

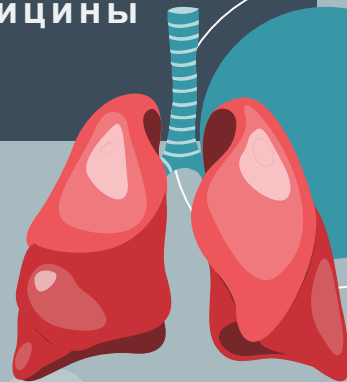


Государственный научно-исследовательский
испытательный институт военной медицины
Министерства обороны
Российской Федерации

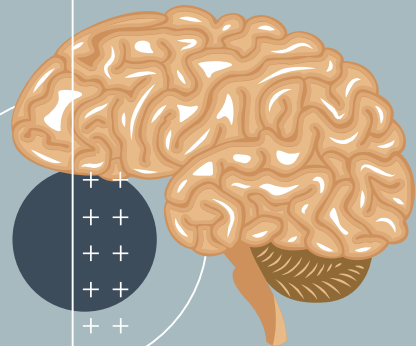
Особенности внутритрахеального введения лабораторным животным

Докладчик: Сарынина Анастасия Николаевна
младший научный сотрудник

++++
++++



++++
++++
++++
++++

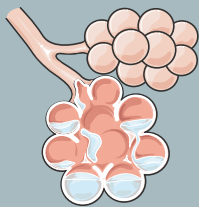


++
++
++
++
++
++



+ + + + + +

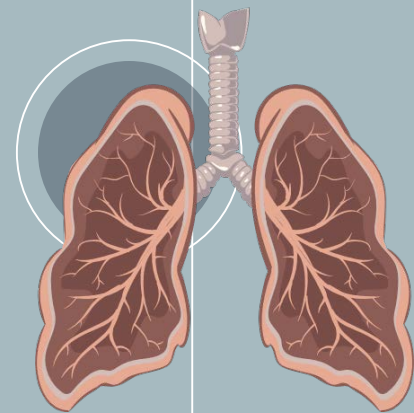
Актуальность



**Моделирование
патологий дыхательной
системы**



**Доклинические
исследования**



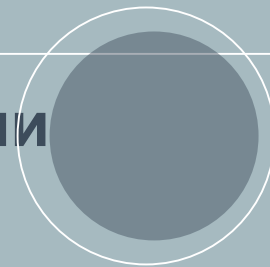
+ + + + + +

+ + + + + + + + + +
+ + + + + + + + + +

+ + + + + +



Проблемные вопросы в методологии



01

Техника проведения процедуры

Какой метод выбрать?

02

Анестезия

Подбор дозы и выбор препарата

03

Объёмы

Разнящиеся данные по объёму введения

04

Высокая зависимость результата от оператора

05

Биоэтика

Как делать гуманно?

06

Инструментарий

Где найти ларингоскопы и зонды для мелких животных?



+ +
+ +
+ +
+ +
+ +
+ +

+ + + + + +

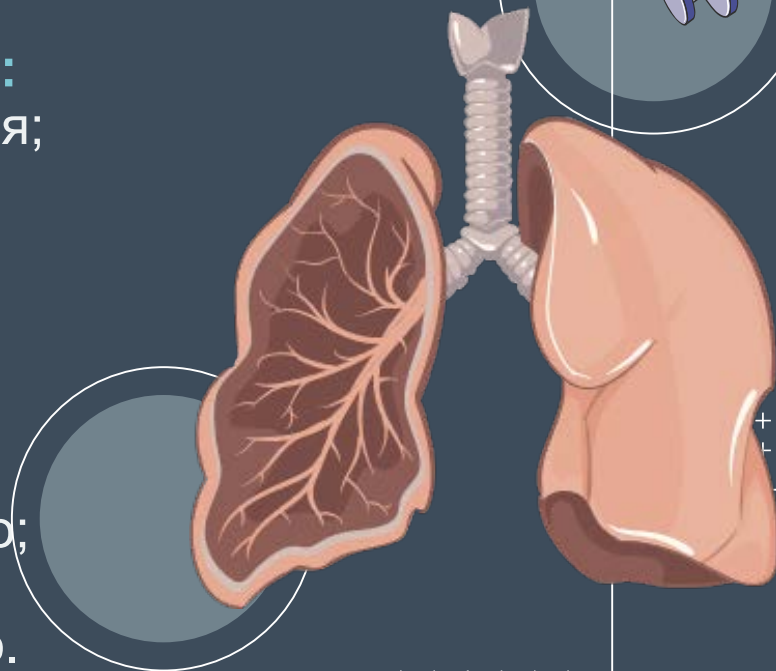
Алгоритм проведения исследования

Подготовительные процедуры:

Определение задач исследования;
Выбор животного;
Выбор анестезии для животного;
Выбор инструментария.

Манипуляция:

Анестезия
Фиксация животного;
Визуализация трахеи у животного;
Процедура введения;
Мониторинг состояния животного.





Общепринятые методики внутритрахеального введения разным видам лабораторных животных

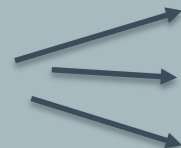
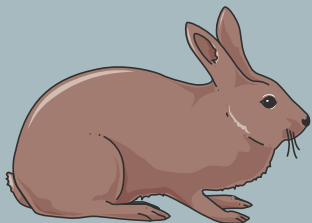


введение при помощи ларингоскопа и зонда



орофарингеальная аспирация

введение опосредованное интубацией



введение при помощи ларингоскопа и зонда

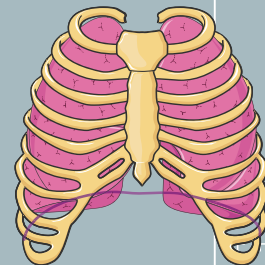
введение при помощи бронхоскопа

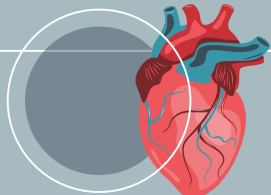
введение чрескожным методом



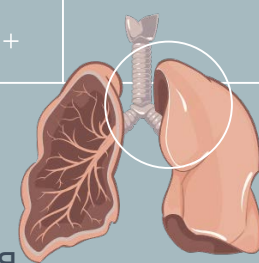
Объёмы внутритрахеального введения разным видам животных

Вид животного	Источник	Число животных	Масса животного	Объем легких (в мл, диапазон и $M \pm SD$)	Диаметр трахеи (мм)	Длина трахеи (в см, диапазон и $M \pm SD$)	Объемы введения животным (мл/животное) Costa D.L. и др. [16] #
Мышь	Собственное исследование	30	20–30 г	0,4–0,6 (0,5±0,08)	≈1	0,4–0,7 (0,6±0,08)	0,02–0,06
	А.А. Бунятян и др. [17]*	–	20 г	0,09–0,23	–	–	0,02–0,04
Крыса	Собственное исследование	40	250–300 г	3,7–5,6 (4,7±0,72)	1,8–2,8 (2,2±0,31)	1,6–2,9 (2,1±0,34)	0,25–0,6
	А.А. Бунятян и др. [17]*	–	110 г	1,25–1,6	–	–	0,11–0,22
Песчанка	Собственное исследование	30	70–80 г	0,8–1,4 (1,0±0,17)	≈1	0,5–0,7 (0,6±0,08)	0,07–0,16
Кролик	Собственное исследование	5	4,4–5 кг	18–22,5 (20,7±1,96)***	См. таблицу 3	4,7–6,4 (5,6±0,71)	4,4–10
	М. S. Loewen и др [18]	35	2,0–5,5 кг	–	4,7	–	2–11
	Е.А. Байрамян [19]*	–	–**	–	6–8	4,0–6,0	2–11
	К.И. Коптяева и др. [15]	10	3,6–4,2 кг	10,0–12,0	–	–	3,6–8,4
	В.А. Ивашин и др. [20]	10	2,5–3 кг	28,6	–	–	2,5–6
	А. А. Бунятян и др [17]*	–	2,5 кг	6,0	–	–	2,5–5
Морская свинка	Собственное исследование	5	350–400 г	7,7–9,3 (8,5±0,76)***	2,5–3 (2,7±0,27)	2,6–3,4 (2,9±0,35)	0,35–0,8
	М. Н. Amiri и др. [21]	6	400–500 г	–	–	4,6–4,8	0,4–1,0
	М. О. Amdur и др. [14]	80	187–251 г	1,3–2,1	–	–	0,19–0,5
	А. А. Бунятян и др [17]*	–	–**	1,8	–	–	0,35–0,8
Хомяк сирийский	Собственное исследование	5	130–150	2,6–3,3 (3,0±0,29)	1,4–1,8 (1,6±0,15)	1,0–1,5 (1,3±0,27)	0,13–0,3
	J. L. Mauderly [22]	19	118–139	0,9–1,4	–	–	0,12–0,29





+++++



Индикаторы глубины анестезии

2-й уровень III стадии является оптимальной глубиной наркоза для проведения

Параметр	Индикаторы глубины анестезии		
	1-й уровень III стадии	2-й уровень III стадии	3-й уровень III стадии
Глотательный рефлекс	±	-	-
Ларингеальный рефлекс	+	-	-
Пальпебральный рефлекс	+	±	-
Педальный рефлекс	+	-	-
Спонтанные движения	+	-	-

++
++
++
++
++
++

++
++
++
++
++

Виды зондов для внутритрахеального введения

Для крыс и хомяков	Для кроликов	Для мышей	Для морских свинок
			
<p>Зонд, изготовленный из иглы для спинальной анестезии, изогнутый под 130°. Длина, входящая в трахею, 4,5 см. Диаметр 1,5мм.</p>	<p>Зонд прямой, изготовленный из иглы для спинальной анестезии, прямой. Длина 18 см. Диаметр 2,0 мм.</p>	<p>Возможно использование игл от внутривенных катетеров 20 G, либо игл 23G, предварительно затупив заостренный край.</p>	<p>Внутрижелудочные зонды Kent Scientific 18 размер. Длина 10 см. Диаметр 2,0 мм</p>

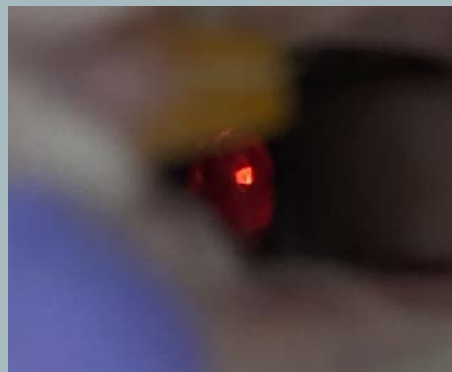
Варианты методик внутритрахеального введения крысам под общей анестезией



Внутритрахеальное введение помощью ларингоскопа

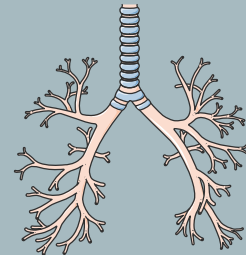


Внутритрахеальное введение с помощью внешней подсветки



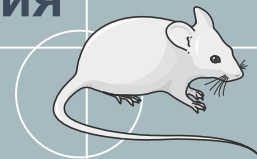
- Анестезия: пропофол 10 мг/кг внутривенно (разведение 1:4 с физиологическим раствором; возможно без катетеризации вены); изофлюран 2-3 % индукция, 1-2 % поддержание.
- Фиксация: расположение крысы на животе на рабочей поверхности, вытягивание шеи под углом 75-95°.
- Визуализация трахеи при помощи ларингоскопа, либо внешнего прицельного освещения.
- Объём введения: 1,0-1,5 мл/кг.
- Персонал: манипуляцию выполняет 1 человек.
- Время проведения: 2 мин (без учета введения в анестезию).

Набор для интубации крыс, RWD (Китай)

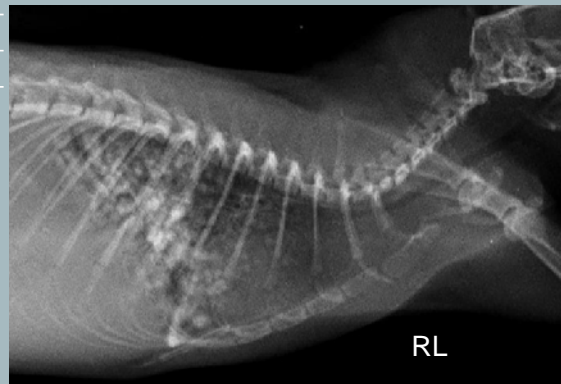


- Анестезия: пропофол 10 мг/кг внутривенно (разведение 1:4 с физиологическим раствором); изофлюран 2-3 % индукция, 1-2 % поддержание.
- Фиксация: расположение крысы на спине на столике под углом 45°.
- Визуализация трахеи при помощи комплект волоконно-оптического освещения для эндотрахеальной интубации.
- Объём введения: 1,0-1,5 мл/кг.
- Персонал: манипуляцию выполняет 1 человек.
- Время проведения: 6-8 мин.
- Примечание: фиксация животного и присоединение шприца к интубационной трубке увеличивают время процедуры

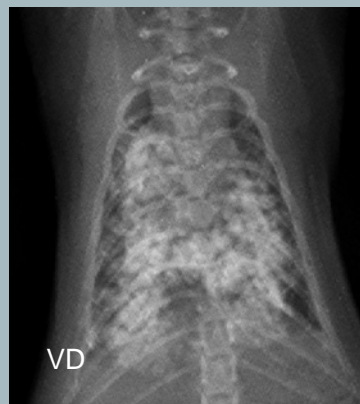
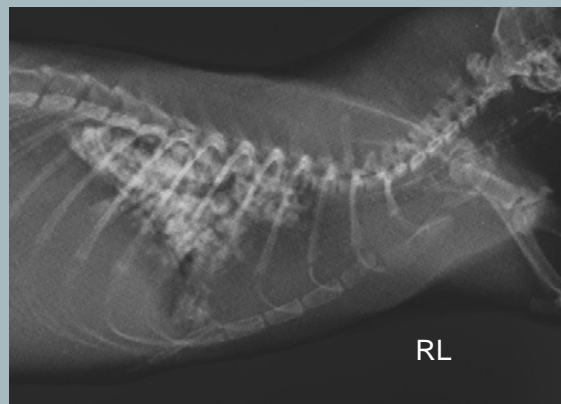
Рентгенограмма распределения рентгеноконтрастного вещества у крыс в зависимости от объёма введения



1,0 мл/кг



1,5 мл/кг

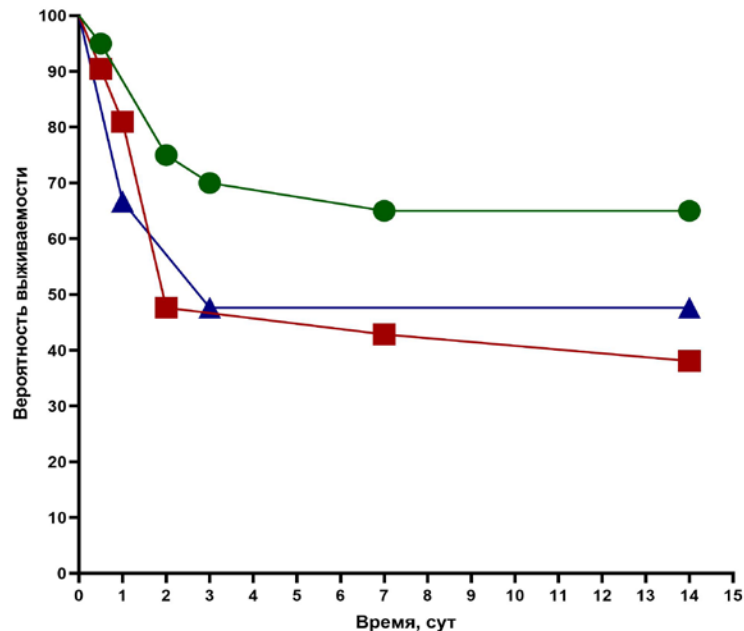


Исследование проводилось при использовании омнипака 300 мг/мл в объёмах 1,0 и 1,5 мл/кг с использованием жёсткого зонда и ларингоскопа под общей анестезией пропофол 10 мг/кг в/в. Результаты оценивали через 5 минут после введения.

Повторяемость экспериментов при разных объёмах внутритрахеального введения липополисахарида *Salmonella enterica* крысам

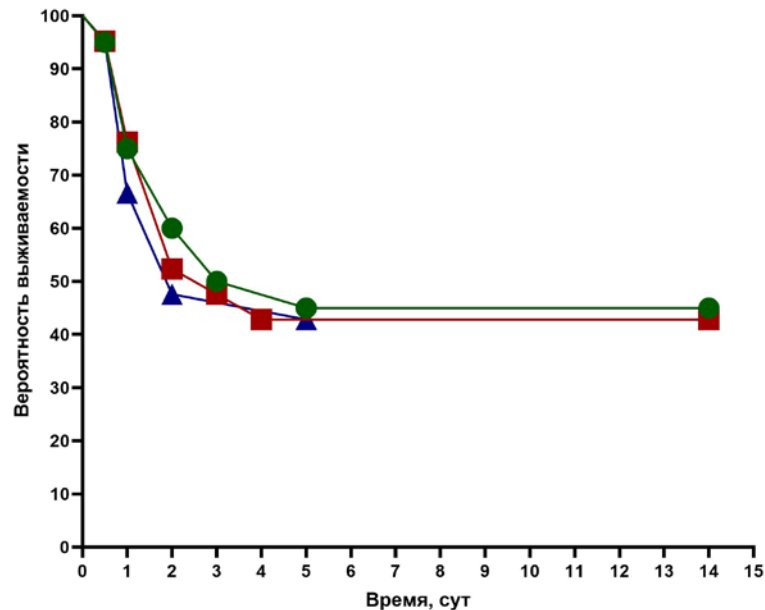
+ + + + + + + + +

Повторяемость эксперимента при внутритрахеальном введении ЛПС
в дозе 20 мг/мл объёмом 1,0 мл/кг



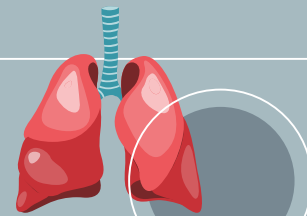
● 1 эксперимент
■ 2 эксперимент
▲ 3 эксперимент

Повторяемость эксперимента при внутритрахеальном введении ЛПС
в дозе 20 мг/мл объёмом 1,5 мл/кг



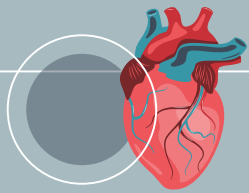
● 1 эксперимент
■ 2 эксперимент
▲ 3 эксперимент

Методика внутритрахеального введения кроликам без общей анестезии



- **Фиксация:** заворачиваем кролика в плед. Ассистент левой рукой держит туловище кролика, правой фиксирует морду в вертикальном положении, для распрямления трахеи.
- **Процедура:** манипулятор подготавливает место инъекции в соответствии с правилами асептики и антисептики.левой рукой пальпирует и фиксирует трахею большим и указательным пальцами на расстоянии 4-5 см ниже от гортани. Правой рукой вводит шприц между колец трахеи под углом 45°. Для подтверждения попадания в трахею необходимо провести аспирационную пробу. Вещество вводят медленно. Удерживают кролика в таком положении в течение 2 мин, затем возвращают в клетку.
- **Объём введения:** 1,0 мл/кг.
- **Персонал:** манипуляцию проводят 2 человека.
- **Время проведения:** 1 мин манипуляция и 5 мин фиксации.

++
++
++
++
++



+ + + + +

Методика внутритрахеального введения кроликам под общей анестезией



Анестезия: пропофол 10-15 мг/кг внутривенно (обязательна катетеризация вены). Доза варьируется по эффектам, введение медленное, до пропадания глотательного рефлекса; изофлюран 2-3 % индукция, 1-2 % поддержание.

Фиксация: расположение кролика на животе на рабочей поверхности, вытягивание шеи под углом 90°. Визуализация трахеи при помощи ларингоскопа.

Объём введения: 1,0 мл/кг.

Персонал: манипуляцию проводит 1 человек.

Время проведения: 2 мин (без учета введения в анестезию).

+ + + + +

++
++
++
++

Рентгенограмма распределения рентгенконтрастного вещества у кроликов в зависимости от объёма введения

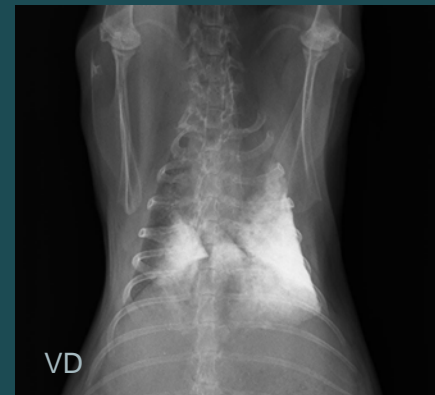
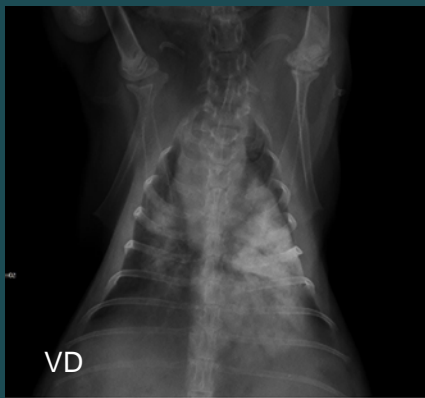
0,5 мл/кг



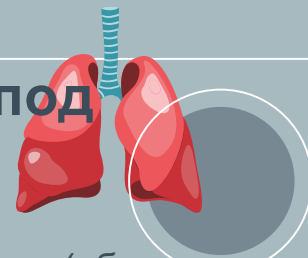
1,0 мл/кг



1,5 мл/кг



Методика внутритрахеального введения кроликам под общей анестезией при помощи бронхоскопа



Анестезия: пропофол 10-15 мг/кг внутривенно (обязательна катетеризация вены). Доза варьируется по эффектам, введение медленное, до пропадания глотательного рефлекса.

Фиксация: расположение кролика на животе на рабочей поверхности, вытягивание шеи горизонтально.

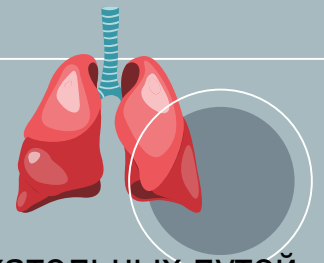
Визуализация трахеи при помощи бронхоскопа. Оценить глубину анестезии (отсутствие жевательного и глотательного рефлексов). Установить роторасширитель во избежание повреждения бронхоскопа (например, разрезанный шприц на 10 мл). Вводят дистальный конец бронхоскопа в ротовую полость, визуализируют голосовую щель, на вдохе проводят в трахею.

Объём введения: 1,0 мл/кг, локальное введение в одну долю – 0,1-0,2 мл/кг.

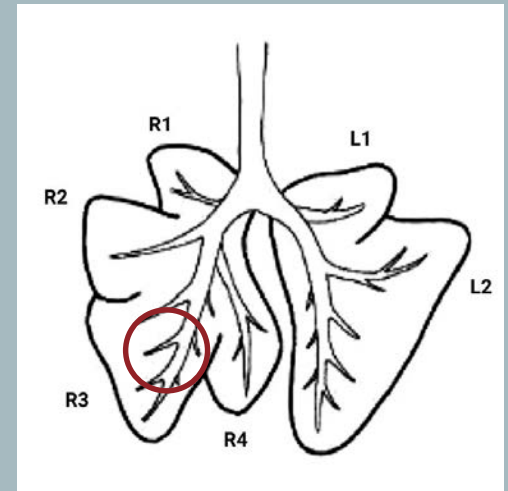
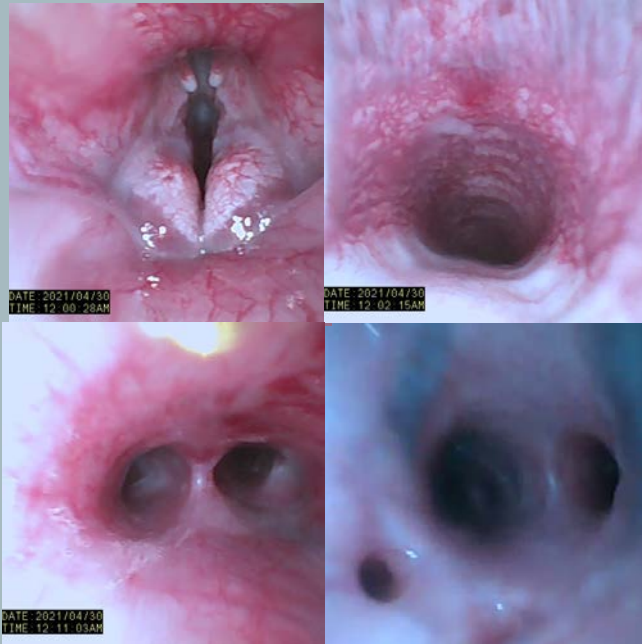
Персонал: манипуляцию выполняет 2 человека.

Время проведения: 10 мин.

Преимущества бронхоскопии



- Визуальная диагностика нижних дыхательных путей.
- Отбор биоматериала (БАЛ, биопсия).
- Локальное введение веществ.



Рекомендации, основанные на собственных исследованиях

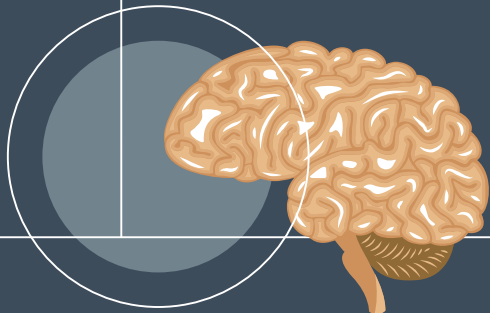
Вид животного	Анестезия			Объем внутритрахеального введения
	Препарат	Доза	Путь введения	
Крыса	Пропофол	10-15 мг/кг	в/в	1,0 – 1,5 мл/кг
	Изофлюран	Индукция 2-3 %, поддержание 1-2 %	ингаляционное	
Мышь	Пропофол	1,5 мг/100 г	в/в	0,1 мл/100 г
	Изофлюран	Индукция 2-3 %, поддержание 1-2 %	ингаляционное	
Хомяк	Золетил+Ксила		в/м	0,2-0,25 мл/ 100 г
	Изофлюран	Индукция 2-3 %, поддержание 1-2 %	ингаляционное	
Кролик	Пропофол	10-15 мг/кг	в/в	1,0 мл/кг
	Изофлюран	Индукция 2-3 %, поддержание 1-2 %	ингаляционное	

++++++
++++++

++++++



Спасибо за внимание!



++++++
++++++
++++++
++++++

