. 2020. Vol. 182. N. 1. P. 50–58. DOI: [10.1016/j.cell.2020.05.027](https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.05.027).

10. M.D. Johansen, A. Irving, X. Montagutelli et al. Animal and translational models of SARS-CoV-2 infection and COVID-19 // *Mucosal immunology*. 2020. P. 1–15. DOI: [10.1038/s41385-020-00340-z](https://doi.org/10.1038/s41385-020-00340-z).
11. Young-Il Kim, Seong-Gyu Kim, Se-Mi Kim et al. Infection and rapid transmission of SARS-CoV-2 in ferrets // *Cell Host Microbe*. 2020. Vol. 27. N. 5. P. 704–709.e2. DOI: [10.1016/j.chom.2020.03.023](https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.03.023).
12. Suresh Kumar, Pardeep Kumar Yadav, Ramesh Srinivasan, Nagarajan Perumal. Selection of animal models for COVID-19 research // *Virus Disease*. 2020. Vol. 31. N. 4. P. 453–458. DOI: [10.1007/s13337-020-00637-4](https://doi.org/10.1007/s13337-020-00637-4).
13. Chung-Young Lee, Anice C. Lowen. Animal models for SARS-CoV-2 // *Current opinion in virology*. 2021. Vol. 48. P. 73–81. DOI: [10.1016/j.coviro.2021.03.009](https://doi.org/10.1016/j.coviro.2021.03.009).
14. Kun Li, Christine L. Wohlford-Lenane, Rudragouda Channappanavar et al. Mouse-adapted MERS coronavirus causes lethal lung disease in human DPP4 knockin mice // *Proceedings of the National Academy of Sciences. USA*. 2017. Vol. 114. N. 15. P. E3119–28. DOI: [10.1073/pnas.1619109114](https://doi.org/10.1073/pnas.1619109114).
15. Wenhui Li, Thomas C. Greenough, Michael J. Moore et al. Efficient replication of severe acute respiratory syndrome coronavirus in mouse cells is limited by murine angiotensin-converting enzyme 2 // *Journal of Virology*. 2004. Vol. 78. N. 20. P. 11429–11433. DOI: [10.1128/JVI.78.20.11429-11433.2004](https://doi.org/10.1128/JVI.78.20.11429-11433.2004).
16. Roujian Lu, Xiang Zhao, Juan Li et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding // *Lancet*. 2020. Vol. 395. N. 10224. P. 565–574. DOI: [10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8).
17. Shuaiyao Lu, Yuan Zhao, Wenhai Yu et al. Comparison of SARS-CoV-2 infections among 3 species of non-human primates // *bioRxiv*. 2020. DOI: [10.1101/2020.04.08.031807](https://doi.org/10.1101/2020.04.08.031807).
18. Sin Fun Sia, Li-Meng Yan, Alex W.H. Chin et al. Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in golden hamsters // *Nature*. 2020. Vol. 583. N. 7818. P. 834–838. DOI: [10.1038/s41586-020-2342-5](https://doi.org/10.1038/s41586-020-2342-5).
19. Singh D.K., Ganatra S.R., Singh B. et al. SARS-CoV-2 infection leads to acute infection with dynamic cellular and inflammatory flux in the lung that varies across nonhuman primate species // *BioRxiv*. 2020. DOI: [10.1101/2020.06.05.136481](https://doi.org/10.1101/2020.06.05.136481).
20. Sun S.-H., Chen Q., Gu H.-J. et al. A mouse model of SARS-CoV-2 infection and pathogenesis // *Cell Host Microbe*. 2020. Vol. 28. N. 1. P. 124–133.e4. DOI: [10.1016/j.chom.2020.05.020](https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.05.020).
21. Takayama K. *In vitro* and animal models for SARS-CoV-2 research // *Trends in pharmacological sciences*. 2020. Vol. 41. N. 8. P. 513–517. DOI: [10.1016/j.tips.2020.05.005](https://doi.org/10.1016/j.tips.2020.05.005).
22. Zhou P, Yang X.-L., Wang X.-G. et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin // *Nature*. 2020. Vol. 579. N. 7798. P. 270–273. DOI: [10.1038/s41586-020-2012-7](https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7).
23. Арзумян А.М., Солдатова О.В. Сравнительный анализ морфологических особенностей штаммов «Omicron» и «Delta» SARS-CoV-2 // *European Scientific Conference*. 2022. С. 168–174.
24. Брико Н.И. 100 лет пандемии: уроки истории. Новый этап вакцинопрофилактики // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2018. Т. 17. № 4 (101). С. 68–75. DOI: [10.31631/2073-3046-2018-17-4-68-97](https://doi.org/10.31631/2073-3046-2018-17-4-68-97).

25. Нагорных А.М., Тюменцев А.И., Тюменцева М.А., Акимкин В.Г. SARS, снова SARS и MERS. Обзор животных моделей респираторных синдромов человека, вызываемых коронавирусными инфекциями // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2020. № 5. С. 431–444. DOI: [10.36233/0372-9311-2020-97-5-6](https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-5-6).
26. Различные типы вакцин против COVID-19. URL: <https://www.who.int/ru/news-room/feature-stories/detail/the-race-for-a-covid-19-vaccine-explained> (дата обращения: 07.2022).
27. Статистика распространения коронавируса в мире на сегодня. URL: <https://coronavirus-monitor.info/#stats> (дата обращения: 07.2022).
28. Семешко О.Г. «Непредсказуемая» оспа обезьян // Междисциплинарность науки как фактор инновационного развития. 2022. № 7. С. 217.
29. Устинов А.Л., Набойченко Е.С., Чупракова С. В. Человек в условиях мировых пандемий: историко-психологический обзор // Личность в меняющемся мире: здоровье, адаптация, развитие. 2021. Т. 9. №1 (32). С. 7–17. DOI: [10.23888/humJ202117-17](https://doi.org/10.23888/humJ202117-17).
30. Чеблокова К.В., Ищенко О.Ю. Динамика заболеваемости населения России синдромом приобретенного иммунодефицита (СПИД) за период 2016–2020 гг. // Norwegian Journal of Development of the International Science. 2022. № 77-1. С. 41–43. DOI: [10.24412/3453-9875-2021-77-1-41-43](https://doi.org/10.24412/3453-9875-2021-77-1-41-43).

Зоотехния и ветеринарное обеспечение

<https://doi.org/10.57034/978-5-6048955-0-4-s6>

Д.Ю. Акимов¹, М.А. Акимова¹, М.М. Билялетдинова¹, О.И. Вышемирский², С. С. Добрянская¹, Д.И. Догадов², Т. П. Егорова², Д.Д. Карал-оглы², Е.А. Кушнир^{3,4}, М.Л. Ловать^{3,4}, М.Н. Макарова¹, В.С. Попов^{3,4}, А.А. Устюгов⁵

¹ АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»,

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии»,

³ ФГБОУ ВПО МГУ им. М.В. Ломоносова,

⁴ ООО «Научно-исследовательский институт митоинженерии МГУ»,

⁵ ФГБНУ «Институт физиологически активных веществ РАН»

В рамках конференции GLP-PLANET III заведующий лабораторией трансляционной медицины ФФМ МГУ Владимир Сергеевич Попов и секретарь Комиссии по биоэтике МГУ Екатерина Александровна Кушнир провели мастер-класс «[Оценка степени тяжести экспериментальных процедур в исследованиях на животных](#)»¹, на котором участники практиковались в определении фактической степени тяжести процедур в эксперименте.

Использование животных в доклинических исследованиях на сегодняшний день остается неизбежным, поэтому требуется обеспечение высокого уровня их защиты и благополучия. Широкой общественности не безразличны этические аспекты экспериментов с использованием животных. По этой причине животных всегда нужно рассматривать как существ, наделенных чувствами, а их использование должно быть разумно ограничено.

Директор АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» Марина Николаевна Макарова в своем докладе «[Методика поиска альтернативных методов исследования](#)»² рассказала, что сегодня существуют весьма строгие правила по проведению токсикологических исследований химических веществ, в частности лекарственных препаратов, тра-

¹ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/kushnir-ea.pdf>

² <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/makarova-mn.pdf>

Таблица 1

Биоразнообразие тест-систем

Должность, докладчик	Вид(ы) животных	Название доклада (ссылка на материалы)
Старший научный сотрудник, НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского Ольга Александровна Аверина	Голый землекоп (<i>Heteroscephalus glaber</i>)	Naked Mole Rats (<i>Heteroscephalus glaber</i>) housing specifics in laboratory conditions (https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/averina-oa.pdf)
Заведующий ЦКП «SPF»-виварий Евгений Леонидович Завьялов	Нематода <i>Caenorhabditis elegans</i> , беспозвоночные <i>C. elegans</i> и <i>D. melanogaster</i> , плоский червь <i>Macrostomum lignano</i> , из рыб <i>Nothobranchius furzeri</i> , среди млекопитающих гигантская белозубка (<i>Suncus murinus</i>), прерийной полевка (<i>Microtus ochrogaster</i>)	Животные из природных популяций как новые модели для медико-биологических исследований (https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/zavyalov-el.pdf)
Заведующая сектором, ведущий научный сотрудник, НИИ нейронаук и медицины Екатерина Анатольевна Литвинова	Мыши с нокаутом гена <i>Muc2</i>	Гликаны бактерий как паттерны формирования иммунологической толерантности и иммунного ответа при воспалительных заболеваниях кишечника (https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/litvinova-ea.pdf)
Профессор, заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии НИУ «БелГУ» Михаил Владимирович Покровский	Мыши с отсутствием экспрессии <i>Dysf</i>	Дизайн доклинического исследования генотерапевтических препаратов миастении Миоши (https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/pokrovskij-m.v.pdf)
Ведущий научный сотрудник лаборатории векторных вакцин ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России Мария Валерьевна Сергеева	Хлопковая крыса (<i>Sigmodon hispidus</i>)	Опыт применения хлопковых крыс для моделирования РСВ-инфекции и иммунопатологии (https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/sergeeva-m.v.pdf)

Таблица 2

Коллекция лабораторных мышей ФГБУН Институт физиологически активных веществ РАН

Линия	Наименование	Мутации	Моделируемое заболевание
Tau ^{P301S}	Tg(Thy1-MAPT*P301S) 2541Godt	Ген MAPT: P301S	Таупатия
5xFAD	Tg(APP ^S wFl ^{Lon} , PSEN1* ^{M146L} * ^{L286V}) 6799Vas	Ген APP: K670N/M671L; I716V; V717I Ген PS1: M146L; L286V	Болезнь Альцгеймера
ΔFUS(1-359)	—	Ген FUS, труктурированная форма	Боковой амиотрофический склероз
ACE2	—	Мыши с гуманизацией гена ACE2	Как модель для изучения иммунного ответа при COVID-19
FUS-TG F19	—	Ген FUS, труктурированная форма	Болезнь двигательного нейрона
Thy1mySN	C57BL/6-Tg(Thy1-Snca) HvP36Putt/J	Трансген на основе гена гамма-синуклеина мыши	То же

диционно они включают исследования на животных (Макарова М.Н., Макаров В.Г., 2022). Марина Николаевна дала рекомендации по методу выбора животных для модельных и токсикологических исследований. С помощью данных рекомендаций исследователь может аргументировать выбор той или иной тест-системы, основываясь на филогенетической связи животных с человеком (Макарова М.Н. и др., 2022).

В рамках конференции GLP-PLANET III Марина Николаевна Макарова и руководитель научно-методической группы АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» Мария Александровна Ковалева провели мастер-класс «Альтернативные методы исследования», где в формате настольной игры участники вспомнили альтернативные методы исследований, область их применения и ограничения.

Разнообразие тест систем

В продолжение темы выбора тест-систем были озвучены доклады о разнообразии живых организмов, носящих в себе свойства и признаки, которые могут быть использованы в научных исследованиях (табл. 1).

Заведующий лабораторией биологических испытаний ФГБУН «Институт физиологически активных веществ РАН» Алексей Анатольевич Устюгов выступил с докладом [«Использование животных моделей для оценки эффективности препаратов для лечения нейродегенеративных заболеваний»](#)³. Он рассказал о коллекции линий лабораторных мышей в Институте физиологически активных веществ (табл. 2).

³ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/ustyugov-aa.pdf>

Ветеринарное обеспечение

Подготовка лабораторных животных к эксперименту

Несмотря на имеющиеся виды и линии лабораторных грызунов, в случаях, когда в эксперименте требуются негрызуны, исследователи сталкиваются с проблемами поиска поставщика животных, их качества и подготовки животных к исследованию. В докладе [«Входной контроль лабораторных животных от аудита поставщика до передачи в эксперимент»](#)⁴ ветеринарного врача АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» Софьи Сергеевны Добрянской были освещены основные вопросы входного контроля лабораторных животных от аудита поставщика до передачи в эксперимент (Добрянская С.С. и др., 2022). Входной контроль является составной частью системы качества, целью которого служит контроль продукции поставщика. Под аудитом поставщика следует понимать объективную оценку возможностей, рисков, проблем и потенциалов организации, с которой другая организация сотрудничает или планирует сотрудничать. Протокол аудита поставщика животных должен включать:

- проверку зоогигиенического состояния;
- проверку квалификации персонала;
- оценку общего состояния животных;
- проверку разрешающих документов;
- проверку статуса организации;
- оценку масштабов производства.

В докладе отмечено, что поступление животных должно сопровождаться ветеринарно-сопроводительной документацией, установленной государством. Лектор поделилась опытом подготовки животных, полученных из стороннего питомника.

В продолжение темы подготовки лабораторных животных к НИР прозвучал доклад руководителя центра коллективного пользования ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» (НИИ МП) Джини Джинаровны Карал-оглы [«Мониторинг вирусных и бактериальных инфекций лабораторных приматов ФГБНУ «НИИ МП»](#)⁵ об особенностях подготовки лабораторных приматов к эксперименту. Джина Джинаровна рассказала, что на базе питомника ФГБНУ «НИИ МП» проводят полный контроль инфекционных и инвазивных заболеваний приматов. Ретроспективные данные мониторинга здоровья приматов представлены в табл. 3–б.

Исходя из данных табл. 3, следует, что в ходе проведения мониторинга здоровья лабораторных приматов патогенных бактерий у макак-резус, павианов и мартышек зеленых обнаружено не было. У макак яванских питомника ФГБНУ «НИИ МП» и импортированных из Вьетнама встречалась *Shigella flexneri*.

У макак, павианов и мартышек встречалась как моноинвазия, так и микст-инвазия, при этом экстенсивность инвазии у мартышек зеленых несколько выше, чем у других видов обезьян.

Говоря об обнаружении ВГЕ, лектор заострила внимание слушателей на том, что сам вирус чаще всего обнаруживается у животных в возрасте 0,7–2,6 года.

⁴ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/dobryanskaya-ss.pdf>

⁵ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/karal-ogly-dd.pdf>

Таблица 3

Результаты бактериологического исследования обезьян

Вид	Число обследованных животных	Число животных — носителей микроорганизмов	
		Условно-патогенных	Патогенных
Макаки-резус (<i>Macaca mulatta</i>) (питомник НИИ «МП»)	1595	573 (35,9%)	<i>Shigella</i> spp. — 0, <i>Salmonella</i> spp. — 0, <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> — 0
Павианы гамадрилы (<i>Papio hamadryas</i>) (питомник НИИ «МП»)	352	99 (28,1%)	<i>Shigella</i> spp. — 0, <i>Salmonella</i> spp. — 0, <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> — 0
Мартышки зеленые (<i>Chlorocebu saethiops</i>) (питомник НИИ «МП»)	99	37 (37,4%)	<i>Shigella</i> spp. — 0, <i>Salmonella</i> spp. — 0, <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> — 0
Макаки яванские (<i>Macaca fascicularis</i>) (Вьетнам)	490	91 (18,5%)	91/5 (5,5%) <i>Shigella flexneri</i> «4b» — 3, <i>Shigella flexneri</i> «2a» — 2, <i>Salmonella</i> spp. — 0, <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> — 0
Макаки яванские (<i>Macaca fascicularis</i>) (питомник НИИ «МП»)	843	231 (27,4%)	231/3 (1,29%) <i>Shigella flexneri</i> «2a» — 3, <i>Salmonella</i> spp. — 0, <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> — 0

Джина Джинаровна также сообщила, что обезьяны ВГЕ и ВГА переболевают в молодом возрасте, а после 3 лет у животных вырабатывается стойкий иммунитет и наличие иммуноглобулинов никак не влияет на клинический статус животных.

Среди распространенных вирусов приматов лектор выделила вирус обезьяньего иммунодефицита (SIV), Т-клеточного лейкоза обезьян (STLV), обезьяньего ретровируса типа D (SRV), цитомегаловирусы (CMV), различные вирусы герпеса (HSV1+2 и EBV). Данную группу инфекций стоит рассматривать как латентные вирусы приматов. Данные вирусы не обнаруживаются с помощью ПЦР, однако при использовании ИФА могут определяться антитела к данным заболеваниям. Наличие антигенов к данным вирусам никак не влияет на клинический статус обезьян и на GLP-статус исследования.

Превентивные мероприятия

В продолжение темы прозвучал доклад главного ветеринарного врача АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» Дмитрия Юревича Акимова [«Ветеринарное обеспечение в до-клиническом центре»](#)⁶. Дмитрий Юрьевич рассказал, что исходя из физиологическо-

⁶ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/akimov-d.yu..pdf>

Результаты паразитологического исследования обезьян

Вид	Число обследованных/ инвазированных животных	Результаты исследования	
Макаки-резус (<i>Macaca mulatta</i>)	1449/606 (41,8%)	Моноинвазия — 568 (93,7%): простейшие — 541 (89,3%), гельминты — 27 (4,4%). <i>Balant.</i> — 442, <i>Blast.</i> — 92, <i>Trich.</i> — 27, <i>Lambl.</i> — 7	Полиинвазия — 38 (6,3%): <i>Balant.+Trich.</i> — 17, <i>Balant.+Blast.</i> — 13, <i>Balant.+Trich.</i> — 3, <i>Balant.+Lambl.</i> — 3, <i>Blast.+Lambl.</i> — 1, <i>Blast.+Trich.+Strong</i> — 1
Павианы гамадрилы (<i>Papio hamadryas</i>)	352/145 (41,2%)	Моноинвазия — 130 (89,7%): простейшие — 99 (68,3%), гельминты — 31 (21,4%). <i>Balant.</i> — 99, <i>Trich.</i> — 29, <i>Strong.</i> — 2	Полиинвазия 15 (10,3%): <i>Balant.+Trich.</i> — 12, <i>Balant.+Strong.</i> — 2, <i>Trich.+Strong.</i> — 1
Мартышки зеленые (<i>Chlorocebus aethiops</i>)	91/46 (50,5%)	Моноинвазия — 45 (97,8%): простейшие — 39 (84,8%), гельминты — 6 (13%). <i>Blast.</i> — 29, <i>Lambl.</i> — 10, <i>Strong.</i> — 5, <i>Trich.</i> — 1	Полиинвазия — 1 (2,2%): <i>Blast.+Strong.</i> — 1
Макаки яванские (<i>Macaca fascicularis</i>) (Вьетнам)	490/193 (39,4%)	Моноинвазия — 160 (83,0%): простейшие — 99 (51,3%), гельминты — 61 (31,6%). <i>Balant.</i> — 64, <i>Blast.</i> — 35, <i>Strong.</i> — 34, <i>Trich.</i> — 13, <i>Ancyl.</i> — 14	Полиинвазия — 33 (17,0%): <i>Balant.+Blast.</i> — 7, <i>Balant.+Trich.</i> — 7, <i>Balant.+Strong.</i> — 4, <i>Lambl.+Strong.</i> — 2, <i>Strong.+Trich.</i> — 6, <i>Blast.+Trich.</i> — 3, <i>Ancyl.+Balant.</i> — 1, <i>Ancyl.+Blast.</i> — 1, <i>Trich.+Ancyl.</i> — 1, <i>Balant.+ Blast.+Lambl.</i> — 1
Макаки яванские (<i>Macaca fascicularis</i>) (питомник НИИ «МП»)	858/334 (38,9%)	Моноинвазия — 318 (95,2%): простейшие — 315 (94,3%), гельминты — 3 (0,9%). <i>Balant.</i> — 297, <i>Blast.</i> — 17, <i>Lambl.</i> — 1, <i>Trich.</i> — 3	Полиинвазия — 16 (4,8%): <i>Balant.+Blast.</i> — 8, <i>Balant.+Trich.</i> — 3, <i>Blast.+Trich.</i> — 2, <i>Balant.+Lambl.</i> — 2, <i>Blast.+Strong.</i> — 1

Таблица 5

Частота обнаружения маркеров вируса гепатита Е (ВГЕ)

Вид и происхождение обезьян	Возраст, годы	Маркеры ВГЕ (число обследованных/число позитивных)		
		IgG	IgM	РНК
Макаки яванские (<i>Macaca fascicularis</i>) (Вьетнам, поставка 2015–2018 гг.)	4,1–8,8	40/23 (57,5%)	40/3 (7,5%)	9/0 (0%)
	3,6–6,6	45/0 (0%)	45/0 (0%)	10/0 (0%)
	3,6–8,3	44/29 (65,9%)	44/5 (11,3%)	10/0 (0%)
	4,0–8,3	44/25 (56,8%)	44/19 (43,2%)	35/2 (5,7)
	0,7–2,6	—	—	42/5 (11,9)
	1,7–2,5	92/63 (68,5%)	92/9 (9,8%)	97/0 (0%)
	3,2–4,9	40/18 (45,0%)	40/4 (10%)	10/0 (0%)
Макаки яванские (<i>Macaca fascicularis</i>) (Маврикий SPF, поставка 2016 г.)	4,8–9,6	50/0 (0%)	50/0 (0%)	—
Зеленые мартышки (<i>Chlorocebus pygerythrus</i>) (Танзания, поставка 2014 г.)	3–5	40/0 (0%)	40/0 (0%)	—
Всего		395/158 (40,0%)	395/40 (10,1%)	213/7 (3,3%)

Таблица 6

Частота обнаружения маркеров вируса гепатита А (ВГА)

Происхождение обезьян	Вид обезьян	Маркеры ВГА (число обследованных/число позитивных)		
		IgG	IgM	РНК
Питомник НИИ «МП» (2019–2021 гг.)	Макаки-резусы (<i>Macaca mulatta</i>)	55/48 (87,3%)	68/6 (8,8%)	47/2 (4,2%)
	Зеленые мартышки (<i>Chlorocebus aethiops</i>)	32/25 (78,1%)	34/3 (8,8%)	19/1 (5,3%)
	Макаки яванские (<i>Macaca fascicularis</i>)	—	19/2 (10,5%)	5/0 (0%)
	Павианы гамадрилы (<i>Papio hamadryas</i>)	36/36 (100%)	53/2 (3,8%)	13/0 (0%)
	Всего	123/109 (88,6%)	174/13 (7,5%)	84/3 (3,5%)
Танзания (поставка 2014 г.)	Зеленые мартышки (<i>Chlorocebus pygerythrus</i>)	38/24 (63,1%)	40/11 (27,5%)	40/11 (27,5%)
Вьетнам (поставка 2015 г.)	Макаки яванские (<i>Macaca fascicularis</i>)	52/47 (90,4%)	52/14 (26,9%)	10/0 (0%)
	Всего	90/71 (78,9%)	92/25 (27,2%)	50/11 (22,0%)

го статуса и вида, у животных должны проводиться профилактические мероприятия (табл. 7).

Кроме проведения превентивных лечебных мероприятий важную роль в жизни животного и в профилактике внутренних незаразных болезней играют санитарно-гигиенические мероприятия (табл. 8).

О вариантах взаимодействия различных видов животных с человеком данные приведены в табл. 9.

Ветеринарные тренинги

В продолжение темы взаимодействия животных и человека прозвучал доклад ветеринарного врача АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» Мариам Мубиновны Билялетдиновой [«Этологическое тестирование и проведение тренингов лабораторных приматов»](#)⁷. В своем докладе лектор среди критериев по созданию тренингов для приматов выделила необходимость учитывать такие факторы, как:

- половая принадлежность животного;
- возраст;
- окружающая среда;
- предыдущий опыт конкретной особи;
- темперамент и другие индивидуальные особенности.

Данные факторы влияют на то, как животное проявляет себя при социализации, реагирует на обучение и среду обогащения, поэтому их следует учитывать при выборе среды обогащения, составлении групп животных, проживающих в одной клетке, а также планировании тренингов (рис. 1).

Подытоживая свой доклад, М.М. Билялетдинова заключила, что несмотря на увеличение временных затрат в период адаптации животных, время выполнения процедур в исследованиях уменьшается до двух раз. Кроме этого, уменьшается тревожность животных и улучшается психологический комфорт персонала.

Зоотехническое обеспечение

В рамках конференции GLP-PLANET III прошел «Презентационный обучающий мастер-класс по методам работы в зоне содержания лабораторных животных». Представители компании АНО «АВТех» и НПК «SciCat» осветили вопросы, касающиеся работы с оборудованием в зоне содержания лабораторных животных и особенности предоперационного и послеоперационного содержания лабораторных животных.

Окружающая среда определяет здоровье и благополучие животных, при этом каждый ее аспект может потенциально влиять на их поведенческие и физиологические реакции, тем самым определяя достоверность результатов исследований. Различные исследования могут быть чувствительны и к факторам окружающей

⁷ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/bilyaletdinova-mm.pdf>

Таблица 7

Профилактические мероприятия

Вид животного	Возраст	Мероприятие
Мелкие лабораторные грызуны (мыши, крысы, песчанки, сирийские хомячки, морские свинки)	28–30-й день жизни	Противопаразитарные обработки
	Каждые 3 мес	
Кролики	Через 1 мес и далее каждые 3 мес	Противопаразитарные обработки, включая противозимериозную
	Через 1,5 мес, 5 мес, каждые 6 мес	Вакцинация против миксоматоза и вирусной геморрагической болезни кроликов
Карликовые свиньи *	70–95-е сутки супоросности	Вакцинация против трансмиссивного гастроэнтерита и ротавирусной болезни**
	50–55-е сутки до опороса, второй раз за 25–30 сут до опороса	Вакцинация против эшерихиоза**
	За 1–2 мес до опороса	Вакцинация против лептоспироза**
	За 1,5–2,0 мес до опороса	Вакцинация против сальмонеллеза, пастереллеза и стрептококкоза**
	25–28-й и 33–38-й день жизни	Вакцинация против эшерихиоза, псевдомоноза и энтерококковой инфекции**
	6–7-й день жизни	
	12–15-й и на 22–25-й день жизни	Вакцинация против пастереллеза**
	Через 14 дней жизни	Вакцина против листериоза **
	Через 1,5 мес жизни	Вакцинация против болезни Ауески
	Через каждые 6 мес в течение жизни	
	40–45-й и 85–100-й день жизни	Вакцинация против классической чумы свиней
	1 раз в год в течение жизни	Противопаразитарная обработка
	8–9-я неделя жизни	
	Через каждые 3 мес	
Через 2 мес	Вакцинация против ящура **	
Через 6 мес		

Вид животного	Возраст	Мероприятие
	Со 2-го месяца жизни	Вакцинация против рожи
	Через 25–30 дней	
	Через 5 мес	Вакцинация против сибирской язвы **
	Через 3 мес	
	Через 6 мес	
1 раз в год в течение жизни		
Хорьки	8–9-я неделя жизни	Противопаразитарная обработка
	Через каждые 3 мес	
	Через 1,5–2 мес	Вакцинация против ботулизма, чумы плотоядных, псевдомоноза, вирусного энтерита
	Через 21–27 дней	
	В 1 год	
1 раз в год в течение жизни		
Кошки	8–9-я неделя жизни	Противопаразитарная обработка
	Через каждые 3 мес	
	8–10-я неделя жизни	Вакцинация против панлейкопении, ринотрахеита, калицивирусной инфекции и хламидиоза кошек
	Через 21–27 дней	
	В 1 год	
1 раз в год в течение жизни		
Собаки	8–9-я неделя жизни	Противопаразитарная обработка
	Через каждые 3 мес	
	8–10-я неделя жизни	Вакцинация против чумы, аденовирусных инфекций, парвовирусного и коронавирусного энтерита, лептоспироза
	Через 21–27 дней	
	В 1 год	
1 раз в год в течение жизни	Вакцинация против чумы, аденовирусных инфекций, парвовирусного и коронавирусного энтерита, лептоспироза и бешенства	

Примечание. * Перечень может быть изменен исходя из эпизоотологического статуса района, регулируется государственным ветеринарным управлением;

** для неблагополучных по данным заболеваниям учреждений.

Таблица 8

Рекомендованные санитарно-гигиенические мероприятия

Вид животного	Периодичность проведения санитарно-гигиенических мероприятий				
	Еженедельно	Ежемесячно	Ежеквартально	Полугодично	Ежегодно
Мыши и крысы	При выявлении потребности				
Песчанки и сирийские хомячки	—	—	—	Подрезание резцов	—
Морские свинки	—	—	—	Стрижка когтей	Подрезание резцов
Кролики	—	—	—	Стрижка когтей	Подрезание резцов
Карликовые свиньи	Чистка ушей и глаз	Применение скребниц	—	Стрижка копылец, мытье	Ультразвуковая чистка зубов
Хорьки	—	—	Чистка ушей и глаз	Стрижка когтей	Чистка параанальных желез
Собаки и кошки	Чистка ушей и глаз	Вычесывание	Стрижка когтей	Купание	Ультразвуковая чистка зубов
Приматы	Самостоятельное купание, вычесывание	Умывание	—	—	—

Рекомендованные формы и кратность взаимодействия животных и человека

Мыши, крысы, песчанки, сирийские хомячки	Морские свинки, кролики	Карликовые свиньи	Хорьки	Кошки	Собаки	Игрушки обыкновенные (мармозетки), яванские макаки
Хендлинг и щекотка* перед выполнением процедур и после проведения замены клеток	Хендлинг перед выполнением процедур и после проведения замены клеток	Хендлинг с применением лакомства до утреннего кормления	Хендлинг не реже 2 раз в неделю	Игры не реже 3 раза в неделю	Выгул 2 раза в сутки	Хендлинг до или совместно с проведением уборки, кормлением, поением, но не реже чем ежедневно
		Игры не реже 1 раза в неделю				
		Приучение к процедурам не реже 2 раз в неделю		Поглаживание не реже одного раза в сутки, например, при замене лотков, кормлении и поении	Приучение к процедурам не реже 2 раз в неделю	Тренинг при освоении нового задания ежедневно (как правило, требуется 30–60 дней)** , далее не реже 3 раз в неделю

Примечание. * Используется для крыс и сирийских хомячков; ** существуют индивидуальные особенности. Некоторые животные необучаемы, а некоторые слушаются только мужчин или только женщин.

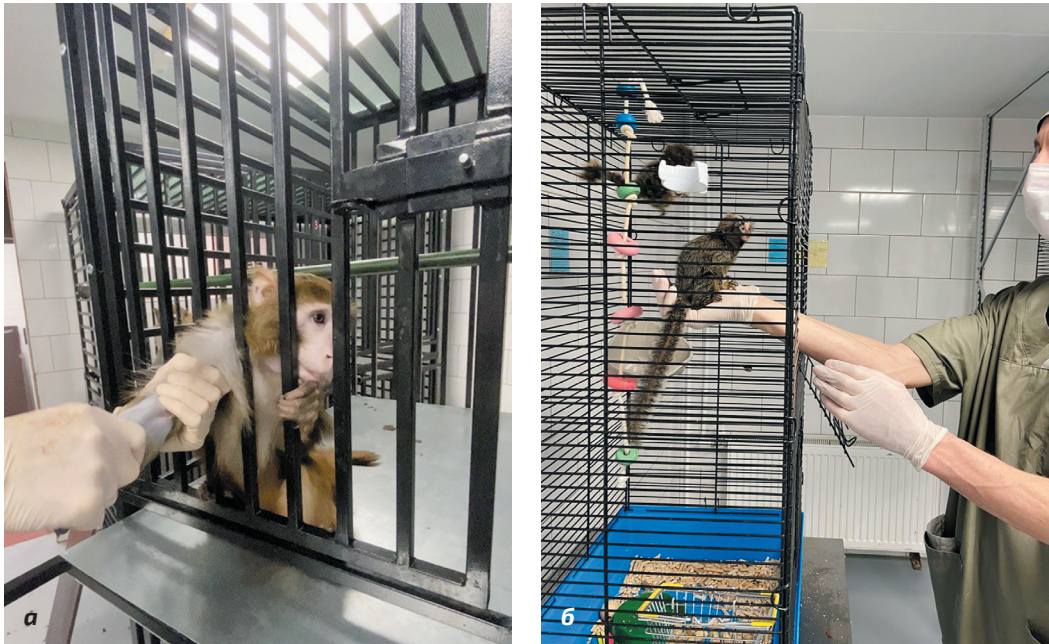


Рис. 1. Результативность тренировок: а — яванская макака подает лапу для взятия крови; б — игрунка обыкновенная (мармозетка) садится на руку для дальнейшего обследования

среды, при этом конкретные аспекты окружающей среды, о которых необходимо сообщить, могут зависеть от типа исследования.

Окружающая среда, как лишенная дополнительных элементов, так и обогащенная, может оказывать действие на широкий спектр физиологических и поведенческих реакций. Обычно выделяют структурное обогащение (например, возвышенные поверхности, разделители); ресурсы для типовых видов деятельности (в частности, материал для гнезд, укрытия для грызунов; растения или гравий для водных видов); а также игрушки или другие инструменты, предназначенные для ощущения новизны, используемые для стимулирования исследований, упражнений (например, беговое колесо).

Если в исследовании не предусмотрено никакого обогащения окружающей среды, проводилась депривация от еды и воды, или животные содержались одиночно, то при подготовке отчета или статьи это следует четко указать и обосновать, поскольку такие факторы могут оказывать существенное влияние на результаты эксперимента.

Помещения

Функции и планирование

1. Все помещения должны быть сконструированы таким образом, чтобы обеспечивать среду обитания, соответствующую физиологическим и этологиче-

ским потребностям того вида животных, который в них содержится. Планировка помещений и их эксплуатация должны исключать доступ посторонних лиц, а также бегство животных и проникновение их извне.

2. Учреждение обязано иметь действующую программу технического обслуживания, чтобы предотвращать и исправлять любые неисправности помещения и оборудования, а также обеспечивать непрерывность деятельности учреждения особенно в части жизнеобеспечения животных. В рамках риск-ориентированного подхода к основным процессам деятельности учреждения должны быть максимально предусмотрены действия при всех кратковременных и длительных аварийных ситуациях, которые могут оказать влияние на жизнеобеспечение животных, такие как отключение электроэнергии, водоснабжения, вентиляционных систем и т.д.

Для оценки рисков рекомендуется использовать методы, которые позволяют выявить проблему до того, как она появится и окажет воздействие, то есть методы, которые направлены на установление тяжести вреда последствий, вероятности возникновения и выявления опасности.

Помещения для содержания животных

1. Учреждения обязаны иметь эффективный график регулярной уборки в помещениях и поддерживать удовлетворительные гигиенические стандарты. Для оценки санитарно-гигиенических показателей чистоты помещений целесообразно применять стандарты, предусмотренные для лечебно-профилактических учреждений. При этом необходимо использовать риск-ориентированный подход для определения регулярности взятия проб и смывов в зависимости от назначения каждого помещения и санитарно-эпидемиологической ситуации в каждом конкретном регионе.
2. Стены и полы должны быть покрыты материалом, устойчивым к воздействию сильных моющих средств, который не может быть поврежден животными. Материал не должен оказывать вредного воздействия на здоровье животных и травмировать их. Приборы и оборудование должны иметь дополнительную защиту от порчи их животными и от травмирования самих животных.
3. Несовместимые виды животных, например, хищник и потенциальная жертва, или животные, требующие различных условий содержания, не должны находиться в одной комнате. При содержании хищника и потенциальной жертвы нельзя допускать, чтобы они находились в области зрительного, обонятельного или звукового контакта.

Общие и специализированные (процедурные) помещения

1. В случае необходимости учреждения обязаны иметь лабораторные комнаты для выполнения простых диагностических тестов, проведения вскрытий и/или для взятия проб, отправляемых на более детальное исследование в другие лаборатории. Общие и специализированные помещения должны

использоваться, когда выполнение процедур или наблюдений в помещении для содержания животных нежелательно.

2. Должны быть выделены отдельные помещения для карантина вновь поступающих животных до определения состояния их здоровья и установления потенциальных факторов риска для здоровья животных, уже содержащихся в учреждении.
3. Должны быть выделены отдельные помещения для содержания больных или травмированных животных.

Служебные помещения

1. Складские помещения необходимо конструировать, использовать и обслуживать таким образом, чтобы сохранять качество корма и подстилочного материала. В таких помещениях не должно быть вредителей и насекомых. Загрязненные материалы, в том числе все виды отходов, представляющие опасность для животных или персонала, необходимо хранить отдельно.
2. Помещения для уборки и мойки должны иметь площадь, достаточную для размещения установок, необходимых для очистки и мойки оборудования. Процесс мойки должен быть организован таким образом, чтобы разделить чистое и грязное оборудование во избежание загрязнения свежемытого оборудования.
3. Учреждения обязаны обеспечить условия для гигиенического хранения и безопасной утилизации отходов жизнедеятельности животных и их трупов.
4. Если требуется проведение операций в стерильных условиях, то необходимы одно или несколько помещений, оборудованных соответствующим образом, а также следует предусмотреть помещения для послеоперационного восстановления животных.

Контроль факторов окружающей среды

Вентиляция и температура

1. Теплоизоляция, обогрев и вентиляция помещений для животных должны обеспечивать условия, в которых циркуляция воздуха, степень запыленности и концентрация газов поддерживаются в пределах, не опасных для животных и персонала.

ПДК вредных веществ в воздухе помещений.

- В помещениях содержания животных:
 - аммиак — 10 мг/м³;
 - углекислый газ — 0,15 об. %.
- В производственных помещениях:
 - аммиак — 20 мг/м³;
 - формальдегид — 0,5 мг/м³.

2. Температура и относительная влажность в помещениях должны быть подобраны соответственно виду и возрасту содержащихся в них животных. Температуру необходимо измерять и регистрировать ежедневно.

3. Животные не должны содержаться на улице в неконтролируемых климатических условиях, которые могут вызвать у них дистресс и привести к неопределенности в исследовании.

Освещение

1. В случае, когда естественного освещения недостаточно для обеспечения надлежащего цикла дня и ночи, необходимо наладить искусственное освещение, удовлетворяющее биологическим потребностям животных и обеспечивающее надлежащую рабочую обстановку.
2. Уровень освещенности должен быть достаточным для проведения процедур по уходу за животными и наблюдения за ними.
3. Необходимо обеспечить регулярный световой день и интенсивность освещения в соответствии с видоспецифическими потребностями животных.
4. При содержании животных-альбиносов уровень освещенности должен быть отрегулирован с учетом их повышенной чувствительности к свету.

Шум

1. Уровень шума, в том числе ультразвук, не должен отрицательно влиять на благополучие животных.
2. В случае необходимости помещения для животных должны быть обеспечены звукоизоляцией и звукопоглощающими материалами.

Системы сигнализации

1. Учреждения, использующие электрическое и механическое оборудование для контроля и аварийного поддержания надлежащей среды обитания, обязаны иметь резервную систему сервисного обслуживания и освещения, а также регулярно проверять исправность систем сигнализации.
2. Системы нагрева воздуха и вентиляции должны быть оборудованы устройствами для контроля и сигнализации.
3. Четкие инструкции по действию в аварийных ситуациях необходимо размещать на видном месте.

Уход за животными

Размещение

Животные, кроме тех, которые в естественных условиях ведут одиночный образ жизни, должны содержаться постоянными социальными группами совместимых друг с другом особей. Подбор и анализ социально совместимых животных должны проводиться и документироваться. Когда разрешено индивидуальное содержание в соответствии, его длительность должна ограничиваться минимально необходимым периодом, при этом надо обеспечить визуальный, слуховой, обонятельный и/или тактильный контакт с сородичами. Введение новых особей в группу или перемещение особей из одной группы в другую необходимо проводить под тщательным

наблюдением во избежание возникновения проблем, связанных с несовместимостью и нарушением социальных связей.

Обогащение среды (создание многостимульных условий)

Всем животным необходимо предоставить пространство, достаточно насыщенное для проявления широкого спектра их естественных поведенческих реакций. Они должны иметь определенную возможность контроля и выбора условий для того, чтобы успокоить животное и нивелировать реакцию, вызванную стрессом. Учреждения обязаны создать многостимульные условия для расширения спектра активности животных, включая физические упражнения, поиск пищи, игровую и познавательную активность в соответствии с их видовой принадлежностью. Средства для обогащения среды обитания подбираются в соответствии с видовыми и индивидуальными особенностями животных. Стратегии по обогащению среды обитания в учреждении необходимо документировать, регулярно пересматривать и обновлять.

Клетки

Клетки должны быть сделаны из безопасных для здоровья животных материалов. Их дизайн и конструкция должны исключать возможность получения животным каких-либо повреждений. Клетки для многоразового использования изготавливаются из материалов, выдерживающих мойку и дезинфекцию. Пол клеток должен быть сделан с учетом видовых и возрастных особенностей животных и быть удобным для удаления продуктов их жизнедеятельности.

Кормление

1. Форма, состав и раздача корма должны соответствовать пищевым и поведенческим потребностям животных.
2. Корм должен быть приятным на вкус и не содержать вредных веществ. При выборе сырья, производстве, приготовлении и раздаче корма учреждения обязаны принимать меры для минимизации химического, физического и микробиологического загрязнения.
3. Упаковка, транспортировка и хранение корма должны исключать возможность его загрязнения, порчи или уничтожения. Все контейнеры, поилки или другую посуду, используемую для кормления, необходимо регулярно очищать и при необходимости стерилизовать.
4. Каждое животное должно иметь доступ к пище и достаточное пространство для кормления, обеспечивающее минимальное соперничество.

Поение

1. Все животные должны иметь постоянный доступ к чистой питьевой воде.
2. В случае использования автоматической системы поения она должна регулярно проверяться, проходить технический осмотр и промываться во избе-

- жание осложнений при поении. Если используются клетки со сплошным дном, необходимо предпринимать меры, чтобы минимизировать риск затопления.
3. Подача воды в аквариумы и садки должна соответствовать видовым потребностями и допустимым отклонениям для отдельных рыб, амфибий и рептилий.

Отдых и пространство для сна

1. В наличии всегда должны быть подобранный для конкретного вида животных подстилочный материал или укрытия для сна, в том числе материал для строения гнезд или специальные конструкции для животных, разводимых в учреждении.
2. Клетки должны иметь надежные и удобные места для отдыха в соответствии с видовыми особенностями животных. Место для сна должно быть чистым и сухим.

Обращение с животными

Учреждения обязаны иметь программы адаптации и дрессировки, подходящие данным животным, процедурам и продолжительности проекта.

Потребности лабораторных животных в зависимости от их вида представлены в таблицах 10–38.

В этой и последующих таблицах, предоставляющих данные о мышах, крысах, песчанках, хомячках и морских свинках, высота клетки означает расстояние между

Таблица 10
 Параметры окружающей среды для содержания лабораторных мышей

Температура в боксе содержания, °С	Влажность в боксе содержания, %	Кратность воздухообмена в боксе содержания, абс. число	Освещенность бокса содержания, люкс	Цикл освещения, ч
18–26	45–65	10–20	350	12/12

Таблица 11
 Параметры клетки содержания для лабораторных мышей

Вид содержания	Масса, г	Минимальный размер клетки, см ²	Площадь клетки/животное, см ²	Минимальная высота клетки, см
Групповое	Менее 20	330	60	12
	20–25	330	70	12
	25–30		80	12
	Более 30	330	100	12
Воспроизводство	—	330 (для каждой дополнительной самки с пометом должно быть добавлено 180 см ²)	—	

Таблица 12

Варианты среды обогащения для лабораторных мышей

Категория	Варианты
Социальная	Содержание в гармоничных группах, хендлинг персоналом при выполнении процедур
Пищевая	Минеральный камень, морковь
Сенсорная	Визуальный/слуховой контакт с сородичами
Физическая	Тоннель пластиковый, бумажный стаканчик, вата

Таблица 13

Мыши

Вид содержания	Масса, г	Минимальный размер клетки, см ²	Площадь клетки/животное, см ²	Минимальная высота клетки, см
В колонии и во время экспериментов	Менее 20	330	60	12
	20–25	330	70	12
	25–30	330	80	12
	Более 30	330	100	12
Разведение		330 для моногамных пар (аутбредные или инбредные животные) или триад (инбредные животные); для каждой дополнительной самки с пометом должно быть добавлено 180 см ²	—	12
В колонии у заводчика	<20	950	40	12
		1500	30	12

Примечание. В течение короткого периода после отлучения от матери мышей можно содержать в группах большей плотности при условии их размещения в больших клетках с достаточно обогащенной средой, если при этом не наблюдается признаков нарушения их благополучия: повышения агрессии, заболеваемости и смертности, а также стереотипии и других нарушений нормального поведения, потери массы тела или прочих физиологических или поведенческих реакций, вызванных стрессом.

полом и верхом клетки, при этом более 50% минимальной площади клетки должно быть данной высоты до помещения туда устройств для создания многостимульных условий (обогащения среды). При планировании процедур необходимо учитывать вероятный рост животных для того, чтобы обеспечить их достаточным жизненным пространством на весь период исследования согласно табл. 13–17.

Таблица 14

Крысы				
Вид содержания	Масса, г	Минимальный размер клетки, см ²	Площадь клетки/животное, см ²	Минимальная высота клетки, см
В колонии и во время экспериментов*	Менее 200	800	200	18
	200–300	800	250	18
	300–400	800	350	18
	400–600	800	450	18
	Более 600	1500	600	18
Разведение		800 для самки с пометом (для каждой дополнительной взрослой крысы должно быть добавлено 400 см ²)	—	18
В колонии у заводчика (клетка 1500 см ²)**	Менее 50	1500	100	18
	50–100	1500	125	18
	100–150	1500	150	18
	150–200	1500	175	18
В колонии у заводчика (клетка 2500 см ²)**	Менее 100	2500	100	18
	100–150	2500	125	18
	50–200	2500	150	18

*Примечание. * В долгосрочных исследованиях, если площадь пространства на одно животное к концу опыта становится меньше указанной в таблице, то приоритетным должно быть постоянство социальной группы.*

*** В течение короткого периода после отлучения от матери крыс можно содержать в группах большей плотности при условии их размещения в больших клетках с достаточно обогащенной средой, если при этом не наблюдается признаков нарушения их благосостояния: повышения агрессии, заболеваемости и смертности, стереотипии и других нарушений нормального поведения, потери массы тела или прочих физиологических или поведенческих реакций, вызванных стрессом.*

Таблица 15

Песчанки				
Вид содержания	Масса, г	Минимальный размер клетки, см ²	Площадь клетки/животное, см ²	Минимальная высота клетки, см
В колонии и во время экспериментов	Менее 40	1200	150	18
	Более 40	1200	250	18
Разведение		1200 для моногамных пар или триад с пометом	—	18

Таблица 16

Хомячки				
Вид содержания	Масса, г	Минимальный размер клетки, см ²	Площадь клетки/ животное, см ²	Минимальная высота клетки, см
В колонии и во время экспериментов	Менее 60	800	150	14
	60–100	800	200	14
	Более 100	800	250	14
Разведение		800 (самки или пары пометом)	—	14
В колонии у заводчика*	Менее 60	1500	100	14

Примечание. В течение короткого периода после отлучения от матери хомячков можно содержать в группах большей плотности при условии их размещения в больших клетках с достаточно обогащенной средой, если при этом не наблюдается признаков нарушения их благосостояния: повышения агрессии, заболеваемости и смертности, стереотипии и других нарушений нормального поведения, потери массы тела или прочих физиологических или поведенческих реакций, вызванных стрессом.*

Таблица 17

Морские свинки				
Вид содержания	Масса, г	Минимальный размер клетки, см ²	Площадь клетки/ животное, см ²	Минимальная высота клетки, см
В колонии и во время экспериментов	Менее 200	1800	200	23
	200–300	1800	350	23
	300–450	1800	500	23
	450–700	2500	700	23
	Более 700	2500	900	23
Разведение		2500 для пары с пометом (для каждой дополнительной самки должно быть добавлено 1000 см ²)	—	23

Для кроликов внутри клетки должна быть специальная, приподнятая над полом площадка. Эта площадка должна позволять животному свободно сидеть и лежать, а также свободно залезать под нее, при этом размер площадки не должен превышать 40% площади всей клетки. В случае, когда использование такой площадки невозможно по ветеринарным или научным соображениям, то размер клетки должен быть на 33% больше для одного кролика и на 60% для пары кроликов. При содержании кроликов моложе 10 нед размер площадки должен быть не меньше чем 55 см на 25 см, а высота клетки должна соответствовать размерам животного.

Таблица 18

Кролики старше 10-недельного возраста

Масса, кг	Минимальная площадь для 1–2 социально подходящих друг другу животных, см ²	Минимальная высота клетки, см
Менее 3	3500	45
3–5	4200	45
Более 5	5400	60

Таблица 19

Кролики: оптимальные размеры приподнятой площадки для клеток, имеющих размеры, указанные в табл. 20

Возраст, нед	Масса, кг	Оптимальный размер площадки, см × см	Оптимальная высота площадки от пола клетки, см
Более 10	Менее 3	55×25	25
	3–5	55×30	25
	Более 5	60×35	30

Таблица 20

Кролики моложе 10 нед.

Возраст, нед.	Минимальные размер клетки, см ²	Минимальная площадь клетки/животное, см ²	Минимальная высота клетки, см
Менее 7	4000	800	40
7–10	4000	1200	40

Таблица 21

Самка с пометом

Масса самки, кг	Минимальный размер клетки, см ²	Дополнительное пространство для гнезд, см ²	Минимальная высота клетки, см
Менее 3	3500	1000	45
3–5	4200	1200	45
Более 5	5400	1400	60

Таблица 22

Вид содержания	Кошки		
	Площадь*, м ²	Полки, м ²	Высота, м
Минимум на одно взрослое животное	1,5	0,5	2
Увеличение для каждого дополнительного животного	0,75	0,25	—

Примечание.* Площадь пола, не включая полки.

Данные табл. 20 распространяются как на клетки, так и на загоны. На каждого с третьего по шестого кролика дополнительно прибавляют как минимум 3000 см², а для каждого дополнительного кролика 7-го и далее — как минимум 2500 см².

Кошки не должны содержаться поодиночке более чем 24 ч подряд. Кошек, постоянно проявляющих агрессию по отношению к другим кошкам, необходимо содержать отдельно, только если им не может быть подобрана совместимая особь. Социальная совместимость животных, содержащихся парами или группами, должна контролироваться по крайней мере раз в неделю.

Самок в последние 2 нед беременности или с котятами менее 4-недельного возраста можно содержать отдельно.

Минимальное пространство для содержания самки и потомства — площадь, необходимая для одного взрослого животного. Данное пространство должно постепенно увеличиваться, чтобы к 4-месячному возрасту котята были размещены в соответствии с пространственными потребностями взрослого животного.

Места для кормления и лотки для помета располагаются на расстоянии не менее 0,5 м друг от друга. Менять их местами нельзя.

По возможности собаке должен быть обеспечен выгул. Собаки не должны содержаться поодиночке более 4 ч подряд. Часть вольера, расположенная в помещении, должна составлять не менее 50% от минимального пространства, необходимого для собаки, согласно табл. 23.

Требования к пространству, детально изложенные ниже, основаны на рекомендациях для биглей, но крупные породы, такие как сенбернары или ирландские волкодавы, обеспечиваются пространством, значительно превосходящим размеры, указанные в табл. 24. Для всех пород, кроме лабораторных биглей, необходимое пространство определяется в ходе консультации с ветеринарами.

При парном или групповом содержании собак каждая особь может быть изолирована в отсек, равный половине общей площади вольера (2 м² для собак до 20 кг, 4 м² — более 20 кг), в том случае, если такая изоляция необходима для достижения научных целей. Срок, на который собака может быть подвержена такой изоляции, не должен превышать 4 ч подряд.

Кормящая самка и щенки содержатся на такой же площади, что и одиночная самка аналогичной массы. Вольеры для щенков конструируются так, чтобы самка могла перейти в дополнительный отсек или на приподнятую площадку в стороне от щенков.

Молодые нечеловекообразные приматы не должны отлучаться от своих матерей, пока не достигнут возраста 6–12 мес (в зависимости от вида).

Таблица 23

Собаки: взрослые особи

Масса, кг	Минимальные размеры клетки, м ²	Минимальное пространство на 1–2 животных, м ²	Пространство для каждого дополнительного животного, м ²	Минимальная высота, м
Менее 20	4	4	2	2
Более 20	8	8	4	2

Таблица 24

Собаки: щенки после отлучения от матери

Масса, кг	Минимальный размер клетки, м ²	Минимальное пространство/животное, м ²	Минимальная высота, м
Менее 5	4	0,5	2
5–10	4	1	2
10–15	4	1,5	2
15–20	4	2	2
Более 20	8	4	2

Таблица 25

Хорьки

Масса, г	Минимальный размер клетки, см ²	Минимальное пространство/животное, см ²	Минимальная высота, м
Менее 600	4500	1500	50
Более 600	4500	3000	50
Взрослые самцы	6000	6000	50
Самка с пометом	5400	5400	50

Окружающая среда должна позволять нечеловекообразным приматам осуществлять комплекс ежедневных программ активности. Вольер должен давать возможность осуществления поведенческих реакций максимально широкого диапазона и позволять животным чувствовать себя в безопасности. Вольер оборудуется так, чтобы животные могли бегать, ходить, карабкаться и прыгать.

Детеныши мартышек и тамаринов не отлучаются от матери до 8-месячного возраста.

Детеныши саймири не должны отлучаться от матери до 6-месячного возраста.

Детеныши макак и верветок не отлучаются от матери до 8-месячного возраста.

В сельскохозяйственных исследованиях, когда цель проекта требует, чтобы животные находились в условиях аналогичных тем, которые используются для разведе-

Таблица 26

Мармозетки и тамарины

Вид животного	Минимальная площадь клетки для 1* или 2 животных и потомства до 5 мес, м ²	Минимальный объем/ дополнительное животное старше 5 мес, м ³	Минимальная высота**, м
Мармозетки	0,5	0,2	1,5
Тамарины	1,5	0,2	1,5

Примечание. Здесь и в табл. 27: * животные должны содержаться отдельно только в исключительных обстоятельствах; ** верхняя часть вольера должна находиться на расстоянии не менее 1,8 м от пола.

Таблица 27

Беличьи обезьяны (саймири)

Минимальная площадь клетки для 1 или 2 животных, м ²	Минимальный объем/ дополнительное животное старше 6 мес, м ³	Минимальная высота, м
2,0	0,5	1,8

Таблица 28

Макаки и верветки (карликовые зеленые мартышки)*

Возраст	Минимальный размер клетки, м ²	Минимальный объем клетки, м ³	Минимальный объем/животное, м ³	Минимальная высота, м
Моложе 3 лет**	2,0	3,6	1,0	1,8
Старше 3 лет***	2,0	3,6	1,8	1,8
Животные для разведения****	—	—	3,5	2,0

Примечание. * Животные должны содержаться отдельно только в исключительных обстоятельствах; в вольере минимального размера можно содержать: ** до 3 животных, *** до 2 животных; **** в колониях, предназначенных для разведения, молодняку до 2 лет, содержащемуся с матерями, не требуется дополнительного пространства/объема.

дения в коммерческих целях, условия содержания должны соответствовать нормам, установленным в соответствующей нормативной документации.

Свиньи могут быть размещены в меньших по размеру загонах на короткий срок, например, путем разделения основного пространства перегородками, в том случае если это оправдано ветеринарными или экспериментальными нуждами, в частности, когда требуются индивидуальные условия для потребления пищи.

В случаях, когда по научно обоснованным причинам указанные ниже минимальные размеры клеток не могут быть использованы, длительность пребывания птиц в клетках меньшего размера должна быть определена экспериментатором после консультации с ветеринарным персоналом. При этом птиц можно содержать в мень-

Таблица 29

Крупный рогатый скот (КРС)

Масса, кг	Минимальный размер загона, м ²	Минимальный площадь загона/ животное, м ²	Длина кормушки при групповом содержании КРС/животное, м	
			Количество корма не ограничено	Количество корма ограничено
Менее 100	2,50	2,30	0,10	0,30
100–200	4,25	3,40	0,15	0,50
200–400	6,00	4,80	0,18	0,60
400–600	9,00	7,50	0,21	0,70
600–800	11,00	8,75	0,24	0,80
Более 800	16,00	10,00	0,30	1,00

Таблица 30

Овцы и козы

Масса, кг	Минимальный размер загона, м ²	Минимальная площадь загона/ животное, м ²	Минимальная высота ограждения, м	Длина кормушки при групповом содержании/животное, м	
				Количество корма не ограничено	Количество корма ограничено
Менее 20	1,0	0,7	1,0	0,10	0,25
20–35	1,5	1,0	1,2	0,10	0,30
35–60	2,0	1,5	1,2	0,12	0,40
Более 60	3,0	1,8	1,5	0,12	0,50

Таблица 31

Свиньи и карликовые свиньи

Масса, кг	Минимальный размер загона, м ²	Минимальная площадь загона/ животное, м ²	Минимальная площадь для лежания в загоне (в термонейтральных условиях)/животное, м ²
Менее 5	2,0	0,20	0,10
5–10	2,0	0,25	0,11
10–20	2,0	0,35	0,18
20–30	2,0	0,50	0,24
30–50	2,0	0,70	0,33
50–70	3,0	0,80	0,41
70–100	3,0	1,00	0,53
100–150	4,0	1,35	0,70
Более 150	5,0	2,50	0,95
Взрослый кабан	7,5		1,30

Таблица 32

Домашние куры

Масса, г	Минимальные размеры клетки, м ²	Минимальная площадь клетки/птица, м ²	Минимальная высота, см	Минимальная длина кормушки/птица, см
Менее 200	1,0	0,025	30	3
200–300	1,0	0,03	30	3
300–600	1,0	0,05	40	7
600–1200	2,0	0,09	50	15
1200–1800	2,0	0,11	75	15
1800–2400	2,0	0,13	75	15
Более 2400	2,0	0,21	75	15

Таблица 33

Домашние индейки

Масса, кг	Минимальный размер клетки, м ²	Минимальная площадь клетки/птица, м ²	Минимальная высота, см	Минимальная длина кормушки/птица, см
Менее 0,3	2,0	0,13	50	3
0,3–0,6	2,0	0,17	50	7
0,6–1	2,0	0,30	100	15
1–4	2,0	0,35	100	15
4–8	2,0	0,40	100	15
8–12	2,0	0,50	150	20
12–16	2,0	0,55	150	20
16–20	2,0	0,60	150	20
Более 20	3,0	1,0	150	20

ших по площади клетках (минимум 0,75 м²), но при обеспечении соответствующего обогащения среды обитания.

Все стороны клетки должны быть не менее 1,5 м в длину. В тех случаях, когда по научно обоснованным причинам требуются меньшие размеры, длительность пребывания птиц в таких клетках определяется экспериментатором после консультации с ветеринарным персоналом. В этих случаях птицы могут быть размещены в меньших клетках, но при обеспечении соответствующего обогащения среды обитания и при минимальной площади 0,75 м² и минимальной высоте 50 см для птиц массой менее 0,6 кг; 75 см для птиц — менее 4 кг и 100 см для птиц — более 4 кг. В таких условиях могут содержаться небольшие группы птиц в соответствии с требованиями к размеру клеток, приведенными в табл. 33.

Таблица 34

Голуби				
Число особей в группе	Минимальный размер клетки, м ²	Минимальная высота, см	Минимальная длина кормушки/птица, см	Минимальная длина насеста для одной птицы, см
Менее 6	2,0	200	5	30
7–12	3,0	200	5	30
В группе более 12 на каждую дополнительную птицу	0,15	200	5	30

Таблица 35

Водные хвостатые амфибии			
Длина тела*, см	Минимальная площадь водной поверхности, см ²	Минимальная площадь водной поверхности на каждое дополнительное животное группы, см ²	Минимальная глубина воды, см
Менее 10	262,5	50	13
10–15	525	110	13
15–20	875	200	15
20–30	1837,5	440	15
Более 30	3150	800	20

Примечание. * Измеряется от морды до ануса.

Таблица 36

Водные бесхвостые амфибии*			
Длина тела**, см	Минимальная площадь водной поверхности, см ²	Минимальная площадь водной поверхности на каждое дополнительное животное группы, см ²	Минимальная глубина воды, см
Менее 6	160	40	6
6–9	300	75	8
9–12	600	150	10
Более 12	920	230	12,5

Примечание. * Данные требования распространяются на емкости для содержания амфибий, но не на емкости для естественного осеменения и суперовуляции, процедур, которые из соображений эффективности требуют емкостей меньших объемов. Требования к пространству для взрослых особей определены в соответствии с их размерами; молодые особи и головастики должны либо не приниматься в расчет, либо размеры сосуда должны быть изменены в соответствии с принципом масштабирования. ** Измеряется от морды до ануса.

Таблица 37

Полуводные бесхвостые амфибии

Длина тела*, см	Минимальный размер террариума**, см ²	Минимальная площадь террариума на каждое дополнительное животное группы, см ²	Минимальная высота террариума***, см	Минимальная глубина воды, см
Менее 5,0	1500	200	20	10
5,0–7,5	3500	500	30	10
Более 7,5	4000	700	30	15

Примечание. Здесь и в табл. 38: * измеряется от морды до ануса; ** 1/3 террариума должна приходиться на сушу, 2/3 — на воду, которой должно быть достаточно для полного погружения животных; *** измеряется от поверхности суши до крышки террариума, кроме того, высота террариума должна соответствовать его внутренней планировке.

Таблица 38

Полуземноводные бесхвостые амфибии

Длина тела*, см	Минимальный размер террариума**, см ²	Минимальная площадь террариума на каждое дополнительное животное группы, см ²	Минимальная высота террариума***, см	Минимальная глубина воды, см
Менее 5,0	1500	200	20	10
5,0–7,5	3500	500	30	10
Более 7,5	4000	700	30	15

Клетки должны быть длинными и узкими (например, 2х1 м), а не квадратными, чтобы птицы могли совершать короткие полеты.

Кормление

Предприятия комбикормовой промышленности вырабатывают комбикорма полнорационные (ПК), комбикорма-концентраты (КК), белково-витаминные добавки (БВД), премиксы (П), кормовые смеси.

Каждому рецепту комбикормовой продукции присваивают определенный идентификатор, состоящий из двух частей: буквенной и цифровой. Буквенная часть обозначает вид комбикорма, цифровая — определенный номер в пределах десятков, установленных для каждого вида животных. В пределах установленных десятков рецептам присваивают порядковые числа по производственным группам животных и буквенные литеры (табл. 39). К сожалению, мы не смогли обнаружить нормативный документ, который регламентировал бы применение этого идентификатора, однако производители кормов его используют, что может помочь исследователю ориентироваться в данной проблеме.

Идентификаторы рецептов для промышленных кормов

Буквенно-цифровой идентификатор рецептов	Вид и возраст животных
<i>Сельскохозяйственная птица</i>	
ПК 0	Цыплята от 1 до 4 дней
ПК 1	Куры-несушки промышленные и племенные
ПК 1-1	Куры-несушки до 45 нед
ПК 1-2	Куры-несушки 45 нед и старше
ПК 2	Цыплята от 1 до 7 нед
ПК 3	Молодняк кур 8–14 нед и от 15 нед до 2% яйценоскости
ПК 4	Молодняк кур от 14 до 17 нед
ПК 5	Бройлеры от 1 до 3 нед
ПК 6	Бройлеры от 4–5 нед и старше
ПК 7	Петухи яичных кроссов
ПК 8	Петухи мясных кроссов
ПК 10	Взрослые индейки-несушки (средний тип)
ПК 11	Молодняк индеек от 1 до 8 нед (средний тип)
ПК 12	Молодняк индеек от 9 до 17 нед (средний тип)
ПК 13	Ремонтный молодняк индеек от 18 до 30 нед (средний тип)
ПК 10-1	Взрослые индейки-несушки (тяжелый тип)
ПК 11-1	Молодняк индеек от 1 до 4 нед (тяжелый тип)
ПК 11-2	Молодняк индеек от 5 до 13 нед (тяжелый тип)
ПК 12-1	Молодняк индеек от 14 до 17 нед (тяжелый тип)
ПК 13-1	Молодняк индеек от 18 до 30 нед (тяжелый тип)
ПК 14	Индюки племенные
ПК 20	Взрослые утки-несушки
ПК 21	Молодняк уток от 1 до 3 нед
ПК 22	Молодняк уток от 4 до 8 нед
ПК 23	Ремонтный молодняк уток от 9 до 26 нед

Продолжение таблицы 39

Буквенно-цифровой идентификатор рецептов	Вид и возраст животных
ПК 20-1	Взрослые утки-несушки мясных кроссов
ПК 21-1	Молодняк уток мясных кроссов от 1 до 3 нед
ПК 22-1	Молодняк уток мясных кроссов от 4 до 7 нед
ПК 23-1	Молодняк уток мясных кроссов от 8 до 26 нед
ПК 24	Утята на мясо от 1 до 2 нед
ПК 24-1	Утята на мясо от 3 нед и старше
ПК 30	Взрослые гуси
ПК 31	Молодняк гусей от 1 до 3 нед
ПК 32	Молодняк гусей от 4 до 8 нед
ПК 33	Молодняк гусей от 9 до 26 нед
ПК 34	Гусята на мясо от 1 до 4 нед
ПК 34-1	Гусята на мясо от 5 нед и старше
ПК 40	Взрослые цесарки
ПК 41	Молодняк цесарок от 1 до 4 нед
ПК 42	Молодняк цесарок от 5 до 10 и от 11 до 15 нед
ПК 43	Молодняк цесарок от 16 до 28 нед
Дичь	
ДК 50	Фазаны, перепела от 1 до 4 нед
ДК 51	Фазаны, перепела от 5 до 6 нед
ДК 52	Перепела от 7 нед и старше
ДК 53	Перепелята на мясо от 1 до 4 нед
ДК 53-1	Перепелята на мясо от 5 до 6 нед
ДК 51	Фазаны взрослые (продуктивный период)
ДК 51-1	Фазаны взрослые (непродуктивный период)
ДК 52	Молодняк фазанов от 1 до 3 нед
ДК 53	Молодняк фазанов от 4 до 13 нед
ДК 54	Молодняк фазанов от 14 до 36 нед

Буквенно-цифровой идентификатор рецептов	Вид и возраст животных
ДК 55-1	Фазанята на мясо от 1 до 3 нед
ДК 55-2	Фазанята на мясо от 4 до 13 нед
ДК 60	Страусы от 1 до 4 нед
ДК 61	Страусы от 5 до 36 нед
ДК 62	Страусы от 37 до 63 нед
ДК 63	Страусы, родительское стадо
Свиньи	
СКК 50	Поросята-сосуны до 2 мес
СКК 51	Поросята-отъемыши от 2 до 4 мес
СКК 52	Ремонтный молодняк от 4 до 8 мес
СКК 53	Матки холостые и первых 2/3 супоросности
СКК 54	Матки последней 1/3 супоросности и подсосные
СКК 55	Мясной откорм свиней
СКК 56	Беконный откорм свиней
СКК 57	Хряки-производители
СКК 58	Откорм свиней до жирных кондиций
СПК 1	Свиноматки холостые и супоросные
СПК 2	Свиноматки подсосные и хряки-производители
СПК 3	Поросята от 10 до 42 дней
СПК 4	Поросята от 43 до 60 дней
СПК 5	Поросята от 61 до 120 дней
СПК 6	Ремонтный молодняк свиней от 4 до 8 мес
СПК 7	Откорм, 1-й период (ср. суточный прирост 550–600 г)
СПК 8	Откорм, 2-й период (ср. суточный прирост 550–600 г)
СПК 9	Откорм, 1-й период (ср. суточный прирост 650–700 г)
СПК 10	Откорм, 2-й период (ср. суточный прирост 650–700 г)

Продолжение таблицы 39

Буквенно-цифровой идентификатор рецептов	Вид и возраст животных
СПК 11	Откорм, 1-й период (ср. суточный прирост 800–850 г)
СПК 12	Откорм, 2-й период (ср. суточный прирост 800–850 г)
СПК 13	Откорм до жирных кондиций
Крупный рогатый скот	
КК 60	Дойные коровы и нетели (стойловый период)
КК 60-1	Дойные коровы и нетели (пастбищный период)
КК 61	Высокопродуктивные коровы (стойловый период)
КК 61-1	Высокопродуктивные коровы (пастбищный период)
КК 62	Телята до 4 мес
КК 63	Молодняк КРС от 4 до 12 мес (стойловый период)
КК 63-1	Молодняк КРС от 4 до 12 мес (пастбищный период)
КК 64	Молодняк КРС от 12 до 18 мес (стойловый период)
КК 64-1	Молодняк КРС от 12 до 18 мес (пастбищный период)
КК 65	Откорм КРС (стойловый период)
КК 65-1	Откорм КРС (пастбищный период)
КК 66	Быки-производители (стойловый период)
КК 66-1	Быки-производители (пастбищный период)
Лошади	
ЛК 70	Рабочие лошади
ЛК 71	Тренируемые и спортивные лошади
ЛК 72	Откорм и нагул молодняка мясных лошадей
ЛК 73	Жеребцы и племенные кобылы
ЛК 74	Дойные кобылы
ЛК 75	Откармливаемые лошади
Овцы	
ОК 80	Суягные и подсосные матки

Буквенно-цифровой идентификатор рецептов	Вид и возраст животных
ОК 81-1	Ягнята до 4 мес
ОК 81-2	Молодняк старше 4 мес
ОК 82	Бараны-производители в случной период
ОК 82-1	Бараны-производители в неслучной период
Кролики, нутрии, пушные звери	
ПЗК 90	Молодняк кроликов
ПЗК 91	Взрослые кролики
ПЗК 92	Выращиваемые и откармливаемые кролики от 28 дней и старше
ПЗК 93	Нутрии
ПЗК 94	Пушные звери
Рыба:	
КРК 110	Сеголетки, племенной молодняк, производители (прудовой карп)
КРК 110-1	Товарная рыба (прудовой карп)
КРК 111	Сеголетки, молодь, производители (карп, выращиваемый в тепловодных хозяйствах)
КРК 111-1	Товарная рыба (карп, выращиваемый в тепловодных хозяйствах)
КРО 112	Сеголетки, молодь, производители ценных видов рыб (осетровые, лососевые)
КРЦ 112-1	Товарная рыба ценных видов (осетровые, лососевые)
Прочие животные	
ЛБК 120-129	Лабораторные животные
ККЖ 130	Комнатные животные
СБПК 130-1	Собаки
ОСК 160	Северные олени

Составление рационов, а в некоторых случаях и режима кормления является необходимостью современной практики разведения лабораторных животных так же, как и контроль состава корма (химического и микробиологического). Ниже списком даны основные нормативные документы по контролю качества кормов.

- ГОСТ 12.1.005–88 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны.
- ГОСТ 12.2.003–91 Система стандартов безопасности труда. Оборудование производственное. Общие требования безопасности.
- ГОСТ 10444.15–94 Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов.
- ГОСТ 13496.1–98 Комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения содержания натрия и хлорида натрия.
- ГОСТ 13496.3–92 (ИСО 6496–83) Комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения влаги.
- ГОСТ 13496.4–93 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения содержания азота и сырого протеина.
- ГОСТ 13496.9–96 Комбикорма. Методы определения металломагнитной примеси.
- ГОСТ 13496.13–75 Комбикорма. Методы определения запаха, зараженности вредителями хлебных запасов.
- ГОСТ 13496.15–97 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения содержания сырого жира.
- ГОСТ 13496.19–93 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения содержания нитратов и нитритов.
- ГОСТ 13496.20–87 Комбикорма, комбикормовое сырье. Метод определения остаточных количеств пестицидов.
- ГОСТ 13496.21–87 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения лизина и триптофана.
- ГОСТ 13496.22–90 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Метод определения цистина и метионина.
- ГОСТ 14192–96 Маркировка грузов.
- ГОСТ 23042–86 Мясо и мясные продукты. Методы определения жира.
- ГОСТ 26226–95 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения сырой золы.
- ГОСТ 26570–95 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения кальция.
- ГОСТ 26657–97 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения содержания фосфора.
- ГОСТ 26927–86 Сырье и продукты пищевые. Методы определения ртути.
- ГОСТ 26929–94 Сырье и продукты пищевые. Подготовка проб. Минерализация для определения содержания токсичных элементов.

- ГОСТ 26930–86 Сырье и продукты пищевые. Метод определения мышьяка.
- ГОСТ 26931–86 Сырье и продукты пищевые. Методы определения меди.
- ГОСТ 26932–86 Сырье и продукты пищевые. Методы определения свинца.
- ГОСТ 26933–86 Сырье и продукты пищевые. Методы определения кадмия.
- ГОСТ 26934–86 Сырье и продукты пищевые. Методы определения цинка.
- ГОСТ 28901–91 (ИСО 6490-2-83) Корма для животных. Определение содержания кальция методом атомно-абсорбционной спектроскопии.
- ГОСТ 29299–92 Мясо и мясные продукты. Метод определения нитрита.
- ГОСТ 30425–97 Консервы. Метод определения промышленной стерильности.
- ГОСТ 30503–97 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Пламенно-фотометрический метод определения натрия.
- ГОСТ 30692–2000 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Атомно-абсорбционный метод определения содержания меди, свинца, цинка и кадмия.
- ГОСТ 31480–2012 Комбикорма, комбикормовое сырье. Определение содержания аминокислот (лизина, метионина, треонина, цистина и триптофана) методом капиллярного электрофореза.
- ГОСТ 31481–2012 Комбикорма, комбикормовое сырье. Метод определения остаточных количеств хлорорганических пестицидов.
- ГОСТ 31484–2012 Комбикорма, белково-витаминно-минеральные концентраты, премиксы. Методы определения металломагнитной примеси.
- ГОСТ 31640–2012 Корма. Методы определения содержания сухого вещества.
- ГОСТ 31650–2012 Средства лекарственные для животных, корма, кормовые добавки. Определение массовой доли ртути методом атомно-абсорбционной спектроскопии.
- ГОСТ 31653–2012 Корма. Иммуноферментный метод определения микотоксинов.
- ГОСТ 31674–2012 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения общей токсичности.
- ГОСТ 31675–2012 Корма. Методы определения содержания сырой клетчатки с применением промежуточной фильтрации.
- ГОСТ 31878–2012 Корма для животных. Метод обнаружения и подсчета бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий). Метод наиболее вероятного числа.
- ГОСТ 32008–2012 (ISO 937:1978) Мясо и мясные продукты. Определение содержания азота (арбитражный метод).
- ГОСТ 32040–2012 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Метод определения содержания сырого протеина, сырой клетчатки, сырого жира и влаги с применением спектроскопии в ближней инфракрасной области.
- ГОСТ 32041–2012 Комбикорма, комбикормовое сырье. Метод определения содержания сырой золы, кальция и фосфора с применением спектроскопии в ближней инфракрасной области.

- ГОСТ 32161–2013 Продукты пищевые. Метод определения содержания цезия Cs 137.
- ГОСТ 32163–2013 Продукты пищевые. Метод определения содержания стронция Sr 90.
- ГОСТ Р ИСО 6497–2011 Корма для животных. Отбор проб.
- ГОСТ Р 12.1.019–2009 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты.
- ГОСТ Р 50454–92 (ИСО 3811–79) Мясо и мясные продукты. Обнаружение и учет предполагаемых колиформных бактерий и *Escherichia coli* (арбитражный метод).
- ГОСТ Р 50455–92 (ИСО 3365–75) Мясо и мясные продукты. Обнаружение сальмонелл (арбитражный метод).
- ГОСТ Р 51289–99 Ящики полимерные многооборотные. Общие технические условия.
- ГОСТ Р 51301–99 Продукты пищевые и продовольственное сырье. Инверсионно-вольтамперометрические методы определения содержания токсичных элементов (кадмия, свинца, меди, цинка).
- ГОСТ Р 51417–99 (ИСО 5983–97) Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Определение массовой доли азота и вычисление массовой доли сырого протеина. Метод Къельдаля.
- ГОСТ Р 51418–99 (ИСО 5985–78) Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения массовой доли золы, не растворимой в соляной кислоте.
- ГОСТ Р 51419–99 (ИСО 6498–98) Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Подготовка испытуемых проб.
- ГОСТ Р 51420–99 (ИСО 6491–99) Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Спектрометрический метод определения массовой доли фосфора.

В продолжение темы влияния состава кормов и режима кормления с докладом [«Сравнение влияния стандартных лабораторных диет и натуральных кормов на морфологические и функциональные характеристики мышей»](#)⁸ выступил ведущий научный сотрудник лаборатории сравнительной физиологии высшей нервной деятельности животных МГУ им. М.В. Ломоносова Максим Львович Ловать. Лектор доложил о результатах сравнения стандартных сухих кормов, имеющих международную сертификацию («Mucedola», «Altromin», «SSNIFF»), с имеющимися внутренними сертификатами кормами («Лабораторкорм», «Чара», «Тосно»), а также с натуральными диетами (с животными и растительными компонентами либо только с растительными компонентами), на отдельные физиологические параметры и ультраструктуру клеток печени различных лабораторных мышей.

В предыдущих исследованиях было установлено, что ультраструктура клеток печени мышей контрольных групп, изученных в фармакологических исследова-

⁸ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/lovat-ml.pdf>

ниях, значительно отличалась от «классических», считающихся присущими здоровым животным. Так, наблюдались немембранные аморфные включения, занимавшие до трети цитоплазмы, при полном отсутствии гранул гликогена. По данным литературы, такие изменения характерны для жирового перерождения печени при избытке сахаров или жиров в пище у животных. В настоящем исследовании был проведен поиск факторов, способных вызывать данные изменения. Изучалось влияние качества животных (Конвенциональные/SPF), генотипа (линия/сток: C57Bl/6, гибриды: F1 C57Bl/6/CBA, сток CD1), происхождения (питомник Charles River/ИЦИГ/собственное разведение), вида корма (стандартный гранулированный различных производителей/смесь натуральных ингредиентов), а также степени сытости животных на момент проведения эвтаназии (сытые/лишенные корма за 12 ч до эвтаназии). Исследование ультраструктуры гепатоцитов печени, проведенное методом трансмиссионной электронной микроскопии, показало, что вне зависимости от микробиологического статуса, линии мышей или вида стандартного корма изменения структуры гепатоцитов присутствуют во всех исследованных образцах. При этом у мышей, содержащихся в конвенциональных вивариях, а также потребляющих диеты отечественных производителей, не имеющих стандартизации по исходным продуктам, дополнительно развивается набухание митохондрий (что считается признаком интоксикации), наблюдаются замедление набора массы тела и некоторые изменения в поведении в тесте «Открытое поле». В то же время кормление смесью из натуральных ингредиентов, особенно не содержащих продукты животного происхождения, значительно уменьшало объем аморфных включений. Лишение данной группы мышей корма за 12 ч до эвтаназии (входившее в стандартный протокол исследований большинства экспериментов прошлого века) приводило к полному соответствию структур гепатоцитов с «классическими» изображениями. Исследование набора массы тела показало, что несмотря на более медленную динамику, к 2-месячному возрасту различия в массе мышей, потреблявших сухой и натуральный корм, исчезают. Лишение мышей корма за 12 ч перед эвтаназией при кормлении стандартными сухими кормами либо замена их на менее калорийный транспортировочный гель не приводили к восстановлению ультраструктуры клеток печени, хотя и уменьшали степень выраженности отклонений.

Таким образом, докладчик предполагает, что питание сухими сертифицированными смесями при свободном круглосуточном доступе может не являться оптимальным для лабораторных мышей. Использование сухих кормов, не имеющих точного описания входящих в них ингредиентов, может вызывать у животных существенные изменения в ультраструктуре гепатоцитов, отражающие развитие патологических процессов в организме (В.Б. Вайс и др., 2020).

Обогащение среды

Продолжая тему зоотехнического обеспечения лабораторных животных с докладом [«Критерии выбора среды обогащения для лабораторных животных»](#)⁹

⁹ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/akimova-ma.pdf>

Таблица 40

Варианты среды обогащения для грызунов

Категория среды обогащения	Вид животного/ предоставляемая среда обогащения				
	Мыши	Крысы	Сирийские хомячки	Песчанки	Морские свинки
Социальная	Содержание в гармоничных группах. Приручение, хендлинг, осуществляемый персоналом при выполнении процедур				
Пищевая	Минеральный камень	Морковь; минеральный камень	Морковь сушеная; минеральный камень	Банан; минеральный камень	
Сенсорная	Визуальный, слуховой контакт с сородичами в соседних клетках/боксах/вольерах				
Физическая	Тоннель пластиковый, бумажный стаканчик, вата		Бумажный стаканчик, вата; песок для купания	—	

выступила главный зоотехник АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» Мария Александровна Акимова. Под средой обогащения (СО) стоит понимать изменения в условиях жизни животных, связанные с разного рода дополнениями и усложнениями, цель которых — повысить уровень благополучия животных. В докладе представлены варианты СО для грызунов и негрызунов, а также критерии ее выбора. Лектор выделяет четыре основных вида СО: социальный, физический, пищевой и сенсорный. При этом возможно предоставление одного объекта, который в разных ситуациях может являться смешанным типом, на стыке двух или трех категорий, так, например, физическая СО в виде трубки, если мы предложим ее мышке, будет домиком, а если положим в нее лакомство и закроем крышками, то уже не только физической, но и пищевой. В табл. 40, 41 предложены варианты СО для различных видов животных.

Хочется отметить, что благополучие лабораторных животных вопрос весьма многосторонний, от момента рождения до момента вывода животных из эксперимента они не должны испытывать боль и страдание, им должны быть доступны ресурсы для питания, реализации поведенческих инстинктов. Для решения этих вопросов от испытательного центра требуется внимательный подход ко всем процессам, оборудованию, инженерным системам. Необходимо отработать действия в непредвиденных или чрезвычайных ситуациях. Реализация такого подхода, несомненно, положительно скажется не только на здоровье животных, но и на качестве экспериментальных работ.

Таблица 41

Варианты среды обогащения для негрызунов

Категория среды обогащения	Вид животного/предоставляемая среда обогащения							
	Кролики	Карликовые свиньи	Хорьки	Кошки	Собаки	Макаки	Игрунки	
Социальная	Содержание в гармоничных группах. Приручение, хендлинг, осуществляемый персоналом при выполнении процедур					Выгул, дрессура, содержание гармоничными группами	Ветеринарный тренинг, содержание гармоничными группами	Содержание гармоничными группами
Пищевая	Банан; минеральный камень	Замороженные в воде овощи и фрукты (игрушка ледышка), яблоки, морковь	—	Промышленные лакомства для кошек	Морковь; предметы с закладкой корма; промышленные лакомства	Предметы с закладкой корма; фрукты	Предметы с закладкой корма; дополнительные фрукты	
Сенсорная	Визуальный, слуховой контакт с сородичами в соседних клетках/боксах/вольерах					Просмотр и прослушивание видеоконтента. Визуальный, слуховой, тактильный контакт с сородичами в соседних клетках		
Физическая	Приподнятая площадка	Мяч	Гамак, труба ПВХ	Различные типы промышленных игрушек для животных	Палка, предметы для апорта	Гамак, трубы ПВХ, лестница веревочная, таз с водой или солью	Трубы ПВХ, лестница, корзинки, погремушки	

Развитие науки о лабораторных животных позволит на государственном уровне поднять престиж России как страны, в которой идеи гуманизма находятся на первом месте, и выполняется «хорошая наука».

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Макарова М.Н., Макаров В.Г. Альтернативные методы оценки токсичности в рамках этической экспертизы. Обзор // Лабораторные животные для научных исследований. 2022. № 1. С. 1–22. DOI: [10.29296/2618723X-2022-01-07](https://doi.org/10.29296/2618723X-2022-01-07).
2. Макарова М.Н., Матичин А.А., Матичина А.А., Макаров В.Г. Принципы выбора животных для научных исследований. Сообщение 1. Выбор модельных организмов на основании филогенетических связей // Лабораторные животные для научных исследований. 2022. № 2. С. 1–13. DOI: [10.29296/2618723X-2022-02-07](https://doi.org/10.29296/2618723X-2022-02-07).
3. Добрянская С.С., Акимов Д.Ю., Акимова М.А., Хан С.О. Входной контроль лабораторных животных от аудита поставщика до передачи в эксперимент // Лабораторные животные для научных исследований. 2022. № 3. DOI: [10.57034/2618723X-2022-03-04](https://doi.org/10.57034/2618723X-2022-03-04).
4. Вайс В.Б., Вангели И.М., Аверина О.А., Ловать М.Л., Бакеева Л.Е. Ультраструктура гепатоцитов лабораторных мышей при содержании животных на стандартной сухой лабораторной диете // Биохимия. 2020. Т. 85. № 9. С. 1294–1304. DOI: [10.31857/S0320972520090092](https://doi.org/10.31857/S0320972520090092). EDN ZKAIKL.

Технологические процессы в доклинических исследованиях. Риск-ориентированный подход

<https://doi.org/10.57034/978-5-6048955-0-4-s7>

В.А. Березкин¹, Е.Д. Бондарева¹, С.С. Добрянская¹, А.В. Караваева², С.О. Хан¹, С.В. Ходько¹

¹ АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»,

² ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России

При проведении доклинических исследований важным элементом работы являются технологические процессы, отлаженность и взаимосвязь которых позволяют получать качественные результаты в рутинной и экспериментальной практике и избегать внештатных ситуаций. Технологический процесс — это система взаимосвязанных действий, выполняющихся с момента возникновения исходных данных до получения нужного результата. Большинство технологических процессов в доклинических исследованиях можно условно разделить на деятельность, обеспечивающую жизнь животных, — процессы кормления, поения, обогащения среды и иные, деятельность, связанную с ветеринарным обслуживанием животных и предоставлением здорового поголовья для экспериментальных исследований, и деятельность, непосредственно связанную с научно-исследовательской работой.

К обеспечивающим процессам в доклинической практике относится ветеринарное и зоотехническое обслуживание. Получение здорового поголовья животных можно достичь двумя способами — воспроизводить поголовье собственного питомника или заказывать животных у сторонних поставщиков. С последним приходится часто сталкиваться в условиях доклинических исследований, и здесь значительную роль играет обеспечение грамотного входного контроля поступающих животных. Данную тему осветила ветеринарный врач АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» Софья Сергеевна Добрянская в рамках своего доклада [«Входной контроль лабораторных животных от аудита поставщика до передачи в эксперимент»](#)¹. Софья Сергеевна рассмотрела и обосновала последовательность и взаимосвязь действий, ведущих к получению животных необходимого качества, включающих

¹ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/dobryanskaya-ss.pdf>

аудит поставщика, прием и караннизацию лабораторных животных, выявление их клинического статуса, проведение лечебно-профилактических мероприятий и лабораторной диагностики.

Для обеспечения достойного уровня жизни и качества лабораторных животных несомненную значимость имеют процессы зоотехнического обслуживания. От кормления, поения, замены подстила, условий содержания, среды обогащения напрямую зависят здоровье животных, а следовательно, и результаты НИР. Так, процесс кормления должен быть отрегулирован по временным промежуткам, кратности, количественным и качественным показателям. Главенствующую роль в этом процессе занимает составление рациона для кормления животных с учетом их видовых особенностей, так как значительные сдвиги различных макро- и микроэлементов, аминокислот, витаминов, их несбалансированность могут приводить к метаболическим нарушениям и необратимым изменениям в организме животных. Влияние кормления на здоровье лабораторных животных описано в работе М. David и соавт. (2020). Авторы осветили значение макро- и микронутриентов в кормлении лабораторных животных, а также возможные последствия, связанные с несбалансированностью рациона. В свою очередь сотрудниками National Research Council (US) Subcommittee on Laboratory Animal Nutrition были разработаны рекомендации по кормлению лабораторных животных с учетом потребностей каждого вида в различных питательных веществах, минералах и витаминах. Данные рекомендации были изложены в *Nutrient Requirements of Laboratory Animals: Fourth Revised Edition* (1995). Работы, связанные с поиском оптимальных рационов и способов кормления животных, продолжаются. Так, в недавней публикации [«Особенности формирования рационов и режима кормления игрунки обыкновенной в условиях исследовательской лаборатории»](#)² (Веснина Е.В., Акимова М.А. и др., 2022), детализированы особенности кормления игрунок обыкновенных.

Еще один процесс в обслуживании животных, важность которого невозможно переоценить, — поение. Эту тему подняла руководитель группы биобезопасности АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» Евгения Дмитриевна Бондарева в своем докладе [«Поение лабораторных животных. Техническое обеспечение. Обеспечение благополучия и здоровья лабораторных животных»](#)³. Она рассмотрела такие важные аспекты, как требования, предъявляемые к качеству воды для поения животных (табл. 1), тактика выбора поилок и особенности их дезинфекции, а также предложила решать проблему недостатка витамина С в рационе морских свинок с помощью добавления аскорбиновой кислоты в воду для поения. Евгения Дмитриевна рассказала об исследовании, касающемся поиска рабочих концентраций витамина С, которые позволят покрыть потребность морских свинок в данном витамине, и нюансов приготовления, хранения и использования раствора аскорбиновой кислоты в питьевой воде (табл. 2, 3) (Бондарева Е.Д. и др., 2022). Помимо вышесказанного, вопросы поддержания чистоты, асептики, антисептики помещений, оборудования, инвентаря подняла старший научный сотрудник ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России Анна Владимировна Караваева в своем докладе

² <https://labanimalsjournal.ru/index.php/ru/2618723x-2022-01-06>

³ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/bondareva-ed.pdf>

Таблица 1

Основные нормативные показатели питьевой воды
(СанПин 2.1.3684–21)

Показатели	Единицы измерения	Норматив
Термотолерантные колиформные бактерии	Число бактерий в 100 мл	Отсутствие
Общие колиформные бактерии	Число бактерий в 100 мл	Отсутствие
Общее микробное число	Число образующих колоний бактерий в 1 мл	Не более 50
Колифаги	Число бляшкообразующих единиц (БОЕ) в 100 мл	Отсутствие
Споры сульфитредуцирующих клостридий	Число спор в 20 мл	Отсутствие
Цисты лямблий	Число цист в 50 л	Отсутствие
Водородный показатель	Единицы рН	6–9
Жесткость общая	°Ж	7,0
Окисляемость перманганатная	мг/л	5,0
АПАВ (анионные поверхностно-активные вещества)	мг/л	0,5
Железо	мг/л	0,3
Марганец	мг/л	0,1
Алюминий	мг/л	0,52
Ртуть	мг/л	0,0005
Цинк	мг/л	5,0
Запах	Баллы	2
Привкус	Баллы	2
Цветность	Градусы	20
Мутность	ЕМФ	2,6

«Асептика, антисептика, стерилизация в условиях экспериментально-биологических клиник»⁴

Не стоит забывать и об обогащении среды для животных. На первый взгляд, этот элемент жизни животных может показаться менее значительным, чем остальные, однако это большое заблуждение. Согласно Директиве Европейского парламента

⁴ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/karavaeva-av.pdf>

Таблица 2

Суммарное потребление витамина С в концентрации 0,22 мг/мл в сутки
при потреблении 150 мл воды на голову

Время от момента приготовления, часы	Остаточное содержание, %	Концентрация, мг/мл	Потребленный объем, мл	Потребленная концентрация витамина С, мг/мл
0	100	0,22	12,5	2,75
2	73,2	0,16	12,5	2,0
4	63,0	0,14	12,5	1,7
6	58,2	0,13	12,5	1,6
8	45,4	0,1	12,5	1,2
10, 12, 14, 16, 20, 22	—	0,06–0,1	75	4,5–7,5
24	26,7	0,06	12,5	0,75
Диапазон потребления витамина С в сутки, мг/мл				14,5–17,5

Таблица 3

Суммарное потребление витамина С в концентрации в 0,44 мг/мл в сутки
при потреблении 150 мл воды на голову

Время от момента приготовления, часы	Остаточное содержание, %	Концентрация, мг/мл	Потребленный объем, мл	Потребленная концентрация витамина С, мг/мл
0	100	0,44	12,5	5,5
2	63,5	0,28	12,5	3,5
4	49,0	0,22	12,5	2,7
6	58,8	0,26	12,5	3,3
8	40,7	0,17	12,5	2,2
10, 12, 14, 16, 20, 22	—	0,12–0,17	75	9–12,75
24	28,2	0,12	12,5	1,5
Диапазон потребления витамина С в сутки, мг/мл				27,7–31,5

и Совета Европейского союза 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г. о защите животных, используемых для научных целей, каждое животное независимо от вида, размера и когнитивных способностей имеет право на проявление естественных поведенческих функций, а следовательно, и на обогащение среды. Тактика применения различных вариантов обогащения среды для животных рассмотрена в работе М.А. Bloomsmith и соавт. (2018), примеры обогащения предложены С.К. Lutz (2005) и В. Vaumans (2005).

Все вышеописанные процессы являются общими как для ведения НИР, так и обеспечения жизни животных вне экспериментальной деятельности, однако, как ранее было отмечено, есть процессы, реализующиеся непосредственно только в научно-исследовательской работе. В этой деятельности имеются уязвимые места, о которых рассказала руководитель службы качества АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» Светлана Владимировна Ходько в своем докладе [«Критические фазы доклинических исследований»](#)⁵. Она обозначила процедуры и виды деятельности, требующие более пристального контроля в большинстве доклинических исследований, критерии и методику их оценки, способы воздействия и предотвращения рисков, указала на категории рисков (Ходько С.В. и др., 2021). Было выделено 11 фаз, причем все они являются ступенями одного технологического процесса — ведения экспериментальной работы с лабораторными животными, в этот перечень вошли следующие фазы.

1. Формирование экспериментальных групп — рандомизация или стратификация — должно происходить по методике, предусмотренной стандартной операционной процедурой испытательной площадки, а обязательным условием данного этапа является отсутствие предпочтений конкретных животных у исследователя. Рандомизация представляет собой процесс случайного распределения объектов в группы с целью исключить всякую необъективность и связанное с ней вероятное смещение оценки. Стратификация является методом формирования выборки, при котором совокупность всех участников, соответствующих критериям включения в исследование, сначала разделяется на группы (страты) на основе одной или нескольких характеристик (обычно масса тела), потенциально влияющих на изучаемый исход, а затем из каждой этой группы (страты) независимо проводится набор участников в экспериментальную и контрольную группы.
2. Регистрация массы тела животных является этапом с приемлемым риском, однако от него зависит дальнейший расчет доз введения исследуемых объектов.
3. Приготовление готовых доз и введение исследуемых объектов — этапы, имеющие значительный риск, неверное их выполнение может привести к критическим последствиям. Также важным моментом с точки зрения гуманности на данных этапах является соблюдение объемов введения готовых лекарственных форм для каждого вида животных. Данные объемы не должны причинять боли, дистресса и страдания животным (табл. 4–13) (Макаренко И.Е. и др., 2013, а также Рыбакова А.В. и др., 2018).
4. Клинический осмотр и наблюдение — манипуляции, направленные на выявление статуса животного, качественное их выполнение, дают информацию, позволяющую оценить действие исследуемых объектов, а также выявить дальнейшую судьбу животного в рамках эксперимента. Наиболее объективной оценкой клинического статуса животного является балльная система, так как грамотно продуманные критерии оценки и присвоение баллов каждому критерию позволяют проследивать состояние животного не в качественном, а в количественном формате, а это в свою очередь дает воз-

⁵ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/hodko-sv.pdf>

Таблица 4

Рекомендованный и максимальный объемы для перорального и внутривенного введения исследуемых объектов лабораторным животным

Вид животного	Рекомендованный объем, мл/кг	Максимальный объем, мл/кг
Мыши	10	40*
Крысы	10	20**
Дегу	10	20**
Песчанки	10	20**
Хомяки	10	20**
Морские свинки	10	30
Кролики	1	20***
Хорьки	10	15
Карликовые свиньи	10	15
Собаки	5	20
Кошки	10	15
Нечеловекообразные приматы	5	10

*Примечания. Для введения большего объема доза может быть разделена: * например, 20 мл/кг вводят 4 раза в сутки, чтобы достичь в общей сложности 80 мл/кг; ** например, 10 мл/кг вводят 4 раза в день, чтобы достичь в общей сложности 40 мл/кг в течение 24-часового периода. *** Кроликам вводят исследуемый объект до утренней раздачи корма.*

возможность вовремя заметить ухудшение состояния животного и предпринять необходимые меры — вывод из эксперимента, предоставление ветеринарной помощи или эвтаназия в качестве гуманной точки.

5. Постановка физиологических тестов — этап, также имеющий значительный риск в ходе эксперимента, данные, получаемые при проведении физиологических тестов, позволяют оценить параметры состояния животного, которые невозможно или трудно учесть при обычном клиническом осмотре.
6. Сбор и передача образцов биоматериала, работа с образцами биоматериала в смежных подразделениях. Сбор образцов биоматериала — одна из фаз, имеющая значительный риск при неверном ее выполнении. Наиболее частым биоматериалом, получаемым от животных в рамках эксперимента, является кровь. Объемы крови, допустимые для отбора у каждого вида животных, также регламентированы, а процесс отбора не должен причинять животному дистресс и боль (табл. 14, 15). Превышение этих объемов может привести к гиповолемическому шоку, анемии животного и критично сказаться на его

Таблица 5

Рекомендованные объемы для внутримышечного введения препаратов лабораторным животным

Вид животного	Рекомендованный объем, мл/кг	Максимальный разовый объем на один участок введения, мл/участок	Размер иглы, G
Мыши	2–4	0,05*	≤23
Крысы	0,5–10**	0,2***	≤23
Песчанки	2–4	0,2***	≤23
Хомяки	0,5–1	0,2***	≤23
Дегу	2–4	0,2***	≤23
Морские свинки	0,5–2	0,25***	≤22
Кролики	0,25–0,5	0,5****	≤20
Хорьки	0,25–1	0,5****	≤21
Карликовые свиньи	0,25–0,5	5,0*****	≤20
Собаки	0,1–1	3*****	≤21
Кошки	0,25–1	0,5****	≤21

Примечание. * Допускается использовать при разделении на несколько участков и чередовании лап, максимум 5 участков на лапу (суммарный объем не должен превышать 0,25 мл на лапу); ** допускается введение до 20 мл/кг при разделении на несколько участков; *** допускается использовать при разделении на несколько участков и чередовании лап, максимум 2 участка на лапу (суммарный объем не должен превышать 0,5 мл на лапу); **** допускается использовать при разделении на несколько участков и чередовании лап, максимум 2 участка на лапу (суммарный объем не должен превышать 1,0 мл на лапу); ***** допускается 1 участок на каждую заднюю лапу, 2 участка на шею (суммарный объем не должен превышать 20 мл); ***** допускается 2 участка на каждую из задних лап и 1 участок на каждую переднюю лапу.

Таблица 6

Рекомендованный объем для внутрибрюшинного введения исследуемых объектов лабораторным животным

Вид животного	Рекомендованный объем, мл/кг	Размер иглы, G
Мыши	20–80	≤23
Крысы	10–20	≤23
Песчанки	20–80	≤2
Хомяки	10–20	≤23
Дегу	10–20	≤23
Морские свинки	10–20	≤22
Кролики	5–20	≤20
Хорьки	5–20	≤21
Карликовые свиньи	1–10	≤20
Собаки	1–20	≤21
Кошки	5–20	≤21

Таблица 7

Рекомендованный объем для внутривенного введения лабораторным животным

Вид животного	Рекомендованный объем, мл/кг					Размер иглы, G
	Струйно		Инфузия			
	Быстро	Медленно	Объем, мл/кг	Рекомендованная скорость, мл/мин	Максимальная скорость, мл/мин	
Мыши	5	25	50	1	2–4	≤25
Крысы	1–5	20	50	1	2–4	≤23
Песчанки	5	20	50	1	2–4	≤23
Хомяки	5	20	50	1	2–4	≤25
Морские свинки	1	5	10	1	2–4	≤23
Кролики	2	10	20	1	2–4	≤21
Хорьки	2–5	10	20	1	2–4	≤23
Карликовые свиньи	2,5	10	10	1	5	≤20
Собаки	1–5	10	20	5	5	≤23
Кошки	5	10	20	1	5	≤23

Таблица 8

Рекомендованный объем для подкожного введения препаратов лабораторным животным

Вид животного	Рекомендованный объем, мл/кг	Размер иглы, G
Мыши	10–20 (40) *	≤23
Крысы	5–10 (20) *	≤23
Песчанки	10–20 (40) *	≤23
Хомяки	5–10 (20) *	≤23
Дегу	5–10 (20) *	≤23
Морские свинки	5–10 (20) *	≤22
Кролики	1–2,5 (15) *	≤20
Хорьки	10–20	≤21
Карликовые свиньи	1 (3) *	≤20
Собаки	1 (2) *	≤21
Кошки	1 (3) *	≤21

Примечание. * Максимальный объем требуется разделить на 2–3 участка введения.

Таблица 9

Рекомендованный объем внутрисуставного введения
в зависимости от вида животного и выбранного сустава

Вид животного	Место введения	Объем, мл/сустав
Крысы	Коленный сустав	0,1
	Предплюсневой сустав	0,05
Кролики	Коленный сустав	0,5
Собаки	Коленный сустав	1,0

Таблица 10

Рекомендованный объем
интравагинального введения
половозрелым особям

Вид животного	Объем, мл
Мыши	0,02
Крысы	0,35
Песчанки	Нет данных
Хомяки	Нет данных
Дегу	Нет данных
Морские свинки	Нет данных
Кролики	2,0
Хорьки	Нет данных
Карликовые свиньи	1–5
Собаки	2,0
Кошки	Нет данных

Таблица 11

Объем введения
в конъюнктивный мешок
разным видам животных

Вид животного	Объем, мкл
Мыши	5
Песчанки	5
Крысы	30
Дегу	30
Хомяки	5
Морские свинки	30
Кролики	50
Хорьки	30
Карликовые свиньи	50
Собаки	50
Кошки	50

Таблица 12

Рекомендованный объем для интравитреального введения

Вид животного	Объем, мкл/глаз
Мыши	2
Крысы	5
Кролики	100
Собаки	100
Нечеловекообразные обезьяны	50

Таблица 13

Рекомендованный объем для интраназального введения исследуемых объектов лабораторным животным

Вид животного	Объем введения в одну ноздрю, мкл
Мыши, песчанки, хомяки	25
Крысы	50
Дегу	75
Морские свинки	100
Кролики	200
Хорьки	150
Карликовые свиньи	1000
Собаки	500
Кошки	200
Нечеловекообразные обезьяны	200

Таблица 14

Общий циркулирующий объем крови у разных видов животных

Вид животного	ОЦК, мл/кг
Мыши	75
Крысы	65
Песчанки	75
Дегу	70
Хомяки	80
Морские свинки	70
Кролики	55
Хорьки	60

общем состоянии, поэтому крайне важно соблюдать рекомендации по допустимым объемам.

Тему отбора крови осветил ветеринарный врач АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» Владислав Александрович Березкин в своем докладе [«Подходы к взятию крови у лабораторных карликовых свиней»](#)⁶. Автор рассказал о различных техниках сбора крови у данного вида животных из ушной, хвостовой и яремной вен, а также рассмотрел методику катетеризации центральных вен. Отметил плюсы и минусы каж-

⁶ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/berezkin-va.pdf>

Таблица 15

Кратность забора и количество крови, которое можно забирать у лабораторных животных

Однократный забор крови (токсикологические и специфические исследования)		
% от объема циркулирующей крови	Период восстановления, нед	Необходимость восполнения
7,5	1	–
10	2	–
15	4	+
Многократный забор крови (фармакокинетика и биоэквивалентность)		
% от объема циркулирующей крови в течение 24 ч	Период восстановления, нед	Необходимость восполнения
7,5	1	–
10–15	2	До 15% –/более 15% +
20	3	+

Таблица 16

Сравнение методов отбора крови у карликовых свиней

Место отбора	Простота метода	Экономичность	Наркотизация	Влияние стресса	Возможность кровотечения
Ушная вена	Простой	Да	Нет	Нет	Нет
Хвостовая вена	Средний	Да	Нет	Нет	Нет
Яремная вена	Средний	Да	Нет	Нет	Да
Катетеризация центральных сосудов по методу Сельдингера	Трудный	Да*	Да	Нет	Нет

Примечание. * При ежедневном отборе крови не требуется дополнительного расходного материала.

дого из способов получения крови, а также возможные риски, связанные с данным процессом (табл. 16).

Также на базе АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» были отработаны два альтернативных способа получения образцов крови у кроликов — из ушной вены с помощью луер-адаптера и из яремной вены. По данным способам был проведен сравнительный анализ и отмечены удобства этих способов, риски для животных, влияние данных способов на показатели крови и возможность их применения в рамках НИР (табл. 17).

Таблица 17

Сравнительная характеристика методов отбора крови из вены уха с помощью луер-адаптера (способ 1) и яремной вены (способ 2)

Способ 1		Способ 2	
Плюсы	Минусы	Плюсы	Минусы
Скорость сбора крови на первых точках высока	Скорость сбора крови снижается на последних точках до 4,5 мин	Скорость сбора крови высокая на всех точках 99–163 с (1,7–2,7 мин)	—
Точность попадания в сосуд высокая	—	—	Точность попадания в сосуд низкая
Уровень стресса невысокий	—	—	Уровень стресса высокий
Вероятность осложнений невысокая	—	—	Вероятность осложнений высокая
Удобство и чистота метода для персонала	—	—	Требуется 2 человека, необходимы выбривание, физическая сила
Качество получаемого биоматериала сравнимо с капельным методом сбора крови	—	—	Кровь агглютинировала в пробах на общий клинический анализ, уровень креатининкиназы увеличивается на 41,5%

Примечание. Прочерк — отсутствие минуса или плюса при использовании метода.

Помимо крови, у животных могут отбираться и иные биоматериалы — моча, асцитная, синовиальная, спинно-мозговая жидкости, плевральные и брюшные выпоты, содержимое кист и др. Процессы сбора иных биообразцов были рассмотрены лаборантом-исследователем АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» Станиславом Олеговичем Ханом в докладе [«Витальные методы исследования как промежуточные точки в доклинических испытаниях на модели карликовых свиней»](#)⁷. Автор рассказал о методиках сбора биологических жидкостей — мочи, желудочного сока, желчи у данного вида животных. Так, метод центеза мочевого и желчного пузырей был предложен для отбора мочи и желчи соответственно под контролем УЗИ, а методика отбора биологической жидкости с помощью гастрального зонда — для получения желудочного сока. Данные методики при правильном выполнении являются достаточно информативными и малотрудозатратными (Акимов Д.Ю. и др., 2021).

7. Индукция патологии. Важнейший этап исследования при оценке специфической фармакологической активности исследуемых объектов. От правильности формирования экспериментальной патологии целиком и полностью зависит возможность оценить фармакологический эффект препарата.
8. Проведение эвтаназии является одним из ключевых этапов в ходе НИР, а также может рассматриваться как вариант конечной гуманной точки для животных. Процесс эвтаназии должен проводиться с наименьшим причинением страдания, боли и дистресса животным. Способы эвтаназии также должны соответствовать виду и возрасту животного, а приемлемые варианты предложены в Директиве Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г. о защите животных, используемых для научных целей, и в Руководстве по эвтаназии животных AVMA (Американская ассоциация ветеринарной медицины, 2020) (табл. 18–22).

Зачастую эвтаназия животных требуется для получения от них органов и гистологических материалов, однако ткани органов можно получать не только посредством умерщвления животных, но и витальными методами. Эти вопросы также осветил С.О. Хан, рассказав о способах получения биоптатов различных органов и тканей, оценил возможность проведения данных манипуляций, их результативность, потенциальные последствия от процедур и применимость данных методик в рамках НИР (табл. 23). Помимо этого, автор сообщил об использовании ультразвукового исследования внутренних органов у карликовых свиней и оценил результативность и применимость данного исследования для данного вида животных (Акимов Д.Ю. и др., 2021).

Хочется отметить, что все технологические процессы имеют взаимосвязь и оказывают прямое или косвенное влияние на ход доклинических исследований и жизнь лабораторных животных, а отлаженность и своевременный контроль процессов позволяют вести непрерывную и успешную деятельность

⁷ <https://conf-glp-planet.com/wp-content/uploads/2022/07/han-so.pdf>

Таблица 18

Методы эвтаназии

Метод	Рыбы	Амфибии	Рептилии	Птицы	Грызуны	Кролики	Кошки, собаки, хорьки и лисы	Крупные млекопитающие	Нечеловекообразные приматы
Передозировка анестетиков	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Пневматическое ружье			2						
Диоксид углерода					3				
Смещение шейных позвонков				4	5	6			
Сотрясение мозга/удар по голове				7	8	9	10		
Обезглавливание				11	12				
Электрический разряд	13	13		13		13	13	13	
Инертные газы (Ar, N ₂)									
Отстрел пулями из надлежащих винтовок, другого оружия и боеприпасов			15				16	14	15

Примечание. Закрашенные прямоугольники — метод эвтаназии для данного вида животных запрещен.

Цифры указывают приемлемый метод эвтаназии: 1 — если требуется, необходимо предварительно использовать седативные средства; 2 — применяется только для больших рептилий; 3 — применяется только в случае постепенного заполнения камеры диоксидом углерода, не используется для плода и новорожденных грызунов; 4 — применяется только для птиц массой тела до 1 кг, птицам массой более 250 г предварительно дается седативное средство; 5 — применяется только для грызунов массой до 1 кг, грызунам массой более 150 г предварительно дается седативное средство; 6 — применяется только для кроликов массой до 1 кг, кроликам массой более 150 г предварительно дается седативное средство; 7 — применяется только для птиц массой до 5 кг; 8 — применяется только для грызунов массой до 1 кг; 9 — применяется только для кроликов массой до 5 кг; 10 — применяется только для новорожденных; 11 — применяется только для птиц массой до 250 г; 12 — применяется только в том случае, если использование других методов не представляется возможным; 13 — требуется специальное оборудование; 14 — применяется только для свиней; 15 — применяется только в полевых условиях опытными стрелками; 16 — применяется только в полевых условиях опытными стрелками, когда использование других методов не представляется возможным.

Методы эвтаназии, применяемые для крыс, мышей, песчанок, дегу, хомяков

Возраст животного	Начальный этап эвтаназии	Конечный этап эвтаназии
<p>Не родившиеся эмбрионы и плоды до*:</p> <ul style="list-style-type: none"> • мыши — 10; • крысы — 10; • песчанки — 12; • дегу — 43; • хомяки — 8 дней гестации* 	<p>Эвтаназия матери (см. пункт взрослые), далее матка с детенышами с неповрежденным амниотическим мешком удаляется из брюшной полости; для детенышей применяется один из конечных этапов эвтаназии</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Оставить матку с плодами на 1 ч или дольше для гибели плодов. • Эмбрионы или плоды до 4 г массы тела можно погрузить в жидкий азот
<p>Не родившиеся эмбрионы и плоды после*:</p> <ul style="list-style-type: none"> • мыши — 11; • крысы — 11; • песчанки — 13; • дегу — 44; • хомяки — 9 дней гестации* 	<ul style="list-style-type: none"> • Эвтаназия матери (см. пункт взрослые животные), далее матка с детенышами удаляется из брюшной полости, детеныши подвергаются наркотизации. • Декапитация. • Цервикальная дислокация 	<ul style="list-style-type: none"> • Декапитация. • Цервикальная дислокация. • Обескровливание полостей сердца или перерезание основных кровеносных сосудов. • Передозировка анестетиком. • Эмбрионы или плоды до 4 г массы тела могут быть погружены в жидкий азот, минуя начальный этап эвтаназии. • Эмбрионы или плоды более 4 г массы тела могут быть погружены в жидкий азот, но необходимо предварительно наркотизировать.

*NB! Газы для данной категории не используются***

<p>Новорожденные животные в возрасте до 10 дней</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Передозировка анестетиками (инъекционные или ингаляционные). • Цервикальная дислокация (до массы тела 200 г). • Наркотизация животных. <p><i>NB! Газы для данной категории не используются **</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> • Декапитация. • Цервикальная дислокация. • Гипотермия является приемлемой для новорожденных в возрасте до 7 дней, при этом необходимо избегать прямого контакта со льдом/холодными поверхностями. • Детеныши могут быть погружены в жидкий азот, предварительно необходимо использовать анестезию. • Обескровливание полостей сердца или перерезание основных кровеносных сосудов (необходима анестезия). • Удаление внутренних органов (сердце, легкие, головной мозг). • Сердечная перфузия
<p>Взрослые и новорожденные в возрасте более 10 дней</p>	<ul style="list-style-type: none"> • CO₂. • Цервикальная дислокация (неприемлемо на животных массой тела более 200 г и хомяков). • Передозировка анестетиками (инъекционные или ингаляционные). • Наркотизация животных 	<ul style="list-style-type: none"> • Цервикальная дислокация (неприемлемо для животных массой тела более 200 г и хомяков). • Обескровливание полостей сердца или перерезание основных кровеносных сосудов. • Удаление внутренних органов (сердце, легкие, головной мозг). • Сердечная перфузия. • Декапитация

*Примечания. Здесь и в табл. 20–22: * научные данные указывают на то, что эмбрионы и плоды млекопитающих находятся в бессознательном состоянии на протяжении всего периода беременности и родов. Эмбрионы и плоды не могут сознательно испытывать такие чувства, как одышка или боль. Поэтому они также не могут страдать, умирая в утробе матери после ее смерти, независимо от причины. Время развития нервной трубки в функциональный мозг происходит после 50% гестации. Рекомендуется гуманно этаназировать плоды после 50% гестации указанными способами. ** Развитие возбуждающих и тормозных рецепторных систем происходит в течение всего периода гестации и вплоть до 2-й недели постнатального периода жизни (10–14 дней). В связи с этим новорожденные до 14 дней устойчивы к гипоксии при использовании CO₂ и других ингаляционных анестетиков.*

Таблица 20

Методы эвтаназии, применяемые для морских свинок

Возраст животного	Начальный этап эвтаназии	Конечный этап эвтаназии
Не родившиеся эмбрионы и плоды до 34 дней гестации*	Эвтаназия матери (см. пункт взрослые животные), далее матка с детенышами с неповрежденным амниотическим мешком удаляется из брюшной полости, для детенышей применяется один из конечных этапов эвтаназии	<ul style="list-style-type: none"> • Оставить матку с плодами на 1 ч или дольше для гибели плодов. • Эмбрионы или плоды до 4 г массы могут быть погружены в жидкий азот
Не родившиеся эмбрионы и плоды после 34 дней гестации*	Эвтаназия матери (см. пункт взрослые животные) далее матка с детенышами удаляется из брюшной полости, детеныши подвергаются наркотизации	<ul style="list-style-type: none"> • Декапитация. • Цервикальная дислокация. • Обескровливание полостей сердца или перерезание основных кровеносных сосудов. • Эмбрионы или плоды более 4 г массы тела могут быть погружены в жидкий азот. • Передозировка анестетика. • Химическая фиксация
Новорожденные и взрослые животные	<ul style="list-style-type: none"> • Передозировка анестетиками (инъекционные или ингаляционные). • Наркотизация животных. <p><i>NB! Газы для данной категории не используются</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> • Декапитация. • Цервикальная дислокация. • Обескровливание полостей сердца или перерезание основных кровеносных сосудов (необходима анестезия). • Удаление внутренних органов (сердце, легкие, головной мозг). • Сердечная перфузия

Таблица 21

Методы эвтаназии,
применяемые для кроликов, хорьков и карликовых свиней

Возраст животного	Начальный этап эвтаназии	Конечный этап эвтаназии
<p>Не родившиеся эмбрионы и плоды до*:</p> <ul style="list-style-type: none"> • кролики — 10; • хорьки — 12; • карликовые свиньи — 30 дней гестации* 	<p>Эвтаназия матери (см. пункт взрослые животные), далее матка с детенышами с неповрежденным амниотическим мешком удаляется из брюшной полости, для детенышей применяется один из конечных этапов эвтаназии</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Оставить матку с плодами на 1 ч или дольше для гибели плодов. • Эмбрионы или плоды до 4 г массы тела могут быть погружены в жидкий азот
<p>Не родившиеся эмбрионы и плоды после*:</p> <ul style="list-style-type: none"> • кролики — 11; • хорьки — 13; • карликовые свиньи — 31 дня гестации* 	<p>Эвтаназия матери (см. пункт взрослые животные), далее матка с детенышами удаляется из брюшной полости, детеныши подвергаются наркотизации</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Декапитация. • Цервикальная дислокация. • Обескровливания полостей сердца или перерезание основных кровеносных сосудов (необходима анестезия). • Передозировка анестетика. • Сердечная перфузия
<p>Новорожденные и взрослые животные</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Передозировка анестетиками (инъекционные или ингаляционные). • Наркотизация животных. <p><i>NB! Газы для данной категории не используются**</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> • Обескровливание полостей сердца или перерезание основных кровеносных сосудов. • Удаление внутренних органов (сердце, легкие, головной мозг). • Удар тупым предметом по голове***. • Сердечная перфузия

Примечания. *** Применимо к кроликам массой до 5 кг, предварительно наркотизированных.

Таблица 22

Методы эвтанази, применяемые для собак		
Возраст животного	Начальный этап эвтанази	Конечный этап эвтанази
Не родившиеся эмбрионы и плоды до 30 дней гестации*	Эвтаназия матери (см. пункт взрослые животные), далее матка с детенышами с неповрежденным амниотическим мешком удаляется из брюшной полости, для детенышей применяется один из конечных этапов эвтанази	<ul style="list-style-type: none"> Оставить матку с плодами на 1 ч или дольше для гибели плодов. Эмбрионы или плоды до 4 г массы тела могут быть погружены в жидкий азот
Не родившиеся эмбрионы и плоды после 31 дня гестации*	Эвтаназия матери (см. пункт взрослые животные), далее матка с детенышами удаляется из брюшной полости, детеныши подвергаются наркотизации	<ul style="list-style-type: none"> Декапитация. Цервикальная дислокация. Обескровливание полостей сердца или перерезание основных кровеносных сосудов (необходима анестезия). Передозировка анестетика. Сердечная перфузия
Новорожденные и взрослые животные	Наркотизация животных. <i>NB! Газы для данной категории не используются**</i>	Передозировка анестетиками

Таблица 23

Гистологическая картина в биоптатах различных органов у карликовых свиней

Пол	Масса, кг	Орган			Предстательная железа
		Печень	Легкое	Селезенка	
♂	43	Нормальная печеночная ткань	Нормальная легочная ткань	Нормальная ткань селезенки	Нормальная ткань
♂	41	Нормальная печеночная ткань	Нормальная легочная ткань	Нормальная ткань, выражен гемосидероз	Нормальная ткань
♂	40	Нормальная печеночная ткань	Нормальная легочная ткань	Нормальная ткань, преимущественно красная пульпа	Нормальная ткань
♂	45	Нормальная печеночная ткань	Нормальная легочная ткань	Нормальная ткань селезенки	Нормальная ткань
♀	68	Соединительная и мышечная ткани	Нормальная легочная ткань	Соединительная и мышечная ткани	—
♀	63	Соединительная и мышечная ткани	Отсутствует	Нормальная ткань, выражен гемосидероз	—
♀	63	Соединительная и мышечная ткани	Нормальная легочная ткань	Нормальная ткань	—
♀	63	Соединительная и мышечная ткани	Нормальная легочная ткань	Нормальная ткань селезенки	—
♀	71	Ткань селезенки	Нормальная легочная ткань	Нормальная ткань, преимущественно красная пульпа	—
♀	61	Соединительная и мышечная ткани	Нормальная легочная ткань	Нормальная ткань селезенки	—
♀	53	Нормальная печеночная ткань	Нормальная легочная ткань	Нормальная ткань, преимущественно красная пульпа	—
♀	66	Мышечная ткань	Мышечная ткань	Нормальная ткань, преимущественно красная пульпа	—

в рамках НИР, получать достоверные данные и обеспечивать качественное выполнение экспериментальной работы.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition. American Veterinary Medical Association, Schaumburg, IL. 2020. <https://www.avma.org/sites/default/files/2020-02/Guidelines-on-Euthanasia-2020.pdf> (дата обращения: 07.2022).
2. Baumans V. Environmental enrichment for laboratory rodents and rabbits: requirements of rodents, rabbits, and research // ILAR J. 2005. Vol. 46. N. 2. P. 162–170. DOI: [10.1093/ilar.46.2.162](https://doi.org/10.1093/ilar.46.2.162).
3. Bloomsmith M.A., Perlman J.E., Hutchinson E., Sharpless M. Behavioral Management Programs to Promote Laboratory Animal Welfare. In: Weichbrod RH, Thompson GA, Norton JN, editors. Management of Animal Care and Use Programs in Research, Education, and Testing. 2nd ed. Boca Raton (FL). CRC Press/Taylor & Francis, 2018. Chapter 5. PMID: 29787205. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29787205/> (дата обращения: 07.2022).
4. Kurtz D.M., Feeney W.P. The Influence of Feed and Drinking Water on Terrestrial Animal Research and Study Replicability // ILAR Journal. 2019. Vol. 60. N. 2. P. 175–196. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32706372/> (дата обращения: 07.2022).
5. National Research Council (US) Subcommittee on Laboratory Animal Nutrition. Nutrient Requirements of Laboratory Animals: Fourth Revised Edition, 1995. Washington (DC): National Academies Press (US). URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25121259/> (дата обращения: 07.2022).
6. Акимов Д.Ю., Макарова М.Н., Гущин Я.А., Косман В.М. Применение витальных методов исследования как промежуточных точек в доклинических испытаниях фармацевтических препаратов на модели карликовых свиней // Лабораторные животные для научных исследований. 2021. №1. С. 1–10. DOI: [10.29296/2618723X-2021-01-07](https://doi.org/10.29296/2618723X-2021-01-07).
7. Бондарева Е.Д., Акимова М.А., Веснина Е.В. Рекомендуемые способы поения лабораторных животных. Технические особенности. Обеспечение благополучия и здоровья лабораторных животных // Лабораторные животные для научных исследований. 2022. № 2. С. 1–8. DOI: [10.29296/2618723X-2022-02-08](https://doi.org/10.29296/2618723X-2022-02-08).
8. Веснина Е.В., Акимова М.А., Бармина Т.Г. Особенности формирования рационов и режима кормления игрунки обыкновенной в условиях исследовательской лаборатории // Лабораторные животные для научных исследований. 2022. № 1. С. 43–51. DOI: [10.29296/2618723X-2022-01-06](https://doi.org/10.29296/2618723X-2022-01-06).
9. Директива Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г. о защите животных, использующихся для научных целей.
10. Макаренко И.Е., Авдеева О.И., Ванатиев Г.В., Рыбакова А.В., Ходько С.В., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Возможные пути и объемы введения лекарственных средств лабораторным животным // Международный вестник ветеринарии. 2013. № 3. С. 78–84.
11. Рыбакова А.В., Макарова М.Н., Кухаренко А.Е., Вичаре А.С., Рюффер Ф. Существующие требования и подходы к дозированию лекарственных средств ла-

бораторным животным // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2018. Т. 8. № 4. С. 207–217. DOI: [10.30895/1991-2919-2018-8-4-207-217](https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-4-207-217).

12. Ходько С.В., Макарова М.Н., Макаров В.Г., Салынов С.С., Родионова Н.В. Определение критических фаз экспериментальной части научно-исследовательской работы с использованием лабораторных животных: анализ рисков // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2021. Т. 11. № 3. С. 193–201. DOI: [10.30895/1991-2919-2021-11-193-201](https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-193-201).

Определение степени тяжести процедур

<https://doi.org/10.57034/978-5-6048955-0-4-s8>

М.Н. Макарова, М.А. Ковалева

АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»

Данный раздел подготовлен на основе материалов, представленных на сайте [Norecopa](https://norecopa.no)¹ — норвежской национальной консенсусной платформы для продвижения принципов 3R (замена, сокращение, уточнение) в связи с экспериментами на животных.

Являясь сторонниками принципов 3R, с целью популяризации их в России подготовлен перевод обзора систем, которые в настоящее время используются в Европе для классификации серьезности методов и процедур, а также для генетически измененных (genetically altered, GA) лабораторных животных. Существующие официальные руководства сведены в таблицы, чтобы упростить их сравнение, а также снабжены примерами клинических признаков.

Классификация степени тяжести методов и процедур является важным фактором при принятии решений, касающихся проведения экспериментов с участием лабораторных животных, и поддерживает принципы, изложенные в Директиве 2010/63/ЕС. Присвоение соответствующей категории тяжести требует тщательной оценки воздействия на самочувствие животных. Чтобы облегчить общее понимание и избежать субъективных решений, существует несколько руководств по классификации экспериментальных вмешательств.

1. Директива 2010/63/ЕС о защите животных, используемых для научных целей, Приложение VIII [1].
2. Консультативные примечания Министерства внутренних дел по регистрации и отчетности о фактической серьезности регулируемых процедур [2].
3. Техническая информация по экспериментам на животных (Федеральное управление по безопасности пищевых продуктов и ветеринарии FSVO) [3].

¹ <https://norecopa.no>

4. Рабочая группа берлинских специалистов по защите животных (Ориентировочное руководство рабочей группы для классификации по уровням стресса для экспериментов на животных, подлежащих разрешению) [4].
5. Заключительный отчет Экспертной рабочей группы по классификации серьезности научных процедур, проводимых на животных [5].
6. Отчет Рабочей группы Федерации европейских ассоциаций лабораторных животных (Federation of European Laboratory Animal Science Associations, FELASA) по боли и стрессу [6].

Эти руководства могут использоваться учеными, комитетами по оценке проектов и органами по защите животных. Важно отметить, что конкретные условия эксперимента, такие как кумулятивная тяжесть, установка ранних конечных точек или другие уточнения, должны учитываться в каждом конкретном случае и могут изменить рекомендуемую классификацию степени тяжести методов и процедур.

Для облегчения процесса оценки степени тяжести процедур (особенно для многоэтапных процедур), можно пользоваться дополнительными материалами [7, 8].

Предлагаемый обзор охватывает:

- вмешательства в системы и функции организма:
 - введение вещества;
 - сбор образцов;
 - хирургические вмешательства;
- индукцию заболеваний:
 - сердце и кровообращение;
 - инфекционные заболевания;
 - неврология и органы чувств;
 - эндокринные, алиментарные и метаболические заболевания;
 - новообразования;
 - иммунология;
- фармакологию и другие внешние причины:
 - физические воздействия;
 - генерация боли;
 - фармакологические исследования;
- жилье, окружающую среду и поведение:
 - жилье и питание;
 - разведение и размножение;
 - GA-животные;
 - поведение;
- плоды и недоношенных животных;
- клинические признаки.

I. Вмешательства в системы и функции организма

1. Введение вещества

<p>Безвредная/ степень тяжести 0</p>	<p>Однократное введение малых объемов подкожно и внутривенно (видоспецифично), в том числе повторные инъекции через длительные интервалы (не менее 24 ч) [3]</p>
<p>Легкая/ степень тяжести 1</p>	<p>Введение веществ подкожно, внутримышечно, внутривенно, через желудочный зонд и внутривенно через поверхностные кровеносные сосуды, когда вещество оказывает не более чем слабое воздействие на животное, а объемы находятся в пределах, соответствующих размеру и виду животного [1].</p> <p>Инъекции традиционными путями, то есть подкожно, внутривенно, внутривенно или внутримышечно (при условии компетентности лица, выполняющего процедуру, и соблюдения передовых практических рекомендаций по объему, pH, размеру иглы и т.д.). Многократные инъекции этими путями могут оставаться в категории легких, если нет кумулятивных эффектов [2].</p> <p>Внутривенные или внутривенные инъекции животным под седацией, через катетер или иглу, а также через физиологические отверстия, например, ректально в виде клизмы. Имплантаты и постоянные доступы, которые можно создать и использовать с помощью минимально инвазивной (поверхностной) процедуры. Примеры: повторные внутривенные или подкожные инъекции малых объемов (видоспецифично). Введение катетеров в периферические кровеносные сосуды. Подкожная инъекция опухолевой ткани. Одиночные подкожные имплантации осмотических мини-насосов и транспондеров. Подкожные венозные катетеры [3]. Применение веществ с краткосрочными принудительными мерами и не совмещенное с другими процедурами. Вещество может вызвать у животного лишь легкий стресс. Пероральное введение (кроме желудочных зондов для крупных животных). Внутримозговой, интубационный (только под наркозом). Местное и наружное применение в глаза, на кожу, на слизистые оболочки [4]</p>

<p>Средняя/ степень тяжести 2</p>	<p>Частое применение испытуемых веществ, вызывающих умеренные клинические эффекты, и изъятие образцов крови (более 10% объема циркулирующей крови) у животного в течение нескольких дней без восполнения объема [1].</p> <p>Повторные инъекции через короткие промежутки времени (несколько раз в течение 24 ч). Имплантаты и постоянные доступы, которые должны быть созданы с помощью глубокой хирургической процедуры или вызывают умеренные длительные ограничения у животного.</p> <p>Примеры: хронические внутривенные катетеры, дуоденальная инфузионная канюля, катетер воротной вены печени, желудочный зонд или хроническая внутрижелудочная инфузионная канюля, внутрибрюшинные или внутривенные осмотические мини-насосы, передатчики телеметрии, имплантированные внутривенные катетеры с помпами, имплантация постоянных катетеров в желудочки головного мозга или электродов в головной мозг, если животные сохраняют свободу движений. Установка имплантатов на сохранный опорно-двигательный аппарат, не вызывающих ограничения движений [3].</p> <p>Введение с применением краткосрочных принудительных мер и не совмещенное с другими процедурами.</p> <p>Вещество может вызвать у животного лишь умеренный стресс. Пероральное введение крупным животным с использованием желудочных зондов. Введение во внутрисердечный, глазничный синус (только под наркозом) [4]</p>
<p>Тяжелая/ степень тяжести 3</p>	<p>Имплантаты и постоянные доступы, которые должны быть созданы с помощью глубокой хирургической процедуры и вызывают тяжелую длительную нагрузку на животное. Примеры: прикрепление имплантатов к опорно-двигательному аппарату или других крупных имплантатов, которые ограничивают движение (например, камера дорсальной кожной складки у мышей). Имплантация катетеров в брюшную аорту или желчный проток.</p> <p>Имплантация катетера артериального давления в дугу аорты через левую сонную артерию или в брюшную аорту через бедренную артерию. Имплантация комбинации венозного и артериального катетера [3].</p> <p>Аппликации веществ с жесткими ограничениями движения и не совмещенные с другими процедурами [4]</p>

2. Сбор образцов

2.1. Сбор биологических жидкостей

<p>Безвредная/ степень тяжести 0</p>	<p>Отбор проб крови, слюны или мочи (неинвазивный) без седации, с интервалами и частотой или в объемах, не налагающих ограничений на животных (без длительных мер сдерживания, без других вмешательств или предшествующих введений тестируемых веществ). Сбор биологических жидкостей, тканей, органов или частей тела под глубокой общей анестезией с последующей эвтаназией животных, ранее не подвергавшихся какому-либо вмешательству. Примеры: сбор образцов крови из ушной вены кролика двукратно с интервалом 14 дней по 3 мл каждый раз. Однократные неинвазивные мазки из естественных полостей тела [3]</p>
<p>Легкая/ степень тяжести 1</p>	<p>Сбор образцов по всем правилам: сбор крови, тканей, фекалий или мочи с седацией или без нее, с периодичностью и кратностью, предполагающими легкое кратковременное ограничение животных. Введение нетоксичных доз тестируемых веществ, использование несколько сниженных условий содержания на протяжении небольшого промежутка времени. Примеры: несколько образцов крови из хвостовой вены, подкожной вены или подъязычной вены у мыши и крысы в течение 24 ч. Биопсия кожи. Перфузия мелких грызунов под терминальной хирургической анестезией [3].</p> <p>Сбор жидкостей или тканей, приводящий к легким нарушениям дальнейшего развития молодых животных. Примеры: забор венозной крови у недоношенных телят [3].</p> <p>В небольших количествах и количествах только с кратковременными принудительными мероприятиями и без сочетания с другими процедурами: венепункция; катетер Фолея для крупных животных [4].</p> <p>Только под наркозом: терминальная пункция сердца [4]</p>

<p>Средняя/ степень тяжести 2</p>	<p>Частое введение исследуемых веществ, вызывающих умеренные клинические эффекты, и изъятие образцов крови (более 10% объема циркулирующей крови) у животного в течение нескольких дней без восполнения объема [1].</p> <p>Забор крови в объемах с периодичностью и частотой, сопровождающийся умеренным кратковременным ограничением животных; чрескожный сбор мочи, сбор образцов тканей (клеток или жидкости), промывание брюшины у ранее не подвергавшихся этой манипуляции животных под общей анестезией. Забор жидкостей организма (в относительно большом количестве или через относительно короткие промежутки времени) после введения фармакологически активных веществ (без токсических доз, без других вмешательств, без длительных сдерживающих мер). Примеры: повторный ежедневный сбор образцов крови из хвостовой вены у крыс в течение 5 дней для определения динамики уровня гормонов [3].</p> <p>Сбор жидкостей или тканей, приводящий к умеренному нарушению дальнейшего развития молодых животных [3].</p> <p>Не часто и в небольших объемах, только с краткосрочными принудительными мерами и без сочетания с другими процедурами [4].</p> <p>Только под наркозом: венепункция с постоянным катетером: аспирация мочевого пузыря, желчного пузыря, костного мозга. Сбор перитонеального лаважа. Ретробульбарный забор крови (повторная пункция того же глаза после 2-недельного латентного периода). Постоянная канюля в большой цистерне мозга [4]</p>
<p>Тяжелая/ степень тяжести 3</p>	<p>Сбор жидкостей или тканей, приводящий к серьезным нарушениям дальнейшего развития животных или гибели/аборту [3].</p> <p>С резкими ограничениями в движениях и не совмещенными с другими процедурами [4]</p>

2.2. Отбор проб тканей

Безвредная/ степень тяжести 0	Экспериментальное маркирование и генотипирование неинвазивными методами. Примеры: маркировка красителем, генотипирование по образцу волос [3]
Легкая/ степень тяжести 1	Поверхностные процедуры, например, биопсия уха и хвоста [1]. Инвазивное генотипирование проводят с использованием метода, вызывающего только преходящие боли, даже если фенотип не является вредным* [2]. Экспериментальное мечение инвазивными методами и сбор тканей под наркозом для генотипирования взрослых животных. Примеры: татуировка, прокалывание ушей, микрочипы у грызунов и кроликов. Экспериментальная биопсия кончика хвоста до 0,5 см. Ампутация кончика пальца в возрасте до 3 нед [3]
Средняя/ степень тяжести 2	Экспериментальные вмешательства по регулированию воспроизводства или генотипированию взрослых животных. Примеры: вазэктомия, кастрация [3]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Нет информации

*Примечание. * Животные с вредным фенотипом в контексте генетически измененных животных следует понимать как животных, которые могут испытывать как следствие генетического изменения боль, дистресс, страдания или продолжительный вред, эквивалентный или выше, чем вызванный введением иглы в соответствии с хорошей ветеринарной практикой [National Competent Authorities for the implementation of Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes, CORRIGENDUM of 24 January 2013, Working document on genetically altered animals, Brussels, 23–24 January 2013].*

3. Хирургические вмешательства

3.1. Анестезия

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	<p>Введение анестезии, за исключением единственной цели — эвтаназия [1]. Введение анестезии само по себе является легкой процедурой при нормальных обстоятельствах при условии, что индукция наркоза проходит быстро, а продолжительность такова, что животное быстро и без осложнений выходит из наркоза без необходимости поддерживающего лечения. Фактический вред, связанный с анестезией, может увеличиваться или накапливаться при повторении анестезии. Процедура, проводимая под общей анестезией, независимо от того, насколько тяжелыми могут быть отдельные последствия у животного, находящегося в сознании, но не имеющая побочных эффектов сразу после выхода из наркоза, также может быть классифицирована как легкая процедура. Это исключает большинство хирургических процедур, когда после выздоровления будет присутствовать некоторый уровень дискомфорта или боль [2].</p> <p>Процедуры выполняются под общей анестезией, при этом животное эвтаназируют в конце эксперимента, пока оно все еще находится под наркозом. Считается, что это вызывает легкий стресс [4]</p>
Средняя/ степень тяжести 2	Нет информации
Тяжелая/ степень тяжести 3	Нет информации

3.2. Хирургические вмешательства в целом

Безвредная/ степень тяжести 0	Однократное введение малых объемов подкожно и внутривенно (видоспецифично), в том числе повторные инъекции через длительные интервалы (не менее 24 ч) [3]
Легкая/ степень тяжести 1	<p>Внутривенные или внутрибрюшинные инъекции животным под седацией через катетер или трубку, а также введение веществ через естественные отверстия, например, клизмы. Имплантаты и постоянные доступы, которые можно создать и использовать с помощью минимально инвазивной (поверхностной) процедуры. Примеры: повторные внутривенные или подкожные инъекции небольших объемов (видоспецифические), введение канюль в периферические кровеносные сосуды, подкожные инъекции опухолевой ткани, однократные подкожные имплантации осмотических мини-насосов и транспондеров, венозные катетеры с подкожным каналом [3].</p>

	<p>Малые хирургические и другие вмешательства (незначительная травма тканей) под общей или местной анестезией с незначительными послеоперационными болями, страданиями и ухудшением общего состояния. Примеры: биопсия кожи, введение канюль в периферические кровеносные сосуды, подкожные венозные катетеры. Операция под общим наркозом без восстановления. Вазэктомия у мышей и крыс [3].</p> <p>Небольшие хирургические и другие вмешательства на животных (незначительные травмы тканей) под общей или местной анестезией с легкими послеоперационными болями, страданиями и легким нарушением общего состояния [4]</p>
<p>Средняя/ степень тяжести 2</p>	<p>Хирургическое вмешательство под общей анестезией и соответствующим обезболиванием, связанное с послеоперационной болью, страданием или ухудшением общего состояния. Примеры: торакотомия, трепанация черепа, лапаротомия, орхиэктомия, лимфаденэктомия, тиреоидэктомия. Ортопедическая хирургия с эффективной стабилизацией и лечением ран. Трансплантация органов с эффективным лечением отторжения. Хирургическая имплантация катетеров или биомедицинских устройств (например, передатчиков телеметрии, мини-насосов и т.д.) [1].</p> <p>Большинство хирургических вмешательств, выполненных в асептических условиях с надлежащим послеоперационным уходом, включая эффективную анальгезию в течение всего восстановительного периода, оцениваемых как эффективные с использованием соответствующего мониторинга, и случаи, когда животные практически возвращаются к нормальному состоянию в течение 3–4 дней, будут классифицироваться как умеренные [2].</p> <p>Повторные инъекции через короткие промежутки времени (несколько раз в течение 24 ч). Имплантаты и постоянные доступы, которые должны быть созданы с помощью глубокой хирургической процедуры или вызывают умеренные длительные ограничения у животного. Примеры: внутривенные катетеры для хронических введений, дуоденальные инфузионные канюли, печеночные катетеры воротной вены, желудочный зонд или хронические внутрижелудочные инфузионные канюли, внутрибрюшинные или внутривенные осмотические мини-насосы, передатчики телеметрии, имплантированные во внутривенные катетеры, имплантация постоянных катетеров в желудочки мозга или электродов в мозг, если животные сохраняют свободу движений. Прикрепление имплантатов к интактному опорно-двигательному аппарату, не вызывающих ограничения движений [3].</p>

	<p>Хирургические и другие вмешательства на животных под наркозом при умеренных послеоперационных болях, страданиях или нарушении общего состояния. Примеры: лапаротомия, лапароскопия, такая как овариэктомия, гистерэктомия, односторонняя нефрэктомия, спленэктомия, создание желудочной фистулы у крыс и собак, краниотомия. Орхидэктомия и стерилизация самок, лимфаденэктомия, тиреоидэктомия, гипофизэктомия с заместительной гормональной терапией. Установка имплантатов на сохраненный опорно-двигательный аппарат. Ортопедическая хирургия с эффективной стабилизацией и уходом за раной. Гипсование конечностей для изучения мышечной атрофии. Трансплантация органов с эффективным лечением отторжения [3].</p> <p>Хирургические и другие вмешательства на животных под общим наркозом при умеренных послеоперационных болях, страданиях или умеренном нарушении общего состояния [4]</p>
<p>Тяжелая/ степень тяжести 3</p>	<p>Хирургические и другие вмешательства на животных под общей анестезией, которые, как ожидается, повлекут за собой сильные или стойкие умеренные послеоперационные боли, страдания или дистресс либо тяжелые и стойкие нарушения общего состояния животных. Примеры: создание нестабильных переломов. Торакотомия без адекватного обезболивания или травма, вызывающая полиорганную недостаточность [1].</p> <p>Испытание устройства, отказ которого может вызвать сильную боль, дистресс или смерть животного (например, вспомогательные кардиостимуляторы) [1].</p> <p>Крупная хирургическая процедура, проведенная без послеоперационного обезболивания, неизменно будет классифицироваться как тяжелая. Ожидается, что такая ситуация будет редкой и основана на конкретном научном обосновании. Постоянная сильная боль, дистресс или ухудшение здоровья животного в результате хирургического вмешательства, вероятно, будут серьезными. Точно также любая ситуация, когда у животных появляются признаки значительной или более чем кратковременной умеренной боли после операции, несмотря на обезболивание, должна быть классифицирована как тяжелая [2].</p> <p>Имплантаты и постоянные доступы, которые должны быть созданы с помощью глубокой хирургической процедуры и вызывают тяжелую длительную нагрузку на животное.</p> <p>Примеры: прикрепление имплантатов к опорно-двигательному аппарату или других крупных имплантатов, которые ограничивают движения (например, дорсальная камера кожной складки у мышей), имплантация катетеров в брюшную аорту или желчный проток, имплантация катетера для измерения артериального давления в дугу аорты через левую сонную артерию или в брюшную аорту через бедренную артерию. Имплантация комбинации венозного и артериального катетера [3].</p>

	<p>Хирургические и другие вмешательства под наркозом при сильных или хронических послеоперационных болях, страданиях или нарушении общего состояния. Примеры: создание нестабильных переломов. Хирургия спины, таза и межпозвонковых дисков. Трансплантация суставов. Индукция инфекций в костных и суставных структурах. Трансплантация функционального внутреннего органа. Резекция кишечника. Гепатэктомия в 86% случаев. Одна почка, два зажима. Вскрытие грудной клетки, торакотомия, межреберный доступ к грудной клетке, торакоскопия. Лапаротомия (материнский организм) с внутриутробной электропорацией в последней трети гестации с последующим донашиванием доношенных плодов и рождением помета. Прикрепление имплантатов к опорно-двигательному аппарату, если это приводит к ограничению движений. Ограничение функции [3].</p> <p>Хирургические и другие вмешательства на животных под общей анестезией с сильными послеоперационными болями, страданиями или тяжелым нарушением общего состояния в течение длительного периода времени [4]</p>
--	---

3.3. Брюшная и грудная полость

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	<p>Мини-насос подкожно или внутрибрюшинно. Подкожно устанавливается центральный венозный катетер. Биопсия кожи. Применение канюль в периферических кровеносных сосудах. Орхиэктомия без лапаротомии. Образование папиллом кожи. Подкожная трансплантация органов без физиологической функции у животного-реципиента. Подкожная имплантация опухолевой ткани в зависимости от размера опухоли. Инвазивное измерение артериального давления под наркозом. Свищи рубца крупного и мелкого рогатого скота [4]</p>
Средняя/ степень тяжести 2	<p>Модели с лапаротомией: овариэктомия, вазэктомия, адреналэктомия, гепатэктомия, гистерэктомия, кесарево сечение, лимфаденэктомия, тиреоидэктомия, парциальная нефрэктомия, спленэктомия. Резекция кишки в зависимости от локализации и протяженности. Имплантация катетеров в брюшную аорту или желчный проток. Мини-помпы интравенозные. Мини-помпы с подачей вещества в желудок. Формирование свища желудка. Фистула тонкой кишки у свиней и жвачных животных [4]</p>

Тяжелая/ степень тяжести 3	Модели с торакотомией. Нефрэктомия (более чем в 50% случаев). Резекция кишки в зависимости от локализации и протяженности. Резекция желудка. Трансплантация функционального внутреннего органа [4]
---------------------------------------	--

3.4. Костно-мышечная система

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Нет информации
Средняя/ степень тяжести 2	Применение имплантатов при интактном опорно-двигательном аппарате [4]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Совместные трансплантации. Применение имплантатов в опорно-двигательном аппарате с последующей потерей функции [4]

3.5. Имплантация мини-помп, транспондеров

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Безоперационная подкожная имплантация мини-насосов и транспондеров [1]. Малые хирургические процедуры без осложнений в некоторых случаях могут считаться легкими, например, однократное введение подкожной мини-помпы с обезболиванием, очень быстрое восстановление и отсутствие явных последствий [2]
Средняя/ степень тяжести 2	Нет информации
Тяжелая/ степень тяжести 3	Нет информации

3.6. Трансплантация органов

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
--	----------------

<p>Легкая/ степень тяжести 1</p>	<p>Вмешательства, вызывающие легкую кратковременную боль или травму, а также незначительные местные изменения без нарушения функций организма или общего состояния. Примеры: подкожные трансплантации органов без физиологической функции у животных-реципиентов. Трансплантация сердец мышей подкожно за ухом мышам-реципиентам. Перенос иммунных клеток животному-реципиенту с легкой временной патологией или без нее. Животных-доноров усыпляют под глубоким наркозом после оперативного вмешательства [3]</p>
<p>Средняя/ степень тяжести 2</p>	<p>Трансплантации органов без физиологической функции у животных-реципиентов (за исключением подкожной локализации). Примеры: вторая трансплантация сердца в брюшную полость. Трансплантация островковых клеток под капсулу почки. Модели с пересадкой кожи без резкого ограничения движений. Перенос иммунных клеток, вызывающий транзиторное клиническое заболевание у животного-реципиента [3]</p>
<p>Тяжелая/ степень тяжести 3</p>	<p>Трансплантация органов, когда отторжение органа может привести к серьезному дистрессу или ухудшению общего состояния животных (например, ксенотрансплантация) [1]. Трансплантация органа с физиологической функцией у животного-реципиента, недостаточность которого приводит к тяжелому перенапряжению. Примеры: отторжение конечности после аллотрансплантации. Трансплантация почки, поджелудочной железы [3]</p>

3.7. Имплантированные зонды

<p>Безвредная/ степень тяжести 0</p>	<p>Нет информации</p>
<p>Легкая/ степень тяжести 1</p>	<p>Претерминальная имплантация зондов под наркозом [3]</p>
<p>Средняя/ степень тяжести 2</p>	<p>Модели с хронически имплантированными катетерами/электродами (включая беспроводную технологию) в череп. Примеры: повторные записи ЭЭГ у находящихся в сознании крыс или мышей. Церебровентрикулярные канюли у крыс для прямого многократного введения испытуемого вещества в головной мозг. Сбор спинно-мозговой жидкости через канюлю у крыс [3]</p>

Тяжелая/ степень тяжести 3	Модели с хронически имплантированными катетерами/электродами (включая беспроводную технологию) в череп с дополнительной нагрузкой. Примеры: фиксация головы и лишение воды [3]
---------------------------------------	--

3.8. Другие, например, имплантация опухоли, инвазивное измерение артериального давления, манипуляции на периферических тканях

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Нет информации
Средняя/ степень тяжести 2	Бандажирование аорты. Локализованные опухоли. Трансплантация роговицы. Трансплантация органов без физиологической функции у животного-реципиента (кроме подкожной локализации). Модели с пересадкой кожи без жестких ограничений в движениях [4]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Опухоли с метастазами, приводящие к опухолевой кахексии или другим летальным проявлениям. Трансплантация органов с физиологическими функциями у животного-реципиента, при отказе от которых возникнет сильный стресс. Травматически индуцированный циркуляторный шок. Применение канюль в функциональных концевых артериях [4]

II. Индукция заболеваний

1. Сердце и кровообращение

1.1. Сердце

Безвредная/ степень тяжести 0	Примеры: мониторинг ЭКГ неинвазивными методами, приводящий к отсутствию или минимальным нарушениям у приученных животных [3]
Легкая/ степень тяжести 1	Примеры: модели с записью ЭКГ у собаки в сознании после введения испытуемых веществ в нетоксичных дозах. Модели претерминального инфаркта у анестезированного животного и эвтаназия под анестезией. Модели реперфузии у наркотизированного животного и эвтаназия под наркозом [3]
Средняя/ степень тяжести 2	Примеры: модели с телеметрическими измерениями сердечного ритма у животного в сознании с помощью катетеров/передатчиков, имплантированных в брюшную полость, без клинических симптомов [3]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Модели, приводящие к клинической недостаточности или вмешательствам, которые могут вызвать сильную боль, крайнее беспокойство или смерть животного. Примеры: тестирование устройств поддержки сердца. Индукция клинически проявляющейся сердечной недостаточности, инфаркта миокарда или эндокардита. Модели с телеметрическим измерением артериального давления у животного в сознании с помощью имплантированных в брюшную полость катетеров/передатчиков. Модели с экспериментально индуцированной гипертонией у животного [3]

1.2. Кровообращение

Безвредная/ степень тяжести 0	Примеры: измерение кислорода с помощью пульсоксиметра [3]
Легкая/ степень тяжести 1	Примеры: модели с инвазивным измерением артериального давления с помощью катетеров, предварительно введенных под наркозом, при условии сохранения свободы передвижения животных, за исключением катетеров брюшной артерии. Модели с неинвазивным измерением артериального давления у мышей, крыс в сознании или методом с использованием манжеты [3]

Средняя/ степень тяжести 2	Нет информации
Тяжелая/ степень тяжести 3	Примеры: модель гипертонии Goldblatt* или DOCA (соль дезоксикортикостерона ацетата, две почки, один зажим)** с недостаточностью органов. Измерение артериального давления в легочных сосудах. МСАО (окклюзия средней мозговой артерии) [3]

*Примечания. * Первая модель вторичной почечной гипертонии была разработана Гарри Голдблаттом (Wilson P.W.F., Kannel W.B. In: Laragh J.H., Brenner B.M. editors, Hypertension: pathophysiology, diagnosis and management. New York: Raven Press, 2nd edition, 1995). ** Pinto Y.M., Paul M., Ganten D. Lessons from rat models of hypertension: from Goldblatt to genetic engineering. Review. Cardiovascular Research 39 (1998) 77–88.*

1.3. Измерение ЭКГ

Безвредная/ степень тяжести 0	Мониторинг ЭКГ неинвазивными методами с минимальным ограничением или без ограничения приученных животных [1]
Легкая/ степень тяжести 1	Нет информации
Средняя/ степень тяжести 2	Нет информации
Тяжелая/ степень тяжести 3	Нет информации

2. Инфекционные заболевания

2.1. Инфекции в целом

<p>Безвредная/ степень тяжести 0</p>	<p>Бессимптомное инфицирование условно-патогенными микроорганизмами (некомменсальными) или паразитами. Примеры: псевдомонада [3]</p>
<p>Легкая/ степень тяжести 1</p>	<p>Модели системных заболеваний, такие как заражение воспалительным агентом, инфекция, не оказывающая существенного влияния на животное или вызывающая лишь незначительные краткосрочные клинические признаки, может считаться легкой, если инициированы соответствующие конечные точки [2]. Инфекции бессимптомные или с кратковременными слабовыраженными клиническими симптомами [3]. Кратковременные инфекции с легкими клиническими симптомами (например, местный абсцесс)* [4]</p>
<p>Средняя/ степень тяжести 2</p>	<p>Если у животных обнаруживаются признаки явного заболевания, например, пилоэрекция, сгорбленность, нежелание двигаться, изоляция от группы у грызунов, если это своевременно выявляется, и животные немедленно умерщвляются, то процедуры могут быть классифицированы как умеренные [2]. Краткосрочное и среднесрочное системное заболевание следует классифицировать как умеренное, если клинические признаки являются более чем незначительными и краткосрочными, но животные сохраняют способность двигаться и продолжают демонстрировать обычное для вида поведение (например, строить гнезда у грызунов). Животное может питаться и пить без посторонней помощи (даже если есть соответствующие поддерживающие меры, например, влажный корм на полу клетки для грызунов, предоставление жвачным животным скошенной травы) [2]. Инфекции, сопровождающиеся кратковременными средневыраженными (четкими) или хроническими слабовыраженными клиническими симптомами [3]. Кратковременные инфекции средней тяжести или хронические инфекции с легкими клиническими симптомами (например, диарея)* [4]</p>

<p>Тяжелая/ степень тяжести 3</p>	<p>Если животные остаются в состоянии, описываемом как умеренное, более 24 ч, тогда будет уместна классификация тяжелого состояния [2]. Любое системное заболевание, при котором животные умирают, будет классифицироваться как тяжелое [2]. Инфекции, характеризующиеся прогрессирующими или хроническими тяжелыми клиническими симптомами [3]. Прогрессирующие инфекции с летальным исходом или хронические инфекции с отчетливыми клиническими симптомами (например, паралич)* [4]</p>
--	---

*Примечание. * Продолжительность инфекций часто является решающим фактором стресса.*

2.2. Гнотобиология — иммунология комменсалов

<p>Безвредная/ степень тяжести 0</p>	<p>Экспериментальные животные (кроме морских свинок) в гнотобиотических условиях после колонизации безмикробных животных путем социализации со свободными от патогенов животными, которые либо являются моноколонизированными, либо имеют ограниченную, определенную (гнотобиотическую) микробиоту [3]</p>
<p>Легкая/ степень тяжести 1</p>	<p>Колонизация безмикробных животных непатогенными бактериями, которые, однако, могут вызвать легкую временную патологию у безмикробных животных. Примеры: расширение слепой кишки без дополнительной патологии, такой как приподнятая диафрагма. Колонизация через желудочный зонд [3]</p>
<p>Средняя/ степень тяжести 2</p>	<p>Заражение/колонизация патогенными бактериями, колонизация непатогенными бактериями, которые могут вызвать кратковременную умеренную или долговременную легкую патологию у безмикробных животных. Примеры: заражение/колонизация патогенными или условно-патогенными бактериями. Увеличение слепой кишки при индуцированной патологии, такой как бесплодие самок морских свинок [3]</p>
<p>Тяжелая/ степень тяжести 3</p>	<p>Заражение/колонизация патогенными бактериями, колонизация непатогенными бактериями, которые могут вызвать кратковременную тяжелую или долговременную патологию средней тяжести у безмикробных животных [3]</p>

Примечание. Гнотобиоты — животные, свободные от микроорганизмов, получаемые и выращиваемые в стерильных условиях для экспериментальной работы.

Гнотобиотами называют также стерильных животных, специально зараженных определенными видами микроорганизмов.

2.3. Бактериальные инфекции

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Индукция локализованных бактериальных дерматитов различными организмами [3]. Индукция локализованных бактериальных дерматитов несколькими патогенами в сочетании с зудом или гиперестезией, вызывающая умеренный стресс [4]
Средняя/ степень тяжести 2	Индукция бактериального вагинита у мышей или крыс. Имплантация тканевой полости, которая впоследствии полностью заселяется бактериями. Модели с индуцированным эндотоксиновым шоком у лабораторных грызунов под наркозом, без выхода из наркоза [3]. Имплантация тканевой полости, впоследствии полностью заселенной бактериями. Модель RITARD (модель диареи взрослых кроликов со съёмными кишечными стяжками) с энтеротоксичной <i>Escherichia coli</i> [4]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Модели с инфекциями для скрининга новых антибиотиков. Модели с индуцированным эндотоксиновым шоком у животных в сознании. Испытания эффективности вакцин в соответствии с European Pharmacopoeia (в том числе лошадиный сепсис, свиная рожа). Демонстрация токсина при рутинной диагностике и осмотре пищевых продуктов (клостридии, столбняк, ботулизм, черная ножка, газовая гангрена) [3]. Модели с индукцией бактериального синовита, например, с помощью <i>Borrelia burgdorferi</i> (болезнь Лайма), у животных с подавленным иммунитетом. Модель CASP* для индуцирования септической клинической картины. Инъекции LPS** в модели воспаления. Перитонит [4]

Примечания. * Восходящий стент толстой кишки. ** Липополисахариды не считаются инфекционными агентами, однако патогенный эффект, например, энтеробактерий среди прочего связан с этой молекулой. Эффекты могут варьировать от индукции легкого сепсиса (5 мг/кг) до анафилактического шока (15 мг/кг).

2.4. Вирусные инфекции

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Субклинические формы инфекции вирусом Сендай у мышей. Спумавирусная инфекция (ретровирусная) или инфекция вируса иммунодефицита кошек [3]. Спумавирус или вирус иммунодефицита у кошек [4]
Средняя/ степень тяжести 2	Демонстрация реакции гиперчувствительности замедленного типа при заражении вирусом хориоменингита в виде отека подушечки стопы. Производство посевного вируса для получения антигена вируса клещевого энцефалита [3]. Индукция заражения человеческим вирусом гриппа В у мышей. Заражение гепатитом Е у нечеловекообразных приматов [4]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Внутри мозговое заражение мыши вирусом LCM (лимфоцитарный хориоменингит). Испытания эффективности вакцин (испытания антигенной эффективности) в соответствии с European Pharmacopoeia (в том числе бешенство, парвовирус, чумка, грипп, ящур) [3]. Внутри мозговое заражение мышей вирусом LCM (лимфоцитарный хориоменингит). Крысиная модель герпесвирусного энцефалита [4]

2.5. Паразитарные инфекции

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Носитель испытывает легкое кратковременное страдание из-за паразитов. Примеры: воздействие комаров на носителя под наркозом. Влияние на ухо кролика 20 клещей в течение 2 ч [3]. Инвазия плотоядных животных кишечными стадиями цестод. Легкие инфекции, вызванные возбудителями кишечных паразитов (лямблии, кокцидии, трихостронгилиды, анкилостомы). Легкие инфекции возбудителями паразитов тканей и крови (<i>Fasciola hepatica</i> , <i>Trichinella</i> , <i>Toxoplasma</i> , <i>Neospora</i> , <i>Plasmodium</i>). Инвазии эктопаразитами легкой и средней степени тяжести без повторения (включая клещей, блох или мух у кроликов или голубей) [3]. Субклинические инфекции у иммунокомпетентных животных, вызванные возбудителями паразитарных заболеваний толстой кишки (лямблии, кокцидии трихостронгилезы, анкилостомы) [4]

<p>Средняя/ степень тяжести 2</p>	<p>Инфицирование патогенными дозами легочных червей (например, большой легочный червь, <i>Dictyocaulus viviparus</i>), тканевых паразитов (например, метацестоды эхинококка) и простейших крови (например, трипаносомы (включая <i>Trypanosoma brucei</i>, <i>Leishmania</i> и <i>Trypanosoma cruzi</i>), бабезии, плазмодии) [3]. Носитель либо неоднократно заражается одним и тем же паразитом, либо заражается один раз, но несколькими разными паразитами, что приводит к умеренной нагрузке на хозяина. Животное содержится в конкурентной системе, паразитарная нагрузка низкая. Примеры: повторное заражение крупного рогатого скота рогатыми мухами (одно заражение в неделю до снижения эффективности). Производство клещей на крупном рогатом скоте. Воздействие на неанестезированного носителя до 1 ч без возможности избегания и с максимальным количеством паразитов — 100 самок комаров [3]. Инфекции, вызванные патогенными дозами трихостронгилезов, легочных гельминтов, тканевых паразитов (например, метацестоды эхинококка, но только вначале; на поздних стадиях в зависимости от локализации возможен сильный стресс) и кровяных простейших (трипаносомы, бабезии). В принципе степень заражения эктопаразитами (например, клещами, блохами или мухами) от низкой до средней можно оценить как умеренную [4]</p>
<p>Тяжелая/ степень тяжести 3</p>	<p>Инфицирование высокими дозами <i>Fasciola hepatica</i> у овец, легочные черви, тканевые паразиты (например, метацестоды эхинококков), простейшие крови (трипаносоматиды, плазмодии, виды <i>Babesia</i>) или эктопаразиты у животных с ослабленным иммунитетом (включая чесоточных клещей) [3]. Тяжелая инфекция с возможными ранами. Примеры: массивная паразитарная нагрузка. Кишечные паразиты овец [3]. Инфекции, вызванные высокими дозами трихостронгилезов, легочных гельминтов, тканевых паразитов (например, метацестоды эхинококков), простейших крови (трипаносомы, плазмодии, бабезии) или эктопаразитов (например, чесоточные клещи) [4]</p>

2.6. Микотические инфекции

<p>Безвредная/ степень тяжести 0</p>	<p>Нет информации</p>
<p>Легкая/ степень тяжести 1</p>	<p>Индукция геотрихозов, без зуда [4]</p>
<p>Средняя/ степень тяжести 2</p>	<p>Применение малопатогенных грибов, таких как <i>Rhodotorula rubra</i> или <i>Candida glabrata</i>, на спине морской свинки с сахарным диабетом [4]</p>
<p>Тяжелая/ степень тяжести 3</p>	<p>Индукция легочного аспергиллеза (аллергические реакции, вызванные спорами аспергиллеза) [4]</p>

3. Неврология и органы чувств

3.1. Судороги и припадки

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Эксперименты с конвульсиями, которые приводят к немедленной потере сознания (полная конвульсия), если животные не приходят в сознание или предварительно подвергаются эвтаназии. Примеры: максимальный электрошок [3]
Средняя/ степень тяжести 2	Фокальные периодические припадки или генерализованные припадки, при которых животное быстро теряет сознание, а затем не приходит в себя в какой-либо момент перед смертью, могут считаться умеренными или даже легкими [2]. Кратковременные периодические генерализованные припадки можно считать умеренными, если животные выздоравливают с незначительными и кратковременными постиктальными симптомами и между эпизодами выглядят нормальными [2]. Конвульсивные эксперименты, которые не приводят к немедленной потере сознания, если животные не приходят в сознание или предварительно подвергаются эвтаназии [3]. Примеры: модель Petit mal* [3]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Более длительные генерализованные припадки (более 1 ч) с восстановлением обычно считаются тяжелыми [2]. Судорожные опыты, не приводящие к полной потере сознания (неполные судороги), или животные приходят в сознание после прекращения судорог. Примеры: введение спазмогенных доз пентилентетразола, N-метил-D-аспартата, пикротоксина, йохимбина, стрихнина или каината [3]

*Примечание. * Эпилептический статус Petit mal (эпилептический статус абсансов) характеризуется малыми припадками с полным выключением сознания, приступ продолжается от нескольких секунд и до полуминуты и чаще всего не замечается окружающими.*

3.2. Паралич

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Нет информации

Средняя/ степень тяжести 2	Паралич можно считать средней степени тяжести при следующих сценариях. Частичный паралич, не препятствующий передвижению по вольеру или другой нормальной деятельности, при котором животное способно есть самостоятельно, когда пища дается при нормальных условиях. Очень кратковременный (менее 24 ч) тотальный паралич задних конечностей только у мелких грызунов, причем животные еще способны передвигаться по клетке [2]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Паралич или гемипарез у более крупных видов, где воздействие, вероятно, будет значительно выше, чем для человека, обычно классифицируется как тяжелый [2]. Состояния, приводящие к параличу конечностей (длительностью более одного дня у крыс и мышей) или любой квадриплегии/парезу на любой период и к параличу любой продолжительности в сочетании с такими признаками, как заметная потеря массы тела или изменения в поведении (например, агрессия к животным, проживающим в той же клетке/вольере), вероятно, будут серьезными [2]

3.3. Поражение ЦНС

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Подавление определенных ядер или проводящих путей под анестезией без изменения общего состояния животных (включая кормление/сон/социальные взаимодействия/беспокойство). Примеры: генетически модифицированные животные с расстройствами ЦНС [3]
Средняя/ степень тяжести 2	Подавление определенных ядер или проводящих путей под анестезией с умеренным изменением общего состояния животных (включая кормление/сон/социальные взаимодействия/беспокойство). Примеры: односторонняя модель с б-гидроксидофамином болезни Паркинсона (модель Ungerstedt)*. Обратимое угнетение областей мозга с использованием гипотермии. Вирусные модели генетических нарушений. Поражения корково-лобной доли. Угнетение эфферентного двигательного пути. Вирусные модели генетических нарушений. Генетически модифицированные животные с расстройствами ЦНС. Электрические или химически индуцированные поражения ЦНС [3]. Имплантация постоянных катетеров в желудочки головного мозга или электродов в головной мозг без ограничения движения. Гипофизэктомия с заместительной гормональной терапией [4]

<p>Тяжелая/ степень тяжести 3</p>	<p>Подавление определенных ядер или проводящих путей под анестезией с нарушением общего состояния животных (включая кормление/сон/социальные взаимодействия/беспокойство). Примеры: модели с абляцией относительно больших участков коры головного мозга [3]. Исследования травм. Модели, вызывающие тяжелые, клинически проявляющиеся эндокринные расстройства, например, гипофизэктомия без заместительной гормональной терапии [4]</p>
--	---

Примечание. * Ungerstedt, U. (1968). 6-hydroxy-dopamine induced degeneration of central monoamine neurons. *Eur. J. Pharmacol.* 5, 107–110. DOI: [10.1016/0014-2999\(68\)90164-7](https://doi.org/10.1016/0014-2999(68)90164-7).

3.4. Ишемия

<p>Безвредная/ степень тяжести 0</p>	<p>Нет информации</p>
<p>Легкая/ степень тяжести 1</p>	<p>Индукция микроинфарктов по установленным методикам, если они приводят исключительно к кратковременным функциональным нарушениям. Примеры: введение микросфер с радиоактивной меткой (модель микроэмболии или множественного инфаркта). Модель «бенгальской розы»* с активацией облучением [3]</p>
<p>Средняя/ степень тяжести 2</p>	<p>Индукция ишемии под наркозом по установленным методикам, если у животных после прихода в сознание не наблюдается выраженных функциональных нарушений. Примеры: модель Левина на крысе. Двусторонняя лигатура на сонные артерии у крысы на 30 мин. Модель Пузинелли — ишемия до 20 мин. Кратковременная нормобарическая гипоксия у мышей. Двусторонняя лигатура на сонные артерии у песчанки на 5–30 мин (в зависимости от штамма) [3]</p>
<p>Тяжелая/ степень тяжести 3</p>	<p>Индукция ишемии под анестезией, если у животных обнаруживаются значительные функциональные нарушения после прихода в сознание. Примеры: окклюзия средней мозговой артерии у крыс и мышей (MCAO). Постоянная односторонняя лигатура сонной артерии у песчанки. Все модели церебральной ишемии с эпизодами ишемии длительностью более 15 мин [3]</p>

Примечание.* 4,5,6,7-тетрахлор-2',4',5',7' -тетрайодфлуоресцеин.

3.5. Зрение

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Электроретинография (ЭРГ) с использованием круглого или нитевидного электрода, наложенного на поверхность роговицы наркотизированных животных. Измерение зрачкового светового рефлекса у наркотизированных животных. Визуализация [неинвазивная визуализация глазного дна с помощью сканирующего лазерного офтальмоскопа (SLO), камеры сетчатки или оптической когерентной томографии (ОКТ)] у наркотизированных животных. Внутриглазная инъекция (субретинальная или интравитреальная) у наркотизированных животных. Модель лазерной неоваскуляризации [3]
Средняя/ степень тяжести 2	Нет информации
Тяжелая/ степень тяжести 3	Нет информации

4. Эндокринные, алиментарные и метаболические заболевания

4.1. Эндокринология

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Введение тестируемого вещества с последующим забором крови однократно или через интервалы времени, предполагающее лишь легкое кратковременное ограничение подвижности, или эвтаназия для определения концентрации гормонов в крови [3]
Средняя/ степень тяжести 2	Модели, приводящие к клинически проявляющимся эндокринным нарушениям у животного при соответствующем лечении. Примеры: гипопизэктомия, адреналэктомия, тиреоидэктомия, паратиреоидэктомия. Спонтанный сахарный диабет с клиническими проявлениями. Модель ожирения у мышей с сахарным диабетом. Поражение блуждающего нерва. Стрептозоцин-индуцированный диабет с лечением [4]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Модели, приводящие к тяжелым клинически проявляющимся эндокринным нарушениям у животного (декомпенсация) без соответствующего лечения (заместительная гормональная терапия). Примеры: гипопизэктомия, адреналэктомия, тиреоидэктомия, паратиреоидэктомия, аллоксановый диабет, гипертиреоз, гиперкортицизм [3]. Сахарный диабет без лечения [4]

4.2. Метаболизм костной ткани

Безвредная/ степень тяжести 0	Примеры: введение витальных красителей с известными безвредными свойствами в питьевую воду или пищу для изучения развития зубов или костей <i>ex vivo</i> [3]
Легкая/ степень тяжести 1	Примеры: определение оссификации или резорбции костей <i>ex vivo</i> у крыс после многократного перорального введения испытуемого вещества. Определение оссификации у мышей путем маркировки синтеза матрикса после многократного перорального введения вещества [3]
Средняя/ степень тяжести 2	Примеры: овариэктомированные крысы для индукции потери костного матрикса [3]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Долговременные модели, приводящие к серьезным деформациям скелета или переломам у животного [3]

4.3. Метаболизм глюкозы

Безвредная/ степень тяжести 0	Голодание (вода <i>ad libitum</i>) взрослых животных не с нормальной массой тела в течение максимум 3 ч, затем забор небольшого количества крови. Примеры: определение уровня глюкозы в плазме натощак [3]
Легкая/ степень тяжести 1	Методы испытаний с аппликациями и забором образцов крови с интервалами, предполагающими легкое кратковременное ограничение подвижности животных, при длительных условиях ограничения подвижности. Примеры: введение с помощью инъекции или через зонд метаболического субстрата или гормона с последующим последовательным забором крови в течение нескольких часов. Пероральный или внутрибрюшинный глюкозотолерантный тест. Внутрибрюшинный тест на чувствительность к инсулину [3]
Средняя/ степень тяжести 2	Методы испытаний с аппликациями и забором образцов крови с интервалами, предполагающими умеренное кратковременное или умеренное ограничение подвижности животных. Примеры: зугликемический клэмп-метод. Гипогликемический клэмп-метод с последующей эвтаназией [3]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Нет информации

5. Новообразования

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	<p>Индукция опухолей или спонтанных опухолей, не вызывающая поддающихся обнаружению клинических побочных эффектов (например, небольшие подкожные неинвазивные узелки) [1].</p> <p>Модели с подкожными эндогенными опухолями, если эксперимент прекращают до того, как опухоль (в силу ее размеров и локализации) приведет к ухудшению общего состояния, цитостатики не вводят. Примеры: пассаж первичных опухолей и линий опухолевых клеток. Разведение и поддержание трансгенных или нокаутных моделей рака [3].</p> <p>Модели с подкожно локализованными опухолями, при которых у животного не наблюдают функциональных нарушений, цитостатики не вводят [4]</p>
Средняя/ степень тяжести 2	<p>Модели индукции опухолей или спонтанных опухолей, которые, как ожидается, будут вызывать умеренную боль или дистресс, или умеренное изменение нормального поведения [1].</p> <p>Модели с индукцией или трансплантацией опухолей или со спонтанным развитием опухоли, с применением экспериментальной терапии. Эксперименты прекращают до возникновения у животного раковой кахексии или другого прогрессирующего летального состояния либо клинически выраженных функциональных (в том числе эндокринных) или поведенческих нарушений (обусловленных размером, расположением или другими свойствами опухоли, либо метастазированием). Потеря массы тела максимально на 15%. Примеры: испытания экспериментальных методов лечения на трансплантационных моделях рака и на трансгенных или нокаутных моделях рака [3].</p> <p>Модели, не приводящие к опухолевой кахексии или другим прогрессирующим летальным состояниям либо отменяемые до появления функциональных нарушений у животного [4]</p>
Тяжелая/ степень тяжести 3	<p>Модели с индукцией опухолей или со спонтанными опухолями, которые, как ожидается, вызовут прогрессирующее летальное состояние, связанное с длительной умеренной болью, дистрессом или страданием. Например, опухоли, вызывающие кахексию, инвазивные опухоли костей, опухоли, приводящие к метастатическому распространению, и опухоли, которые могут изъязвляться [1].</p> <p>Модели с индукцией или трансплантацией опухолей либо со спонтанным развитием опухоли, вызывающие раковую кахексию или другое прогрессирующее летальное состояние либо не прекращающиеся до клинически выраженных функциональных (в том числе эндокринных) нарушений (из-за размера, локализации или других свойств опухоли либо метастазирования). Потеря массы тела максимально на 20%. Примеры: эксперименты с увеличением дозы. Модели терапии опухолей с конечными точками выживания [3].</p> <p>Модели, приводящие к опухолевой кахексии или другим прогрессирующим летальным состояниям или не отменяющиеся до появления функциональных нарушений у животного [4]</p>

6. Иммунология

6.1. Трансплантации

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Вмешательства, вызывающие легкую кратковременную боль или травму, а также незначительные местные изменения без нарушения функций организма или общего состояния. Примеры: подкожные трансплантации органов без физиологической функции у животных-реципиентов. Трансплантация сердец мышей подкожно за ухом мышам-реципиентам. Перенос иммунных клеток животному-реципиенту с легкой временной патологией или без нее. Животных-доноров усыпляют под глубоким наркозом после оперативного вмешательства [3]
Средняя/ степень тяжести 2	Трансплантации органов без физиологической функции у животных-реципиентов (за исключением подкожной локализации). Примеры: вторая трансплантация сердца в брюшную полость. Трансплантация островковых клеток под капсулу почки. Модели с пересадкой кожи без резкого ограничения движений. Перенос иммунных клеток, вызывающий транзиторное клиническое заболевание у животного-реципиента [3]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Трансплантация органов, когда отторжение органа может привести к серьезному дистрессу или ухудшению общего состояния животных (например, ксенотрансплантация) [1]. Трансплантация органов с физиологической функцией у животного-реципиента, недостаточность которой приводит к тяжелой нагрузке. Примеры: отторжение конечности после аллотрансплантации. Трансплантация почки, поджелудочной железы [3]

6.2. Клеточные реакции

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Опыты, вызывающие слабовыраженные местные тканевые реакции без нарушения функции организма или общего состояния. Примеры: местная реакция трансплантат против хозяина, гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ, реакция Джонса Моута) [3]
Средняя/ степень тяжести 2	Опыты, вызывающие местные тканевые реакции средней степени тяжести с преходящими нарушениями функций организма или общего состояния [3]

Тяжелая/ степень тяжести 3	Эксперименты, вызывающие генерализованные реакции отторжения тканей. Примеры: генерализованные реакции трансплантат против хозяина [3]
---------------------------------------	--

6.3. Аутоиммунные реакции

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Нет информации
Средняя/ степень тяжести 2	Нет информации
Тяжелая/ степень тяжести 3	Эксперименты, вызывающие генерализованные воспалительные реакции в организме. Примеры: острый и рецидивирующий экспериментальный аллергический энцефаломиелит. Ртуть-индуцированный гломерулонефрит. Экспериментальный увеоретинит. Перенесенный ревматоидный артрит [3]

6.4. Иммунизация

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Примеры: подкожная иммунизация адъювантами, не вызывающими гранулем. Внутрикожная иммунизация без адъюванта [3]. Без непоправимого повреждения тканей: подкожно, внутримышечно, внутривенно, ДНК, белки [4]
Средняя/ степень тяжести 2	Примеры: подкожная иммунизация кроликов, мышей, крыс или морских свинок с использованием полного адъюванта Фрейнда (или адъюванта с сопоставимым высоким содержанием минерального масла) без введения в ногу. Внутрикожная иммунизация с адъювантом или без него. Иммунизация небольшими количествами антигена непосредственно под капсулу селезенки (операция) или в лимфатический узел под общей анестезией. Туберкулиновая реакция после внутрикожного введения в стопу [3]. Внутрибрюшинно с адъювантом Фрейнда или образованием асцита без значительного увеличения объема. Внутримышечно с последующим некрозом в зависимости от размера и локализации (в зависимости от распространенности также может быть оценен как тяжелый) [4]

<p>Тяжелая/ степень тяжести 3</p>	<p>Любая иммунизация животных аутологичной тканью, которая приводит к аутоиммунному заболеванию, если эксперимент не прекращен заблаговременно, модель экспериментального аутоиммунного энцефаломиелимита с иммунизацией пептидом MOG (Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein) [3]. В подушечку лапы. Внутривенно с образованием асцита и увеличением объема. Внутримышечно с последующим некрозом в зависимости от размера и локализации [4]</p>
--	--

6.5. Иммунизм

<p>Безвредная/ степень тяжести 0</p>	<p>Нет информации</p>
<p>Легкая/ степень тяжести 1</p>	<p>Применение инактивированных бактерий, вирусов или паразитов (или их компонентов) без последующего заражения для проверки иммунного ответа, при исключительно слабовыраженной кратковременной местной воспалительной реакции (без инъекции в лапу). Примеры: применение вакцин [в том числе против гриппа лошадей, парвовирусов, ринопневмония (вирусный аборт) лошадей] для последующего тестирования на иммуногенность. Валидация вирусной вакцины в полевых испытаниях [3]</p>
<p>Средняя/ степень тяжести 2</p>	<p>Применение инактивированных бактерий, вирусов или паразитов (или их компонентов) без последующего заражения для проверки иммунного ответа при выраженной воспалительной реакции [3]</p>
<p>Тяжелая/ степень тяжести 3</p>	<p>Испытание активности вакцины характеризуется стойким ухудшением состояния животного, прогрессирующим заболеванием, приводящим к смерти, сопровождающимся длительной умеренной болью, дистрессом или страданием [1]. Применение инактивированных бактерий, вирусов или паразитов (или их компонентов) с последующим заражением (тесты на иммуногенность) для проверки иммунного ответа. Примеры: грипп, приводящий к тяжелым клиническим симптомам, таким как снижение температуры тела до 32 °C или ниже у мышей. Лимфоцитарный вирус хориоменингита [3]</p>

6.6. Воспаление

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Опыты, вызывающие слабовыраженные местные тканевые реакции без нарушения функции организма или общего состояния. Примеры: тест с арахидоновой кислотой на ухе мыши [3]. Антипирексия у крыс с липополисахаридом (0,1 мг/кг) или интерлейкином-1. Тест с арахидоновой кислотой на ухе мыши [4]
Средняя/ степень тяжести 2	Воспаление, вызывающее местные тканевые реакции средней степени тяжести с преходящими нарушениями функции организма или общего состояния. Примеры: индукция образования перитонеальных макрофагов дольше 3 дней (при введении обезболивающих во время эксперимента). Модель воздушного мешка у крысы. Скрининг противовоспалительных агентов у линий мышей со спонтанно возникающим аутоиммунным заболеванием (мыши MRL lpr/lpr)*. Все модели с острым отеком лапы, за исключением применения CFA (complete Freund adjuvant), с использованием измерения объема лапы в качестве критерия и с продолжительностью теста менее 6 ч. Модель псориаза: вызванная оксазолоном, гиперчувствительность замедленного типа на ушах мышей (покраснение, отек, воспаление) [3]. Модель воздушного мешка у крыс. Модель энцефаломиелита, при которой животные погибают при первом обострении. Скрининг противовоспалительных препаратов у линий мышей со спонтанно возникающим иммунопосредованным заболеванием [4]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Воспаление, вызывающее среднюю или длительную умеренную или сильную боль и страдания, а также травмы. Примеры: коклюшный плеврит у крыс и мышей. Модель рецидивирующего энцефаломиелита без эвтаназии животных во время первого эпизода. Модели острого отека задней лапы, включая инъекцию полного адьюванта Фрейнда, менее 7 дней. DSS-** и TNBS***-индуцированный колит. Перенос Т-клеток для индукции колита [3]. Коклюшный плеврит у мышей/крыс. Модель рецидивирующего энцефаломиелита без гибели животных при первом обострении. Модели болезни Зудека**** [4].

*Примечания. * MRL/lpr/lpr — линия высокоинбредных конгенных мышей (синтезируют большое количество IgM- и IgG-ревматоидных факторов, что проявляется развитием ревматоидного артрита). ** DSS — натриевая соль декстран сульфата (dextran sulphate sodium). *** TNBS — тринитробензолсульфоновая кислота (trinitrobenzene sulfonic acid). **** Симптомокомплекс, который развивается после травм, проявляется болями, нарушением функции конечности, трофическими расстройствами.*

6.7. Артрит

Безвредная / степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Коллаген-II-индуцированный артрит или адьювантный артрит с незначительными локальными изменениями тканей без клинических симптомов, таких как покраснение или отек пальца ноги или стопы [3]
Средняя/ степень тяжести 2	Опыты, вызывающие местные тканевые реакции средней степени тяжести с преходящими нарушениями функций организма или общего состояния. Примеры: тест Рэндалла–Селитто (тест «механической компрессии лапы»). Адьювантный артрит с эвтаназией животных при ограничении нагрузки на конечность. Коллаген-II-индуцированный артрит с симптомами поражения более чем одного пальца стопы. Эвтаназия животного в течение 14 дней после индукции артрита [3]. Адьювантный артрит с эвтаназией животных ранее, чем на 19-е сутки после возникновения артрита (эвтаназия при первых признаках проявления артрита). Коллаген-II-индуцированный артрит с ранним умерщвлением животных [4]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Артрит с тяжелыми клиническими симптомами и/или длительными ограничениями после индукции. Примеры: адьювантный артрит с воспалением и/или отеком всей лапы или анкилоз. Коллаген-II-индуцированный артрит с клиническими симптомами. Модель каррагенинового артрита. Индукция артрита у инбредных линий мышей спирохетами <i>Borrelia</i> . Аутоиммунный артрит. Артрит, вызванный ксеногенным или аутологичным коллагеном-II, с такими симптомами, как воспаление и/или отек всей лапы [3]. Адьювантный артрит при продолжительности эксперимента более 18 сут после возникновения артрита. Модель каррагенинового артрита. Индукция артрита у инбредных мышей спирохетами <i>Borrelia</i> [4]

6.8. Астма

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Примеры: бронхоскопия. Забор бронхоальвеолярного лаважа или исследование функции легких у наркотизированного животного. Прогрессирующая пассивная кожная анафилаксия. Индукция эозинофилии повторным внутрибрюшинным введением полимиксина В [3]

Средняя/ степень тяжести 2	Примеры: модели без дыхательной недостаточности. Накопление лейкоцитов в легких после ингаляции аллергенов и медиаторов воспаления у сенсibilизированного животного. Накопление лейкоцитов в брюшине после внутрибрюшинного введения аллергенов и медиаторов воспаления сенсibilизированному животному. Плетизмография всего тела [3]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Примеры: запуск анафилаксии. Острый респираторный дистресс-синдром (запуск эндотоксинового шока у животного в сознании) [3]

III. Фармакология и другие внешние причины

1. Физическое воздействие

1.1. Облучение и химиотерапия

Безвредная/ степень тяжести 0	Диагностика (DEXA*, сцинти-, рентгенография) [4]
Легкая/ степень тяжести 1	Облучение или химиотерапия, приводящие к иммунодефициту ограниченной продолжительности с последующим спонтанным восстановлением (все тело). Энергия облучения 400–450 рад в зависимости от нагрузки [3]. УФ-А- и УФ-В-облучение мышей. Энергия облучения: УФ-А — 50–100 Дж/см ² , УФ-В — 50–500 мДж/см ² , время облучения 2–15 мин [3]. В зависимости от дозы [4]
Средняя/ степень тяжести 2	Облучение или химиотерапия с использованием сублетальной дозы или смертельной дозы, но с восстановлением иммунной системы. Ожидается, что побочные эффекты будут легкими или умеренными и кратковременными (менее 5 дней) [1]. Облучение или химиотерапия с применением смертельной дозы с успешным восстановлением иммунной системы и тотальной лимфоидной деструкцией (всего тела). Примеры: частичное облучение с иммобилизацией животного с помощью фиксирующего устройства. Облучение всего тела с успешным восстановлением иммунной системы при содержании животных в клетках ИВЛ с антибиотическим покрытием (энергия облучения 450–900 рад в зависимости от нагрузки) [3]. Обратимое поражение тканей зависит от дозы [4]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Облучение или химиотерапия с использованием смертельной дозы без восстановления иммунной системы или восстановление с развитием реакции трансплантат против хозяина [1]. Облучение или химиотерапия с применением смертельной дозы без восстановления иммунной системы (всего тела) [3]. Необратимое повреждение тканей зависит от дозы [4]

Примечание. * Двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия [DXA, или DEXA (Dual-energy X-ray absorptiometry)].

1.2. Воздействие электричества

Безвредная/ степень тяжести 0	Физиологическая зона (60–90 мВ). Эрготерапия (разные виды животных часто имеют различный уровень чувствительности) [4]
Легкая/ степень тяжести 1	Электрофизиологические измерения под наркозом. Поведение избегания воздействия с возможностью избежать ситуации в зависимости от напряжения, силы тока и продолжительности (например, устройство пастбищного ограждения, 9 В, кратковременное) [4]
Средняя/ степень тяжести 2	Ситуации неизбежного воздействия в зависимости от напряжения, силы тока и продолжительности при обратимом повреждении тканей [4]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Неизбежный удар током (например, вызывающий выученную беспомощность) [1]. Ситуации неизбежного воздействия с более высоким напряжением и силой тока, а также большей продолжительностью при необратимом повреждении тканей [4]

1.3. Воздействие тепла

Безвредная/ степень тяжести 0	Реакция в тесте «горячей пластины» (Test Hot plate). Цель теста — вызвать реакцию, а не боль [4]
Легкая/ степень тяжести 1	Ожоги или ошпаривания I–III степени в определенных областях тела. Повреждение до 10% поверхности тела свиньи для моделирования лечения сильно обожженных людей, проводимого только под наркозом и с конечной искусственной комой [4]
Средняя/ степень тяжести 2	Индукция небольших локализованных ожогов I или II степени под анестезией с последующим обезболиванием при местном лечении тестируемыми веществами до 10% поверхности тела [3]. Ожоги или ошпаривания I–III степени определенных областей тела. Повреждение до 30% поверхности тела свиньи для моделирования лечения сильно обожженных людей, проводимого только под наркозом и с конечной искусственной комой [4]
Тяжелая/степень тяжести 3	Индукция небольших локализованных ожогов I или II степени под анестезией с последующим обезболиванием при местном лечении тестируемыми веществами. Повреждение до 20% поверхности тела [3]. Ожоги или ошпаривания I–III степени определенных областей тела. Повреждение до 50% поверхности тела свиньи для имитации лечения сильно обожженных людей, проводимой только под наркозом и с окончательной искусственной комой [4]

1.4. Воздействие холода

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Нет информации
Средняя/ степень тяжести 2	Мыши и другие мелкие грызуны, содержание при 4 °С для снижения внутренней температуры тела максимум до 31 °С для метаболических исследований, не более 4 ч один раз, свободный доступ к воде. Согревание на грелке [3]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Мыши и другие мелкие грызуны, содержание при 4 °С для снижения внутренней температуры тела максимум до 31 °С для метаболических исследований, более 4 за один раз, свободный доступ к воде. Согревание на грелке [3]

1.5. Воздействие кислот и оснований

Безвредная/ степень тяжести 0	В зависимости от концентрации и вида, количества, способа применения, продолжительности [4]
Легкая/ степень тяжести 1	
Средняя/ степень тяжести 2	
Тяжелая/ степень тяжести 3	

1.6. Травматизация

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Нет информации
Средняя/ степень тяжести 2	Под наркозом: трепанация черепа. Без выхода из наркоза: хирургические методы; замена ткани; перелом костей, заживление ран; закрытые травмы мышечной ткани [4]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Под наркозом: перелом костей, заживление ран. Закрытые травмы мышечной ткани без обезболивания (модели болезни Зудека). Хирургические методы, замена тканей. Формирование и последующее лечение черепно-мозговых травм [4]

1.7. Изменение давления

Безвредная/ степень тяжести 0	Естественное давление воздуха [4]
Легкая/ степень тяжести 1	Изменение давления в зависимости от времени и площади воздействия [4]
Средняя/ степень тяжести 2	
Тяжелая/ степень тяжести 3	

1.8. Звук и ультразвук

Безвредная/ степень тяжести 0	В зависимости от уровня децибел (до 70 дБ) [4]
Легкая/ степень тяжести 1	Измерения у животных под седацией при внутривенном или внутрибрюшинном введении веществ. Примеры: тестирование контрастных веществ с помощью эхографии образцов [3]. В зависимости от уровня децибел (до 85 дБ) [4]
Средняя/ степень тяжести 2	В зависимости от уровня децибел (от 85 дБ и более) [4]
Тяжелая/ степень тяжести 3	В зависимости от уровня децибел (от 100 дБ и более) [4]

1.9. Магнитные поля

Безвредная/ степень тяжести 0	Диагностика ЯМР [4]
Легкая/ степень тяжести 1	ЯМР-измерения у наркотизированных животных [3]
Средняя/ степень тяжести 2	ЯМР-измерения под седацией [3]
Тяжелая/ степень тяжести 3	ЯМР-измерения у животного, находящегося в сознании [3]

Примечание. ЯМР — ядерно-магнитный резонанс.

1.10. Хроническая гипоксия

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Нет информации
Средняя/ степень тяжести 2	Мыши в кислородной палатке (100% O ₂) с постепенным снижением концентрации O ₂ в течение 6 ч до конечной концентрации O ₂ до 8% [3]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Мыши в кислородной палатке (100% O ₂) с постепенным снижением концентрации O ₂ в течение 2 ч до конечной концентрации O ₂ до 8% [3]

2. Генерация боли

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	<p>Эксперименты, вызывающие умеренную кратковременную боль на уровне болевого порога с небольшим отеком тканей. Примеры: подошвенный тест. Тест с использованием нитей фон Фрея или тест Рэндалла–Селитто (тест «механической компрессии лапы») без воспаления или невропатии (метод Харгривса)*. Тест «горячей пластины» (Hot plate test) или тест «холодной пластины» (cold plate test). Тест на отдергивание хвоста (Tail flick test). Испытание на погружение хвоста (Tail immersion test) [3].</p> <p>Эксперименты, вызывающие кратковременную легкую боль: тест «горячей пластины». Тест на отдергивание хвоста без удерживающего устройства. Испытание на погружение хвоста. Тест на корчи с применением 0,25 мл разбавленной суспензии фенил-п-бензохинона 0,02% в трагаканте 0,4% [4]</p>
Средняя/ степень тяжести 2	<p>Боль любой значительной интенсивности, длится не более нескольких часов и не считается сильной по характеру, судя по видово-специфическим критериям (например, повторная вокализация/стойкая самотравма у грызунов) [2].</p> <p>Многие модели хронической боли, в том числе те, которые связаны с небольшими хирургическими процедурами, такими как перевязка нерва, и в том числе, когда это проводится без послеоперационной анальгезии, как правило, вызывают аллодинию, а не постоянную боль. Когда необходимы методы обнаружения боли, чтобы отличить этих животных от нормальных, они не считаются страдающими длительной болью, и их состояние классифицируется как средняя степень тяжести [2].</p>

	<p>Эксперименты, вызывающие кратковременную умеренную боль или умеренную боль от средней до продолжительной. Примеры: формалиновая проба, вызывающая болевые реакции продолжительностью не более 60 мин. Местная подкожная инъекция капсаицина. Введение паклитаксела и индуцированная токсинами невропатия. Тест на корчи с использованием менее 0,2 мл 2% уксусной кислоты или 0,4 мл 1% водного раствора уксусной кислоты. Все модели с острым отеком лапы (например, подкожный зимозан А) с отдергиванием в качестве критерия реакции. Химически индуцированная модель подострой боли. Тест на корчи при введении 0,25 мл водной суспензии фенил-п-бензохинона 0,02% [3].</p> <p>Эксперименты, которые вызывают кратковременную умеренную боль или хроническую слабую боль без существенных ограничений движения: все модели с острым отеком лапы с параметром «отдергивание». Все модели с острым отеком лапы с параметром «объем лапы», продолжительность эксперимента менее 6 ч. Тест на отдергивание хвоста с фиксатором. Тест на корчи с введением менее 0,2 мл 2% уксусной кислоты или 0,4 мл 1% уксусной кислоты. Тест на корчи с применением спиртового раствора фенил-п-бензохинона 0,02% в трагаканте 0,4% [4]</p>
<p>Тяжелая/ степень тяжести 3</p>	<p>Болевые ощущения животных, подвергающихся процедурам, которые вызывают хроническую незначительную боль или дискомфорт, или дисфункцию, такую как изменение походки, обычно классифицируются как умеренные. Более высокий уровень сохраняющейся боли, такой как хромота без нагрузки и улучшения даже при отсутствии других признаков сильной боли, будет считаться тяжелым, если не может быть поставлен диагноз, указывающий на то, что состояние связано с болями меньшей интенсивности [2].</p> <p>Животные проявляют явные признаки боли в течение длительного периода без улучшения, например, при постоянном облизывании пораженной части тела в течение более 3 ч в такой модели, как инъекция формалина в подушечку лапы, тогда их следует классифицировать как тяжелые [2].</p> <p>Модели острой боли, такие как тест на корчи или оценка висцеральной боли с помощью надувания баллона, могут инициировать более сильную боль. В тех случаях, когда боль недостаточна, чтобы вызвать дистресс, и вся болевая симптоматика длится не более 3 ч, эти процедуры будут классифицироваться как умеренные [2].</p>

	<p>Эксперименты, вызывающие сильную боль с серьезным нарушением подвижности, с обезвоживанием и потерей массы тела или поведением с аутоотравмиранием и аутоотомией. Примеры: боль при раке кости. Хроническое констрикторное повреждение седалищного нерва, лигирование спинно-мозгового нерва и щадящее повреждение нерва без аутоотомии [3].</p> <p>Эксперименты, которые вызывают кратковременную сильную боль или хроническую умеренную или сильную боль со значительными ограничениями движения или без них: все модели с острым отеком лапы с параметром «вокализация». Все модели с острым отеком лапы, продолжительность эксперимента более 6 ч. Применение болевых раздражителей без возможности избегания. Тест на корчи с введением более 0,2 мл и более 2% уксусной кислоты. Нанесение анатомических и физиологических повреждений в сочетании со стрессом или дистрессом [4]</p>
--	--

Примечание. * Hargreaves K., Dubner R., Brown F., Flores C., Joris J. A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. *Pain*. 1988; 32 (1):77–88.

3. Фармакологические исследования

3.1. Фармакокинетические исследования

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	<p>Фармакокинетическое исследование, при котором вводится однократная доза и берется ограниченное количество образцов крови (всего менее 10% объема циркулирующей крови) и ожидается, что вещество не вызовет каких-либо обнаруживаемых побочных эффектов [1].</p> <p>Примеры: введение веществ и забор крови через венозный катетер свободноподвижным крысам и мышам с интервалами от нескольких минут до нескольких часов с замещением отбираемых объемов крови плазмозаменителем или донорской кровью, с пребыванием или без пребывания в метаболической клетке менее 7 дней. Инфузии свободноподвижным крысам через сосудистый катетер без пребывания в метаболической клетке. Инфузии у собаки на подвесном поясе в течение менее 4 ч с мочевым катетером или без него. Нанесение испытуемого вещества в нетоксичных дозах с последующей эвтаназией животных (связывание лекарство-рецептор <i>ex vivo</i>, тканевый уровень по автордиографии) [3]</p>

<p>Средняя/ степень тяжести 2</p>	<p>Частое применение испытуемых веществ, вызывающих умеренные клинические эффекты, и изъятие образцов крови (более 10% объема циркулирующей крови) у животного в течение нескольких дней без восполнения объема [1].</p> <p>Исследования, которые, как ожидается, вызовут преходящие умеренные или хронические легкие реакции (местные или системные) и не вызовут серьезного стресса у животных из-за способа введения или путей сбора образцов.</p> <p>Примеры: введение испытуемого вещества и забор крови свободноподвижным крысам с интервалами от нескольких минут до часов через венозный катетер, без замещения отбираемых объемов крови плазмозаменителем или донорской кровью, с/без пребывания в метаболической клетке до 14 дней. Измерение концентрации вещества в головном мозге или большой цистерне у крыс с использованием метода микродиализа или хронически имплантированной канюли в большую цистерну. Свободноподвижная крыса с желчным свищом менее 4 дней. Всасывание вещества через кожу у мини-свиньи (метаболическая клетка менее 30 дней, постоянный катетер) [3]</p>
<p>Тяжелая/ степень тяжести 3</p>	<p>Исследования, вызывающие длительную умеренную или сильную боль и травмы. Примеры: крысы с желчными фистулами или лимфатическими фистулами со значительным ограничением свободы передвижения [3]</p>

3.2. Исследования токсичности в целом

<p>Безвредная/ степень тяжести 0</p>	<p>Нет информации</p>
<p>Легкая/ степень тяжести 1</p>	<p>Острые исследования по установлению диапазона доз, тесты на хроническую токсичность/канцерогенность с нелетальными конечными точками [1].</p> <p>Исследования токсичности, которые, как ожидается, вызовут преходящие легкие реакции (местные или системные) и не вызовут существенной нагрузки на животных из-за способа введения или путей сбора образцов. Примеры: тесты на генетическую токсичность [3].</p> <p>Исследования совместимости, в которых животные из-за типа применения или отбора проб подвергаются только легкому стрессу, при этом следует ожидать только временных, легких местных или системных реакций. Процедуры без выхода из наркоза. Кратковременные принудительные меры в сочетании с небольшой болью/страданием [4]</p>

<p>Средняя/ степень тяжести 2</p>	<p>Исследования токсичности, которые, как ожидается, вызовут преходящие умеренные или хронические легкие реакции, местные или системные и не вызовут серьезного стресса у животных из-за способа введения или путей сбора образцов (летальных исходов не ожидается). Примеры: тесты на острую токсичность и тесты на острую переносимость у собак. Тесты на подострую и субхроническую токсичность. Длительные исследования на грызунах, кроликах и собаках. Тесты биоаккумуляции у рыб. Тесты на хроническую токсичность/тесты на канцерогенность при пероральном введении тестируемых веществ. Репродуктивные токсикологические тесты. Токсикокинетика при пероральном введении тестируемого вещества и сборе биологических жидкостей [3].</p> <p>Исследования токсичности, в которых животные из-за типа применения или отбора проб не подвергаются серьезному стрессу, при этом следует ожидать постоянных, умеренных местных или системных реакций. Летальности не ожидается. Процедуры под наркозом с выходом из наркоза и незначительными последующими повреждениями (без обезболивания). Краткосрочные принудительные меры, сочетающиеся со значительной болью/страданием. Постоянные принудительные меры (например, жакет для инфузионной помпы) в сочетании с небольшим стрессом [4]</p>
<p>Тяжелая/ степень тяжести 3</p>	<p>Исследования токсичности, которые вызывают длительную умеренную или сильную боль и травмы или могут привести к смерти. Примеры: те же тестовые модели, что и для степени серьезности 2 с ожидаемыми серьезными последствиями [3].</p> <p>Исследования токсичности, в которых индуцируются тяжелые патофизиологические состояния, и ожидается летальный исход. Процедуры под наркозом с выходом из наркоза, при которых необходима последующая анальгезия, или требуются более длительные периоды выздоровления [4]*.</p>

*Примечание. * Это в основном исключительный случай, когда лабораторные животные в тестах на токсичность подвергаются умеренному стрессу, поскольку в руководствах ОЭСР в основном требуется самая высокая тестируемая доза (обычно из 2–3 групп дозирования), чтобы вызвать явные токсические эффекты.*

3.3. Острая токсичность (например, OECD 402–406, 420, 423, 425, 429)

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Тесты на острую токсичность, местную токсичность и на сенсибилизацию, ограниченные фазой индукции (например, LLNA)* и без использования адъюванта, при которых можно ожидать только легкие патофизиологические реакции и отсутствие летальных исходов [4]
Средняя/ степень тяжести 2	Острые исследования по установлению диапазона доз, тесты на хроническую токсичность/канцерогенность с нелетальными конечными точками [1]. Тесты на острую токсичность и местную переносимость, при которых ожидаются умеренные патофизиологические реакции и отсутствие летальных исходов. Тесты на чувствительность с применением адъюванта или провокационной пробы (например, тесты на максимизацию, оптимизацию), при которых ожидаются умеренные патофизиологические реакции [4]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Тестирование на токсичность, при котором смерть является конечной точкой или ожидается летальный исход и индуцируются тяжелые патофизиологические состояния. Например, тестирование на острую токсичность однократной дозы [1]. Испытания на острую токсичность, при которых следует ожидать тяжелых патофизиологических состояний или смертельных исходов, местные испытания на переносимость и сенсибилизирующие испытания, при которых следует ожидать тяжелых местных или системных реакций [4]

Примечание. * *Local lymph node assay* — анализ местных лимфатических узлов у мышей представляет собой тест *in vivo* на сенсибилизацию кожи.

3.4. Подострая токсичность (например, OECD 407–413, 424)

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Испытания на подострую и субхроническую токсичность с повторным применением до 3 мес, когда не ожидается никаких реакций или отмечаются только легкие патофизиологические состояния без летальных исходов [4]

Средняя/ степень тяжести 2	Испытания на подострую и субхроническую токсичность при повторном применении до 3 мес, когда не следует ожидать умеренных патофизиологических реакций и отсутствия летальных исходов [4]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Испытания на подострую и субхроническую токсичность при повторном применении до 3 мес, когда следует ожидать тяжелых патофизиологических реакций и летальных исходов [4]

3.5. Хроническая токсичность (например, OECD 451–453)

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Испытания на хроническую токсичность/тесты на канцерогенность с применением тестируемого вещества в продуктах питания или питьевой воде, при которых не ожидается или ожидается только легкие патофизиологические реакции и отсутствие летальных исходов [4]
Средняя/ степень тяжести 2	Испытания на хроническую токсичность/тесты на канцерогенность при пероральном применении испытуемого вещества, при которых следует ожидать умеренных патофизиологических реакций и отсутствия летальных исходов — парентеральное, подкожное и ингаляционное применение при незначительной боли или стрессовом воздействии [4]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Испытания на хроническую токсичность/тесты на канцерогенность, при которых применение тестируемого вещества сочетается со значительной болью или стрессовым воздействием или когда ожидаются тяжелые патофизиологические реакции или летальные исходы [4]

3.6. Репродуктивная токсикология (например, OECD 414–416, 421–422)

Безвредная / степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Репродуктивные токсикологические тесты в одном или нескольких поколениях, при которых не ожидается никакой токсичности или ожидается лишь незначительная токсичность для матери, а выжившие потомки, как рассчитывают, будут испытывать незначительное воздействие — тесты на токсичность для пренатального развития (тесты на тератогенность), при которых патофизиологические реакции отсутствуют или проявляются только в легкой форме и никаких летальных исходов не ожидается [4]

Средняя/ степень тяжести 2	Репродуктивные токсикологические тесты в одном или нескольких поколениях, когда ожидается умеренная материнская токсичность (имеется в виду эффект, превышающий таковой при незначительном снижении прироста массы тела) или выжившее потомство, как рассчитывают, испытает умеренное воздействие — тесты на токсичность пренатального развития (тесты на тератогенность), при которых следует ожидать умеренных патофизиологических реакций и отсутствия летальных исходов [4]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Репродуктивные токсикологические тесты в одном или нескольких поколениях, когда ожидается значительная материнская токсичность, а выжившее потомство, как ожидается, испытает значительное воздействие — тесты на токсичность внутриутробного развития (тесты на тератогенность), в которых предполагаются тяжелые патофизиологические реакции и летальные исходы [4]

3.7. Серийное тестирование

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Исследования, которые, как ожидается, вызовут преходящие легкие реакции, местные или системные и окажут только легкое воздействие на животных из-за способа введения или путей сбора образцов. Примеры: применение серий вакцин для последующего тестирования иммунитета в соответствии с European Pharmacopoeia [3]
Средняя/ степень тяжести 2	Исследования, которые, как полагают, вызовут преходящие умеренные или хронические легкие реакции, местные или системные, и не вызовут серьезного стресса у животных из-за способа введения или путей сбора образцов [3]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Серийное тестирование, которое вызывает длительную умеренную или сильную боль и травму или может привести к смерти. Пример: аномальная токсичность. Испытания эффективности серий вакцин (испытания антигенной эффективности). Испытания биологической активности гормона роста на гипопизэктомизированных крысах [3]

IV. Жилье, окружающая среда и поведение

1. Жилье и питание

1.1. Жилье в целом

<p>Безвредная/ степень тяжести 0</p>	<p>Неинвазивное наблюдение за нормальным поведением без беспокойства животного [5]. Жилье, отвечающее минимальным требованиям законодательства о защите животных. Примеры: исследования предпочтений с подстилкой различного качества (для улучшения жилищных условий). Содержание крыс в соответствии с законодательством о защите животных для этологических наблюдений [3]. Тестирование типов животноводства в соответствии с правилами и общепринятой передовой практикой [4]</p>
<p>Легкая/ степень тяжести 1</p>	<p>Содержание немного не соответствует минимальным требованиям законодательства о защите животных, других отклонений от минимальных требований нет. Примеры: одиночное содержание без сенсорной депривации до 7 дней. Мыши и крысы группами в метаболических клетках (например, с решетчатым полом или полом ниже минимальной площади) с возможностью выхода и возвращения до 7 дней. Собаки на подвесном поясе до 4 ч. Содержание собак в группах без движения в течение до 2 нед [3]. Вся маркировка при отлове осуществляется современными методами [трансмиссивтер (передатчик) до 5% от массы тела] [4]</p>
<p>Средняя/ степень тяжести 2</p>	<p>Условия содержания явно не соответствуют минимальным требованиям законодательства о защите животных или немного не соответствуют требованиям в течение длительного периода времени. Примеры: изолированное содержание с сенсорной депривацией до 7 дней. Мыши и крысы группами в метаболических клетках с возможностью выхода и возвращения до 14 дней. Содержание свиней без среды обогащения до 2 нед [3]</p>
<p>Тяжелая/ степень тяжести 3</p>	<p>Нет информации</p>

1.2. Использование метаболических клеток

Безвредная/ степень тяжести 0	Стресс зависит от различных факторов (например, температуры окружающей среды, пространственных ограничений с фиксацией и без нее, социальных контактов, вида подстила, продолжительности) и значительно варьирует от вида к виду. Тяжесть испытанного стресса необходимо оценивать индивидуально с учетом определяющих факторов и соответствующих видов животных, и она не может быть приведена здесь в табличной форме. Для каждого вида животных следует учесть, чем лучше размещены животные, тем менее стрессовым для них является тестирование, или тем дольше могут длиться тесты. Поскольку у животных отсутствует чувство времени, каждая фиксация становится для них сильным стрессом, если они к этому не привыкли (позитивное обучение). Методы содержания, используемые в сельском хозяйстве, не могут использоваться в качестве соответствующих рекомендаций (например, стойла для опороса, привязные стойла) [4]
Легкая/ степень тяжести 1	Кратковременное (менее 24 ч) ограничение движения в метаболических клетках [1]
Средняя/ степень тяжести 2	Использование метаболических клеток с умеренным ограничением движения в течение длительного периода (до 5 дней) [1]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Использование метаболических клеток с серьезным ограничением движения в течение длительного периода времени [1]

1.3. Депривация. Лишение воды

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Депривация воды при сухом кормлении с последующим свободным доступом к воде или возможностью компенсации влажным кормом у взрослых животных. Примеры: взрослые мыши и крысы до 15 ч. Взрослые плотоядные и сельскохозяйственные животные до 15 ч. Взрослые кролики до 6 ч [3]. Лишение до 12 ч [4]
Средняя/ степень тяжести 2	Длительная водная депривация при сухом кормлении с последующим свободным доступом к воде или возможностью компенсации у взрослых животных. Примеры: взрослые крысы и мыши до 18 ч. Взрослые крысы и мыши до 12–23 ч при постепенном ограничении периода водной депривации. Взрослые кролики до 12 ч. Взрослые плотоядные и сельскохозяйственные животные до 18 ч [3]. Лишение на 12–24 ч [4]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Длительное лишение воды. Примеры: лишение воды всех взрослых крыс и мышей до 23 ч [3]. Лишение более чем на 24 ч [4]

1.4. Депривация. Лишение корма

Безвредная/ степень тяжести 0	<p>Изыятие пищи на срок менее 24 ч у взрослых крыс [1].</p> <p>Добавление инертных маркеров в рацион для отслеживания прохождения пищеварительного тракта [1].</p> <p>Использование при кормлении рациона, полностью удовлетворяющего пищевым потребностям животных [1].</p> <p>Дозирование исследуемого вещества в корме, когда животные ели нормально и не страдали от последствий введения дозы [2].</p> <p>Использование у взрослых животных физиологического рациона без нарушения минимальных требований законодательства о защите животных или потери массы тела до 5% от исходной в течение 2 нед.</p> <p>Примеры: тесты на вкусовые качества выбранных физиологических диет или напитков при свободном доступе к воде. Различные составы кормов для проверки развития массы тела свиней на откорме [3].</p> <p>Лишение пищи, например, в течение ночи, с последующими компенсаторными возможностями или эвтаназией.</p> <p>Пример: взрослые мыши и крысы до 15 ч [3].</p> <p>Депривация: менее 2 циклов питания [4]</p>
Легкая/ степень тяжести 1	<p>Кормление модифицированными диетами, которые не удовлетворяют всем пищевым потребностям животных и, как ожидается, вызывают легкие клинические отклонения в пределах временного масштаба исследования [1].</p> <p>Нефизиологическая диета без выраженных клинических симптомов или пищевая депривация для снижения массы тела. Примеры: использование диеты с высоким содержанием жиров у мышей на срок до 8 нед. Пищевая депривация взрослых животных, которая приводит к потере массы до 10% от первоначальной в течение 2 нед [3].</p> <p>Пищевая депривация с последующими компенсаторными возможностями или эвтаназией. Примеры: взрослые мыши и крысы до 24 ч. Взрослые плотоядные до 24 ч. Взрослые кролики до 12 ч. Грубый корм у взрослых жвачных до 24 ч [3].</p> <p>Депривация: 2 цикла питания [4]</p>
Средняя/ степень тяжести 2	<p>Исследования с модифицированными диетами, которые не удовлетворяют всем пищевым потребностям животных и, как ожидается, вызывают умеренные клинические отклонения в пределах временной шкалы исследования. Отказ от пищи на 48 ч у взрослых крыс [1].</p> <p>Нефизиологическая диета с выраженными клиническими симптомами или потерей массы тела до 20% исходной в течение 2 нед у взрослых животных. Примеры: атеросклероз без спонтанной смерти. Диабет и ожирение, приводящие к клинически значимым ограничениям органов/систем органов или естественного поведения [3].</p> <p>Длительное лишение пищи с последующей компенсацией депривации или эвтаназией. Примеры: взрослые мыши и крысы до 48 ч. Взрослые кошки до 24 ч. Взрослые собаки до 48 ч. Взрослые свиньи до 36 ч.</p> <p>Лишение грубого корма у взрослых жвачных до 48 ч [3].</p> <p>Лишение животных 3-х или 4-х циклов кормления [4]</p>

Тяжелая/ степень тяжести 3	<p>Диеты, приводящие к тяжелой клинической картине.</p> <p>Примеры: атеросклероз со спонтанной смертью. Диабет и ожирение со спонтанной смертью [3].</p> <p>Длительное лишение пищи. Примеры: депривация пищи у взрослых крыс на срок более 48 ч [3].</p> <p>Депривация: более 4 циклов питания [4]</p>
---------------------------------------	---

1.5. Воздействие чрезмерной стимуляции

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	<p>Незначительные, безболезненные или неинвазивные стрессовые факторы, такие как те, которые используются в протоколах хронического легкого стресса (повторяющиеся манипуляции, смена и затопление клетки, перемещение клетки, введение незнакомых особей в клетку, но без агрессии и т.д.). Исключаются аверсивные техники: использование электрошока в качестве негативного стимула на беговых дорожках и для выработки страха, а также стресс, вызванный принудительным плаванием. Для того чтобы реальная тяжесть была легкой, выздоровление должно наступать немедленно/быстро, при этом не должно оказываться длительное воздействие, которое становится очевидным при простом осмотре животного (хотя, конечно, могут быть, например, биохимические или поведенческие изменения, требующие специальных тестов для характеристики эффектов), или о чем (об этом) свидетельствует сенсibilизация к более поздним процедурам [2].</p> <p>Хронический легкий стресс. Примеры: модели(рование ситуации) с частым изменением условий окружающей среды на (у) крысах или мышах(ей). Повторное выдерживание лабораторных грызунов в небольшом боксе в течение часа. Модели циркадных ритмов [3].</p> <p>Стресс, приводящий к тревожной реакции. Кратковременный стресс до 24 ч [4]</p>
Средняя/ степень тяжести 2	Стресс, ведущий к фазе резистентности, хронический стресс. Модели без адаптации к стрессору [4]
Тяжелая/ степень тяжести 3	<p>Модели стресса без привыкания (адаптации) животного к раздражителю. Примеры: модели с частыми изменениями социального окружения у крыс или мышей. Экспериментальные модели, в которых лабораторные грызуны подвергаются воздействию шума, холодной воды и иммобилизации в течение 3 нед без какого-либо ритма, распознаваемого животными. Модели депрессии [3].</p> <p>Стресс, ведущий к фазе истощения. Модели с хроническими, часто меняющимися сильными стрессорами [4]</p>

2. Разведение и размножение

2.1. Метод идентификации и забор ткани для генотипирования

Безвредная/ степень тяжести 0	Экспериментальное маркирование и генотипирование неинвазивными методами. Примеры: маркировка красителем. Генотипирование по образцу волос [3]
Легкая/ степень тяжести 1	Поверхностные процедуры, например, биопсия уха и хвоста [1]. Инвазивное генотипирование проводят с использованием метода, вызывающего только преходящие боли, даже если фенотип не является вредным [2]. Экспериментальное мечение инвазивными методами и сбор тканей под наркозом для генотипирования взрослых животных. Примеры: татуировка, прокалывание ушей, микрочипирование у грызунов и кроликов. Экспериментальная биопсия кончика хвоста до 0,5 см. Ампутация кончика пальца в возрасте животного до 3 нед [3]
Средняя/ степень тяжести 2	Экспериментальные вмешательства по регулированию воспроизводства или генотипированию взрослых животных. Примеры: овариэктомия, кастрация [3]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Нет информации

2.2. Стволовые клетки

Безвредная/ степень тяжести 0	Сбор зародышевых клеток или эмбрионов для экспериментальных целей от мертвых материнских организмов, включая самок, предварительно обработанных гормонами для индукции суперовуляции. Использование яиц рыб и амфибий, если развивающиеся личинки умерщвлены до вылупления. Примеры: извлечение яиц у мышей, сбор эмбрионов крыс [3]
Легкая/ степень тяжести 1	Использование эмбрионов, плодов или личинок в экспериментальных целях, если они выживают после рождения, вылупления или метаморфоза, и ожидается лишь легкое поражение животных [3]
Средняя/ степень тяжести 2	Использование эмбрионов, плодов или личинок в экспериментальных целях, если они выживают после рождения, вылупления или метаморфоза, и ожидается лишь умеренное поражение животных. Сбор зародышевых клеток или нежизнеспособного материала на разных стадиях развития для экспериментальных целей от живых родительских животных (всех видов, включая <i>Xenopus</i>). Примеры: штаммы мышей, полученные с использованием онкогенов, если терминальные критерии выбраны соответствующим образом. Химический и радиационный мутагенез для получения линий животных с дефектами [3]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Нет информации

3. Генетически измененные животные

3.1. Характеристики фенотипа (вредный фенотип, выраженный клиничко-патологический фенотип)

<p>Безвредная/ степень тяжести 0</p>	<p>Разведение генетически измененных животных, у которых, как ожидается, не будет клинически обнаруживаемого вредного фенотипа [1].</p> <p>Животные могут считаться подпороговыми, если они рождаются и фактически не проявляют вредных фенотипов; или фенотип был малозаметным и не имел значения для благополучия; или из-за условий содержания фенотип не вызывал опасений за благополучие животного. Общие примеры вероятной классификации подпороговой тяжести: категории генетически измененных животных*, которые могут быть подпороговыми, учитывая характер генетического изменения: установленные гетерозиготы, несущие рецессивные аллели; штаммы, экспрессирующие репортерный ген, в которых отсутствует неблагоприятный фенотип; Cre-экспрессирующие линии, у которых нет других дефектов, например, в результате перекрестного скрещивания для создания мультигенных манипуляций. Животное любой породы, не прошедшее официальную оценку благополучия и разводимое в соответствии с лицензией проекта, если у особи не проявляются какие-либо заметные побочные эффекты и она не была генотипирована регулируемым методом.</p> <p>Иммунодефицитные животные, которые в течение жизни не болеют инфекциями и в остальном остаются здоровыми. Животные, эвтаназированные до появления какого-либо вредного фенотипа в линиях, где он прогрессирует с течением времени, но животные явно нормальные в начале своей жизни. Однако если известно, что у линии имеется заболевание, начавшееся с рождения, то вне зависимости от внешности подпороговую оценку дать нельзя, поскольку заболевание уже будет присутствовать, например, сахарный диабет с началом заболевания или пред-диабетическое состояние с рождения. У них регистрируется легкая степень тяжести или выше [2].</p> <p>Генетически модифицированная линия (спонтанная мутация или генетически измененная), используемая для экспериментов на животных без нарушенного фенотипа, и генетически модифицированные линии, благополучие которых может быть нарушено не генетической модификацией, а экспериментом на животных. Примеры: репортерные линии, такие как экспрессирующие зеленый флюоресцентный белок (GFP или EGFP). Условные и неиндуцированные индуцибельные генетически модифицированные линии [3].</p> <p>Фенотип не отличается от дикого типа** [4]</p>
---	---

<p>Легкая/ степень тяжести 1</p>	<p>Разведение генетически измененных животных, которое, как ожидается, приведет к фенотипу с умеренными последствиями [1].</p> <p>Неизвестный фенотип, ожидается, что он не будет вредным. Известный фенотип, для которого фактическая тяжесть предположительно будет подпороговой или легкой при соблюдении определенных условий. Эти условия будут прописаны в проекте.</p> <p>Классификация легкой степени тяжести уместна, когда животные демонстрируют отчетливый фенотип, но это не приводит к сокращению продолжительности жизни по сравнению с фоновым штаммом; не препятствует нормальному питанию и движению; не приводит к системному заболеванию, однако отмечается заметная разница в таких параметрах, как скорость роста, размер, анатомия или поведение. Классификация легкой степени тяжести может быть дана, если животные будут эвтаназированы в начале проявления болезни, при условии, что это не окажет существенного влияния на их благополучие. Классификация легкой степени тяжести может быть дана для неонатальных мышей и крыс, умерших из-за фенотипа в течение первых 5 дней после рождения (примечание: это относится только к смерти, связанной с фенотипом, другие повреждения, связанные с процедурой, следует рассматривать отдельно) [2].</p> <p>Генетически модифицированная линия (спонтанная мутация или генетически измененная) с легким нарушением фенотипа. Примеры: глухота, слепота. Аномалии зубов, не влияющие на потребление корма. Изолированные нарушения походки. Легкие нарушения координации. Иммунодефицитные животные в SPF-содержании [3].</p> <p>Фенотип с легкими нарушениями и легкой клинической картиной, например изменением липидов в крови** [4]</p>
<p>Средняя/ степень тяжести 2</p>	<p>Разведение генетически измененных животных, которое, как ожидается, приведет к фенотипу с умеренными эффектами [1]. Ожидается, что у животных, выращенных в соответствии с протоколами ограничения средней тяжести, разовьется фенотип, достаточный для того, чтобы вызвать заболевание, сравнимое с описанием средней степени тяжести. Ожидается, что болезнь не будет смертельной, и животные будут эвтаназированы до того, как какое-либо заболевание станет опасным для жизни. Можно дать классификацию средней степени тяжести для наиболее вредных фенотипов, которые не приводят к тяжелому заболеванию животных, их умиранию или смерти. Можно дать классификацию средней степени тяжести для большинства неоплазий***.</p>

	<p>Можно дать классификацию средней степени тяжести, если у животных проявляются следующие признаки: потеря массы тела; снижение прибавки массы по сравнению с соответствующими контрольными животными (например, однопометники дикого типа); нарушение питания, достаточное для снижения массы тела, чрезмерное увеличение массы тела, достаточное для того, чтобы вызвать заболевание; значительное нарушение нормального движения; или клинические признаки системного заболевания в пределах классификации средней тяжести [2].</p> <p>Генетически модифицированные линии (спонтанно-мутационные или генетически измененные) с умеренно нарушенным фенотипом. Примеры: болезнь Альцгеймера, Паркинсона [3].</p> <p>Фенотип с умеренными нарушениями и умеренной клинической картиной, например усилением агрессии, тревожности** [4]</p>
<p>Тяжелая/ степень тяжести 3</p>	<p>Разведение животных с генетическими нарушениями, у которых ожидается тяжелое и стойкое ухудшение общего состояния. Примеры: болезнь Гентингтона. Мышечная дистрофия. Модели хронического рецидивирующего неврита [1].</p> <p>Наиболее распространенные примеры: разведение гетерозиготных животных, которое приводит к тяжелым фенотипам у гомозиготного потомства, включая паралич, судороги, переломы, или рождение потомства с тяжелыми аномалиями развития или ожидаемой смертью до периода отъема.</p> <p>Племенное поголовье или потомство, которое сохраняет фенотип заболевания в категории тяжелой болезни, будет классифицироваться как тяжелое.</p> <p>Любые животные, найденные мертвыми, за исключением случаев, когда можно принять обоснованное решение (при этом маловероятно, что смерти предшествовали тяжелые страдания).</p> <p>Потомство крыс и мышей, найденное мертвым или съеденным после 5-го дня от рождения, или смерть новорожденных у других видов, вызванная агрессивным материнским поведением, когда потомство хорошо развито при рождении (например, свиньи), когда это связано с фенотипом, а не с животноводством. Причиной каннибализма, связанной с животноводством, может быть неисправность оборудования, приводящая к стрессу у родителей и, следовательно, не связанная с этой конкретной программой разведения [2].</p> <p>Генетически модифицированные линии (спонтанные мутации или генетически измененные) с сильно нарушенным фенотипом. Примеры: рак молочной железы, колит, остеопороз, болезнь почек, атеросклероз, старение, артрит, скелетные аномалии. Боковой амиотрофический склероз. Экспериментальный аллергический энцефаломиелит. Хорея Гентингтона [3].</p> <p>Фенотип с тяжелыми нарушениями и тяжелой клинической картиной, например гемофилия** [4]</p>

Примечания. * *National Competent Authorities for the implementation of Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes, CORRIGENDUM of 24 January 2013, Working document on genetically altered animals, Brussels, 23–24 January 2013;*
National Competent Authorities for the implementation of Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes. A working document on Genetically Altered Animals to fulfil the requirements under the Directive Replacing consensus document of 22–23 March 2012. Brussels, 25–26 November 2021.

** Поскольку помимо желаемых изменений могут быть и побочные эффекты, фенотип каждой линии необходимо оценивать всесторонне.

*** *Workman P., Aboagye E.O., Balkwill F., Balmain A. et al., Guidelines for the welfare and use of animals in cancer research. British Journal of Cancer. 2010. 102, 1555–1577. DOI: [10.1038/sj.bjc.6605642](https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6605642).*
 Дополнительную информацию о фенотипах и классификации тяжести можно найти в Руководстве по оценке тяжести и классификации генетически измененных линий мышей и крыс. [Guidelines on severity assessment and classification of genetically altered mice and rat lines](#)². В основу руководства легли два документа: [Severity classification of genetically altered animals under the Animals \(Scientific Procedures\) Act 1986, версия 2014](#)³, и [Advisory notes on recording and reporting the actual severity of regulated procedures, версия 2014](#)⁴.

3.2. Модели заболеваний на генетически измененных животных

Безвредная/ степень тяжести 0	Мутанты (спонтанные мутации или генетически измененные) без каких-либо клинически проявляющихся заболеваний, нарушений или аномалий [3]
Легкая/ степень тяжести 1	Мутанты (спонтанные мутации или генетически измененные) с легкими клинически проявляющимися заболеваниями, нарушениями или аномалиями. Примеры: мыши с иммунодефицитом, содержащиеся в условиях SPF. Мыши с ожирением, но без сахарного диабета. Крысы с гипертонией [3]
Средняя/ степень тяжести 2	Мутанты (спонтанно мутационные или генетически измененные) с клинически выраженными заболеваниями и/или нарушениями, которые компенсируются с помощью соответствующих терапевтических мероприятий. Примеры: мышь с ожирением и сахарным диабетом. Мышечная атрофия. Спонтанный сахарный диабет [3]
Тяжелая/степень тяжести 3	Мутанты (спонтанные мутации или генетически измененные) с тяжелыми клинически проявляющимися заболеваниями или нарушениями без терапии для уменьшения выраженности заболевания. Примеры: аутоиммунный артрит. Нокаутные животные с тяжелыми симптомами отказа. Мышь Арлекин (Harlequin) с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Боковой амиотрофический склероз. Лобно-височная долевая дегенерация [3]

² <https://norecopa.no/3r-guide/guidelines-on-severity-assessment-and-classification-of-genetically-altered-mice-and-rat-lines>.

³ https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/276015/AdviceSeverityAssessmentGA.pdf.

⁴ https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/662489/NotesActualSeverityReporting.pdf.

3.3. Получение генетически измененных животных

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Нет информации
Средняя/ степень тяжести 2	Создание генетически измененных животных с помощью хирургических процедур [1]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Нет информации

3.4. Забор тканей для генотипирования

Безвредная/ степень тяжести 0	Экспериментальное маркирование и генотипирование неинвазивными методами. Примеры: маркировка красителем. Генотипирование по образцу волос [3]
Легкая/ степень тяжести 1	Поверхностные процедуры, например, биопсия уха и хвоста [1]. Инвазивное генотипирование проводят с использованием метода, вызывающего только преходящие боли, даже если фенотип не является пагубным [2]. Экспериментальное мечение инвазивными методами и сбор тканей под наркозом для генотипирования взрослых животных. Примеры: татуировка, прокалывание ушей, микрочипы у грызунов и кроликов. Экспериментальная биопсия кончика хвоста до 0,5 см. Ампутация кончика пальца в возрасте до 3 нед [3]
Средняя/ степень тяжести 2	Экспериментальные вмешательства по регулированию воспроизводства или генотипированию взрослых животных. Примеры: овариэктомия, кастрация [3]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Нет информации

4. Поведение

4.1. Аверсивное обучение, условно-избегающее поведение и конфликтные тесты

Безвредная/ степень тяжести 0	Положительное подкрепление [4]
Легкая/ степень тяжести 1	<p>Модели, которые подвергают животных раздражителям, при этом на короткое время связанные с легкой болью, страданием или дистрессом, и животные могут успешно их избегать [1].</p> <p>Модели со стимулами/ноксами, которые не связаны с тревогой, и животное может успешно их избегать. Примеры: тест пассивного избегания. Тест активного избегания с интенсивностью раздражителей менее 0,5 мА в течение 1 с. Тест конфликта Гфеллера–Зейферта и тест лизания воды Vogel с интенсивностью стимулов менее 0,5 мА в течение 1 с. Реакция испуга [3].</p> <p>Модели с кратковременной легкой болью, страданием или страхом; животное способно успешно избегать ситуации [4]</p>
Средняя/ степень тяжести 2	<p>Вызывание реакции бегства и избегания, когда животное не может убежать или избежать раздражителя и, как ожидается, приведет к умеренному дистрессу [1].</p> <p>Модели со стимулами/ноксами, которые на короткое время связаны с умеренной болью, страданием или беспокойством, при этом животные могут успешно их избежать, или связанные с легкой болью, страданием или беспокойством, которых животные не могут избежать. Примеры: тест пассивного избегания. Тест активного избегания с интенсивностью раздражителей более 0,5 мА в течение 1 с. Тест конфликта Гфеллера–Зейферта и тест лизания воды Vogel с интенсивностью стимулов более 0,5 мА в течение 1 с в челночном ящике. Обусловливание страха [3].</p> <p>Модели с кратковременной умеренной болью, страданием или страхом; способность животного успешно избегать ситуации [4]</p>
Тяжелая/ степень тяжести 3	<p>Поведенческие эксперименты, вызывающие сильное напряжение. Примеры: тест принудительного плавания [тест Порсолта (Porsolt test)] у мелких грызунов. Аудиометрия у мышей в сознании. Хроническая социальная нестабильность. Хроническое социальное поражение [3].</p> <p>Модели с сильной болью, страданиями или страхами; неспособность животного избежать ситуации [4]</p>

4.2. Социальная депривация

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Исследования, включающие кратковременную депривацию социальных партнеров, кратковременное одиночное содержание в клетках взрослых крыс или мышей общительных линий [1]. Лишение социальных партнеров (за исключением разлучения родителей и потомства) при обонятельном, зрительном и акустическом контакте с сородичами. Примеры: одиночное содержание взрослых крыс или взрослых самок мышей до 7 дней [3]
Средняя/ степень тяжести 2	Примеры: контактный вызов цыплят. Разделение парных хомяков [3]. Перенаселение, повреждения, вызванные дракой. Полная изоляция социальных животных до 1 нед* [4]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Полная изоляция на продолжительное время социальных видов, например собак и нечеловеческих приматов [1]. Полная, постоянная социальная изоляция (в том числе обонятельная, оптическая и акустическая) особей стадных видов позвоночных. Одиночное содержание молодняка ранее нормального возраста отъема [3]. Перенаселение, смерть от стресса, полная изоляция социальных животных от 1 нед и более* [4]

*Примечание. * При сочетании двух факторов уровень стресса повышается автоматически.*

4.3. Депривация сна

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Смена фаз освещения с несколько удлиненными темными фазами и кратковременными нарушениями режима сна [4]
Средняя/ степень тяжести 2	Смена фаз освещения с умеренно удлиненными темными фазами и среднесрочными нарушениями режима сна [4]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Смена фаз освещения с сильно растянутыми темными фазами [4]

4.4. Депривация — движение и подвижность

Безвредная/ степень тяжести 0	Оценка состава тела с помощью неинвазивных мер и минимального ограничения [1]. По правилам животноводства [4]
Легкая/ степень тяжести 1	Ниже требований правил животноводства до 24 ч [4]
Средняя/ степень тяжести 2	Ниже требований правил животноводства более 24 ч и максимум до 7 дней [4]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Иммобилизационный стресс, вызывающий язву желудка или сердечную недостаточность у крыс [1]. Значительно ниже требований правил животноводства максимум до 4 нед [4]

4.5. Фармакологически индуцированное поведение

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Нет информации
Средняя/ степень тяжести 2	Модели с индукцией сложных модификаций поведения или физиологии. Примеры: индукция рефлекса бегства. Оксотремориновый тест (тремор и слюноотделение). Резерпиновая катаlepsия, кокаин, амфетаминовая гиперактивность. Стереотипия, вызванная 5-HTP (5-гидрокситриптофаном). Апоморфиновое восхождение. Апоморфиновая гипотермия. Резерпиновая гипотермия [3]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Примеры: модель аутизма на животных с вальпроевой кислотой [3]

4.6. Упражнения

Безвредная/ степень тяжести 0	Проверка координационных способностей животных. Примеры: тест на сцепление. Произвольное упражнение с колесом, например, с определенным изменением сопротивления и/или переменным расстоянием между стержнями с положительным подкреплением или без него [3]
--	--

Легкая/ степень тяжести 1	Кратковременные принудительные упражнения, вызывающие легкое напряжение, без перенапряжения и электростимуляции. Примеры: упражнения на беговой дорожке с использованием встречного воздушного потока. Калориметрическое колесо после адекватной адаптации к экспериментальной ситуации. Упражнения с колесами, вызывающие умеренное напряжение, например, с определенным изменением сопротивления и/или переменным расстоянием между стержнями и с отрицательным подкреплением [3]
Средняя/ степень тяжести 2	Принудительные упражнения, вызывающие умеренное напряжение без перенапряжения. Примеры: упражнения на беговой дорожке с электростимуляцией до 1 мА/с без истощения [3]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Принудительное плавание или физические упражнения с истощением в качестве конечной точки [1]. Примеры: упражнения на беговой дорожке до изнеможения с помощью электростимуляции $VO_2 \max^*$ или тест на выносливость на беговой дорожке [3]

Примечание. * $VO_2 \max$ — максимальная скорость потребления кислорода, измеренная во время упражнений с возрастающей интенсивностью [Clemente C.J., Withers P.C., Thompson G.G. 2009. Metabolic rate and endurance capacity in Australian varanid lizards (Squamata; Varanidae; Varanus). *Biological Journal of the Linnean Society*. 97 (3): 664–676. DOI: [10.1111/j.1095-8312.2009.01207.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2009.01207.x). Dlugosz E.M., Chappell M.A., Meek T.H., Szafrńska P. et al. 2013. Phylogenetic analysis of mammalian maximal oxygen consumption during exercise». *Journal of Experimental Biology*. 216 (24): 4712–4721. DOI: [10.1242/jeb.088914](https://doi.org/10.1242/jeb.088914). PMID 24031059].

4.7. Специфические поведенческие тесты

Безвредная/ степень тяжести 0	Тестирование в открытом поле [1]. Исключительно наблюдение за животными или сбор данных другими неинвазивными методами (без длительных принудительных мер, ограниченных условий содержания, вмешательства или введения тестируемых веществ) [3]
Легкая/ степень тяжести 1	Наблюдение за животными или сбор данных другими неинвазивными методами после введения фармакологически активных испытуемых веществ (в нетоксичных дозах, без других вмешательств, длительных принудительных мер). Примеры: определение эффектов веществ в тесте открытого поля, лабиринтных тестах, включая водный лабиринт Морриса, или тесте лестницы [3]
Средняя/ степень тяжести 2	Нет информации
Тяжелая/ степень тяжести 3	Нет информации

4.8. Внешние устройства телеметрии

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Применение внешних телеметрических устройств, которые вызывают лишь незначительные нарушения у животных или незначительное вмешательство в их нормальную активность и поведение [1]
Средняя/ степень тяжести 2	Нет информации
Тяжелая/ степень тяжести 3	Нет информации

V. Плоды и недоношенные животные

1. Сбор образцов

Безвредная/ степень тяжести 0	Эвтаназия плодов или недоношенных животных в последней трети беременности или развития для сбора биологических жидкостей, тканей, органов или частей тела методами, соответствующими Закону о защите животных (включая рептилий и птиц)*. Когда ткани забираются у плодов, мать которых подвергалась глубокой анестезии и эвтаназии в течение 5–10 мин после начала анестезии, это классифицируется как эвтаназия без предварительной обработки [3]
Легкая/ степень тяжести 1	Сбор жидкостей или тканей, приводящий к легким нарушениям дальнейшего развития молодых животных. Примеры: сбор венозной крови у недоношенных телят [3]
Средняя/ степень тяжести 2	Сбор жидкостей или тканей, приводящий к умеренному нарушению дальнейшего развития молодых животных [3]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Сбор жидкостей или тканей, приводящий к серьезным нарушениям дальнейшего развития животных или гибели/аборту [3]

Примечание. * *Protection of Animals Act 1911 (c. 27) is an Act of the Parliament of the United Kingdom.*

2. Кормление

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Ограничение потребления пищи/энергии для исследования влияния на развитие болезней взрослых с легкими нарушениями у плода или недоношенного животного [3]
Средняя/ степень тяжести 2	Ограничение потребления пищи/энергии для исследования влияния на развитие болезней взрослых с умеренными нарушениями у плода или недоношенного животного [3]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Ограничение потребления пищи/энергии для исследования влияния на развитие болезней взрослых с тяжелыми нарушениями плода или недоношенного животного [3]

3. Хирургические вмешательства

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Нет информации
Средняя/ степень тяжести 2	Внутриутробные вмешательства на плод. Пример: внутриутробное использование инструментов (запись ЭКГ, ЭЭГ) у плода жвачных животных в утробе матери [3]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Нет информации

4. Репродуктивная токсикология

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Использование эмбрионов, плодов или личинок в экспериментальных целях, если они выживают после рождения, вылупления или метаморфоза, и ожидается лишь легкое поражение животных [3]
Средняя/ степень тяжести 2	Испытание веществ на тератогенное действие, приводящее к умеренным последствиям. Примеры: вещества, вызывающие пороки развития с умеренным ограничением, но не приводящие к смерти [3]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Испытание веществ на тератогенное действие, приводящее к тяжелым последствиям. Примеры: аборт, тяжелые пороки развития с фатальными последствиями или без них [3]. Использование эмбрионов, плодов или личинок в экспериментальных целях, если они выживают после рождения, вылупления или метаморфоза, и ожидается лишь умеренное поражение животных. Сбор зародышевых клеток или нежизнеспособного материала на разных стадиях развития для экспериментальных целей от родительского организма (всех видов, включая <i>Xenopus</i>). Примеры: штаммы мышей, полученные с использованием онкогенов, если терминальные критерии выбраны соответствующим образом. Химический и радиационный мутагенез для получения линий животных с дефектами [3]

VI. Клинические признаки

1. Состояние меха, груминг и физиологические отверстия тела

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Временные околоназальные выделения; никакого самоповреждения [4]. Частичная пилоэрекция [6]. Преходящие выделения из глаз и носа (обычно признаки хроминодакриореи у грызунов) [6]
Средняя/ степень тяжести 2	Неряшливая, взъерошенная шерсть; постоянные выделения из глаз и носа; никакого самоповреждения [4]. Шерсть с ярко выраженной пилоэрекцией [6]. Постоянные выделения из глаз и носа [6]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Неряшливая, взъерошенная шерсть с обезвоживанием (кожная складка); постоянные, сильные выделения из глаза и носа; самоповреждение [4]. Выраженная пилоэрекция с другими признаками обезвоживания, такими как натяжение кожи [6]. Выделения из глаз и носа стойкие и обильные [6]

2. Дыхание, пульс

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Изменение ЧСС менее 30%; нормальное дыхание [4]. Нормальное дыхание [6]
Средняя/ степень тяжести 2	Временное аномальное дыхание [4]. Прерывистое аномальное дыхание [6]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Изменение ЧСС более 30%, увеличивается на более длительные периоды; тяжелое дыхание [4]. Затрудненное дыхание [6]

3. Температура тела

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	До 1 °С [4]
Средняя/ степень тяжести 2	Нет информации
Тяжелая/ степень тяжести 3	Более 2 °С [4]

4. Поведение и поза

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Социальное взаимодействие с товарищами по клетке; нет конвульсий [4]. Взаимодействует со сверстниками [6]. Кратковременно сгорбленная поза, особенно после приема дозы [6]. Преходящая вокализация [6]
Средняя/ степень тяжести 2	Незначительное взаимодействие с товарищами по клетке, периодическое приседание, дрожание, судороги [4]. Мало взаимодействия со сверстниками [6]. Периодически сгорбленная поза [6]. Прерывистая вокализация при провокации [6]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Животное ведет себя обособлено, ходит на цыпочках или демонстрирует тяжелую походку; постоянная скрюченная поза, дрожь, судороги [4]. Настойчиво сгорбленная поза («застывание») [6]. Дистресс — неспровоцированная вокализация [6]

5. Реакция на искусственное раздражение; обращение с поведением; реакция на физический контакт

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Животное нормально реагирует на раздражение [4]. Сдержанное, но отзывчивое животное демонстрирует нормальные спровоцированные модели поведения [6]
Средняя/ степень тяжести 2	Внимание и поведенческие реакции снижены или преувеличены [4]. Подавленное животное демонстрирует приглушенные модели поведения, даже когда его провоцируют [6]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Не отвечает [4]. Невосприимчивость к посторонней активности и провокациям [6]

6. Потребление пищи и воды

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Потребление пищи и воды 40–75% от нормы в течение 72 ч [6].
Средняя/ степень тяжести 2	Потребление пищи и воды менее 40% от нормы в течение 72 ч [6].
Тяжелая/ степень тяжести 3	Потребление пищи и воды менее 40% в течение 7 дней или анорексия (полное отсутствие аппетита) в течение 72 ч [6]

7. Прострация

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Нет прострации [6]
Средняя/ степень тяжести 2	Преходящая прострация (менее 1 ч) [6]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Длительная прострация (более 1 ч) [6]

8. Самоповреждение

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Нет самоповреждения [6]
Средняя/ степень тяжести 2	Нет самоповреждения [6]
Тяжелая/ степень тяжести 3	Самоповреждение обычно свидетельствует о тяжелых страданиях. Однако если боль незначительна и проходит сама по себе, а животные не проявляют признаков боли при осмотре компетентным персоналом, ее можно классифицировать как умеренную. Примером может быть аутоотомия, когда травма поверхностная (ограничена ногтями и не распространилась на мягкие ткани), которая позже прекратилась. Если аутоотомия сохраняется или прогрессирует, классификация будет тяжелой [2]. Самоповреждение [6]

9. Масса тела

Безвредная/ степень тяжести 0	Нет информации
Легкая/ степень тяжести 1	Легкая (менее 5%) по сравнению со средней массой тела у вида/линии [4]. Снижение прибавки в массе тела [6]
Средняя/ степень тяжести 2	Постепенная потеря массы тела или имеется расхождение между взрослыми подопытными и нормальными животными на 15–20% (в течение нескольких дней) в результате процедуры (процедур), или разница в массе в этом диапазоне по сравнению с контрольными животными соответствующего возраста/пола у растущих животных, обычно классифицируется как средняя степень тяжести. Медленная потеря массы даже более чем на 20% из-за умеренного ограничения калорий, особенно у особей с ожирением, сама по себе не может быть признаком даже умеренных страданий. Там, где существует установленная система оценки состояния тела, сочетание измерения массы с состоянием тела животного обеспечивает более надежное измерение вероятного страдания, чем только масса тела. Например, овца, которая потеряла 15% массы тела и снизила оценку своего физического состояния с 3 из 5 до 1,5 из 5 в течение нескольких дней [2]. Снижение массы на 5–20% по сравнению со средней массой тела у вида/линии [4]. Потеря массы тела до 20% [6]

Тяжелая/ степень тяжести 3	<p>Очень быстрая потеря массы тела (в пределах от 24 до 48 ч) в пределах этого диапазона может указывать на значительный элемент обезвоживания и, вероятно, свидетельствовать о тяжелых страданиях. Серьезное ограничение калорий может быть причиной умеренных или даже сильных страданий [2].</p> <p>Снижение массы тела более чем на 20% по сравнению со средней массой тела у вида/линии [4].</p> <p>Потеря массы тела более чем на 25% [6]</p>
---------------------------------------	---

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Directive 2010/63/EU On the protection of animals used for scientific purposes. Annex VIII. 2010. URL: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:32010L0063> (дата обращения: 07.2022).
2. Advisory notes on recording and reporting the actual severity of regulated procedures. 2014. URL: https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/662489/NotesActualSeverityReporting.pdf (дата обращения: 07.2022).
3. Swiss Guidance for severity assessment. 2018. URL: <https://norecopa.no/3r-guide/swiss-guidance-for-severity-assessment> (дата обращения: 07.2022).
4. Working Group of Berlin Animal Welfare Officers. Orientierungshilfe des Arbeitskreises Berliner Tierschutzbeauftragter zur Einstufung in Belastungsgrade für genehmigungspflichtige Tierversuche. 2010. URL: https://tierschutz.charite.de/fileadmin/user_upload/microsites/sonstige/tierschutz/Belastungsbeurteilung-Orientierungshilfe_BerlTierSchB.pdf (дата обращения: 07.2022).
5. Expert working group on severity classification of scientific procedures performed on animals FINAL REPORT Brussels. 2009. URL: https://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/pdf/report_ewg.pdf (дата обращения: 07.2022).
6. Baumans V., Brain P. F., Brugère H., Clausing P., Jeneskog T., Perretta G. Report of the Federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA) Working Group on Pain and Distress // Laboratory animals. 1994. Vol. 28. № 2. P. 97–112.
7. Examples to illustrate the process of severity classification, day-to-day assessment and actual severity assessment. European Commission. 2013. URL: https://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/pdf/examples.pdf (дата обращения: 07.2022).
8. Smith D., Anderson D., Degryse A.-D., Bol C., Criado A., Ferrara A. et al. Classification and reporting of severity experienced by animals used in scientific procedures. FELASA/ECLAM/ESLAV Working Group report // Laboratory Animals. 2018. Vol. 52. Suppl. 1. P. 5–57. DOI: [10.1177/0023677217744587](https://doi.org/10.1177/0023677217744587).



ГК «ФармЭко» более 20 лет работает во всех основных сегментах фармацевтической отрасли: научной разработке и исследованиях, производстве и дистрибуции лекарственных препаратов, медицинской техники и изделий медицинского назначения. Входит в топ-500 крупнейших компаний России.*

ГК «ФАРМЭКО» СЕГОДНЯ:



ИССЛЕДОВАНИЯ И РАЗРАБОТКИ (R&D)



Центр разработки и регистрации лекарственных средств



ФармЮнити



ZYNGENIA



ПРОИЗВОДСТВО ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ



ЗИО-ЗДОРОВЬЕ



ДОБРОЛЕК



БИОДЖЕТ



ДИСТРИБУЦИЯ И ЛОГИСТИКА



ИРВИН



ИРВИН 2



ФармСервис Логистик

www.pharmeco.ru

+7 (495) 800 77 87



Бизнес-центр «Ньютон Плаза»
Россия, 115230, г. Москва,
1-й Нагатинский пр-д, д. 10, стр. 1

* рейтинг РБК, 2020

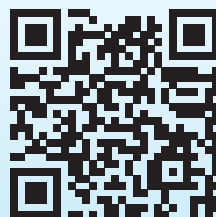
Система оптической визуализации
и кинетического анализа
мелких лабораторных животных

VISQUE® InVivo



VISQUE® InVivo Smart / Smart-LF

автоматизированные системы для получения и анализа флуоресцентных и биolumинесцентных изображений малых лабораторных животных *in vivo*. Система обеспечивает превосходную чувствительность и широкие возможности для исследований *in vivo*. Система оснащена высокочувствительной BSI-sCMOS (КМОП) камерой, полностью автоматизированными функциями для регистрации и анализа полученных изображений



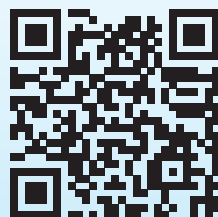
Система оптической визуализации
и кинетического анализа
мелких лабораторных животных *in vivo*

VISQUE® ART



VISQUE® InVivo ART 100 / ART 400

системы с высокочувствительной детекцией
биолюминесцентных и флуоресцентных сигналов *in vivo*,
охлаждением ПЗС-матрицы с обратной засветкой камеры -90°C ,
широким углом обзора камеры и исследуемой поверхности 27 см,
набором оптических фильтров в диапазоне 400–900 нм,
съемкой в режиме реального времени и программным
обеспечением для проведения кинетического анализа





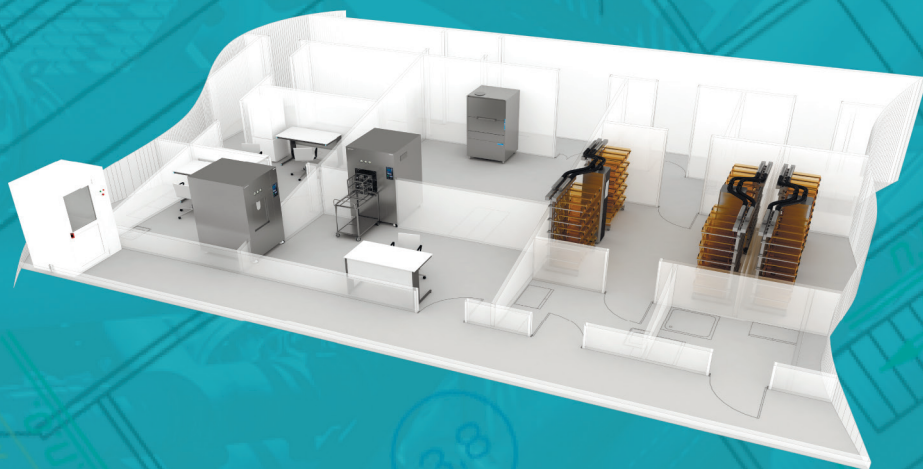
AWTech
Advanced Worldwide Technologies

INPREN
INNOVATIVE DESIGN & ENGINEERING INSTITUTE Co

Группа Компаний АВТех

Мы проектируем, строим, модернизируем и оснащаем виварии, лаборатории и другие объекты в соответствии с российскими и международными нормативными документами.

Виварий под ключ - от разработки концепции до оснащения оборудованием и обучения персонала



Лабораторное оборудование собственного производства

- Системы индивидуально вентилируемых клеток
- Оборудование для эвтаназии лабораторных животных
- Ламинарные станции для работы с животными
- Клетки для лабораторных животных
- Ламинарные укрытия
- Элементы чистых помещений
- Фильтровентиляционные модули
- Модульные конструкции (лаборатория трансформер)
- Индивидуальное проектирование и производство оборудования под задачи заказчика



**Скачать
каталог**



Группа компаний АWTech

127566 Россия, Москва,
Алтуфьевское шоссе, д. 48, корп. 1
+7 (499) 322-99-34 | +7 (999) 078-72-69
info@awt.ru | www.awt.ru

СДЕЛАНО В РОССИИ

Ассоциация специалистов по лабораторным животным

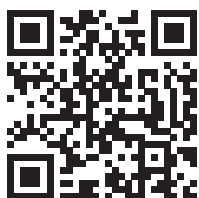


Rus-LASA

Российская общественная организация,
объединяющая всех, чья работа так
или иначе связана с использованием
животных в научных целях.

Мы проводим конференции,
организуем тренинги,
издаем тематическую литературу.

Присоединяйтесь!



www.ruslasa.ru



ЛАБОРАТОРНЫЕ ЖИВОТНЫЕ

для научных исследований

Единственный отечественный
рецензируемый научно-практический
журнал, входящий в **перечень ВАК**
и индексируемый в **РИНЦ**,
цель которого — повышение качества
экспериментальных исследований
путем распространения передовых
знаний о лабораторных животных
и их использовании
в научных целях

ПОДПИШИТЕСЬ
БЕСПЛАТНО



ЖУРНАЛ
ВЫХОДИТ

4 раза
в год

В ЭЛЕКТРОННОМ ВИДЕ

САЙТ ЖУРНАЛА
E-MAIL

www.labanimalsjournal.ru
info@labanimalsjournal.ru

Консультант GLP-PLANET 2022

Мнение фармацевтической отрасли

Монография

Ответственный редактор: Л.В. Кузнецова

Корректор: В.М. Замаева

Дизайн обложки: А.Г. Асеева

Компьютерная верстка: А.В. Замараев

Координаторы проекта: М.А. Ковалева и А.И. Мискарян

НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»

<https://doclinika.ru>

E-mail: info@doclinika.ru

ISBN 978-5-6048955-0-4



9 785604 895504