

Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies // Scand.J.Plast.Reconstr.Surg. 1969. Vol.3. № 2. P. 81-100.

3. Donath K., Breuner G. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Säge-Schliff (sawing and grinding) technique // J. Oral Pathol. 1982. Vol. 11. № 4. P. 318-326.

4. Johansson C.B., Jimbo R., Stefenson P. Ex vivo and in vivo biomechanical test of implant attachment to various materials: introduction of a new user-friendly removal torque equipment // Clin. Implant Dent. Relat. Res. 2010. Vol. 17., Jul.

5. Johansson C.B., Röser K., Bolind P., Donath K., Albrektsson T. Bone-tissue formation and integration of titanium implants: an evaluation with newly developed enzyme and immunohistochemical techniques // Clin. Implant Dent. Relat. Res. 1999. Vol. 1. № 1. P. 33-40.

6. Röser K., Johansson C.B., Donath K., Albrektsson T. A new approach to demonstrate cellular activity in bone formation adjacent to implants // J. Biomed. Mater. Res. 2000. Vol. 51. № 2. P. 280-291.

Histomorphological researches of relationship of a bone with dental implant

A.V. Volkov, V.A. Badalyan, A.A. Kulakov, I.I. Babichenko,
G.D. Kapanadze, N.V. Stankova

We have developed criteria for the experimental study of dental implants in the mini-pigs provide significant information on the osseointegration of dental implants in the development of complications that lead to loss of the implant. One may characterize the processes leading to the loss of the implant or the development of peri-implantitis, and to assess the distribution, extent and adequacy of the load.

Key words: experiment. mini-pigs, histomorphological researches, bone, dental implantation.



ЛАБОРАТОРНЫЕ ЖИВОТНЫЕ

Актуальные вопросы стандартизации лабораторных животных для медико-биологических и биотехнических исследований

Л.А. Болотских, Н.Н. Каркищенко, Х.Х. Семенов, И.Ю. Егорова,
Т.Б. Бескова, З.С. Лушникова, Н.В. Касинская, Л.Х. Казакова

ФГБУ «Научный центр биомедицинских технологий» РАМН, Московская область

Контактная информация: к.с.-х.н. Болотских Любовь Александровна,
тел.: 8(495) 561-52-57

Полученные в результате работы СПФ-животные могут быть рекомендованы заинтересованным учреждениям с целью получения надежных и воспроизводимых результатов медико-биологического эксперимента с участием лабораторных животных.

Ключевые слова: изоляторная система, гнотобиологические методы, стерилизация, СПФ-животные.

Получения надежных и воспроизводимых результатов медико-биологического эксперимента можно достигнуть лишь при соблюдении стандартности всех его слагаемых и условий проведения. В этом смысле лабораторное животное является наиболее уязвимым звеном в системе медико-биологического эксперимента. Его состояние как живого объекта зависит от воздействия многочисленных как экзогенных, так и эндогенных факторов, влияние которых далеко не всегда бывает явным и легко регистрируемым. Среди них, прежде всего, следует отметить факторы инфекционной и инвазионной природы. Причем различные, в том числе даже патогенные представители вирусной и бактериальной флоры, не всегда вызы-

вают клинически явную картину заболевания. Часто они протекают в латентной форме или же в виде носительства. В настоящее время актуальность приобретает так называемая оппортунистическая, эндогенная инфекция, активизирующаяся при иммунодефицитных состояниях. Полноценность корма, сбалансированность всех его компонентов является важнейшим условием, обеспечивающим здоровье животного, поддержание неспецифической резистентности его организма на высоком уровне. Велико также взаимодействие экологических факторов на статус животного – условий его содержания и микроклимата. Все эти моменты, не учитываемые при проведении эксперимента, искажают и даже извращают его результаты.

Достижение современного уровня медико-биологического исследования возможно лишь при унификации всех факторов, воздействующих на организм лабораторных животных путем строгой стандартизации как условий содержания, так и самих животных. Введение в мировую практику требований системы GLP (Good Laboratory Practice) для проведения доклинических испытаний лекарственных веществ предъявило еще более жесткие условия к проблеме стандартизации животных, состоянию их здоровья.

В соответствии с международным опытом, стандартность лабораторных животных обеспечивается, с одной стороны, современной технологией их разведения и содержания в барьерной системе, с другой – едиными критериями оценки состояния здоровья. Основой этих критериев является принцип недопустимости носительства ряда патогенных и условно-патогенных агентов инфекционной и инвазионной природы: вирусов, бактерий, паразитов. То есть, стандартизация животных основана на исключении возможности возникновения явлений инфекционной и инвазионной патологии.

Во многих странах разработаны стандарты различных категорий качества животных по состоянию здоровья. Они включают перечень возбудителей, носительство которых исключается. Чем выше категория качества животного, тем больше перечень недопустимых агентов. Однако стандарты различных стран не идентичны. Единой международной классификации лабораторных животных по категориям качества и существующих стандартов не существует. В связи с этим, животные, именуемые как SPF (Specific pathogenfree), не

имеют четкой характеристики качества животных и создания единых стандартов. Примером могут служить разработки группы исследователей европейских стран: GV-SOLAS, FELASA [1].

Специалисты нашей страны, совместно с зарубежными коллегами, на основе мирового опыта, также предприняли попытку создания требований к качеству лабораторных грызунов различных категорий, которые были приняты в 1989 г. на совместном совещании в Софии. Однако опыт работы по контролю состояния здоровья животных позволил видоизменить эти нормативы.

Классификация основана на методе получения исходных для разведения животных, наличии и надежности барьера и глубине или уровне контроля статуса животного по соответствующему стандарту (требованию). Предлагается различать 5 категорий качества животных: конвенциональные, содержащиеся в открытой системе (категория 1); улучшенные конвенциональные, находящиеся в барьерной системе неполного типа. Исходными животными этой категории могут быть только животные более высокого класса качества (SPF). Эта категория качества животных соответствует категории, именуемой во многих странах MD (Minimal Diseases), или (категория 2); а также категории SPF-животные, содержащиеся в строгой барьерной системе (категория 3); гнотобиоты и безмикробные, или аксенные, животные, содержащиеся в изоляторах (категории 4, 5a и 5b) [4].

Цель работы: получить лабораторных животных, свободных от патогенной микрофлоры (СПФ-животных), как основу экспериментальной медицины.

Материалы и методы

Работа проводилась с конвенциональными мышами коллекционного фонда ФГБУ «НЦБМТ» РАМН. Очистка мышей коллекционного фонда от патогенной микрофлоры проводилась усовершенствованным методом гистерэктомии [3]. Животные получали стерильный гранулированный корм и белково-витаминную добавку. В рабо-

те использовали новое зарубежное и отечественное оборудование: изоляторная система «RAIR Isosistem», английский гнотобиологический изолятор «TCOL»; ламинар – С-1,2; стерилизатор воздушный ГП-640-ПЗ; паровой стерилизатор LAC-6065sp и т.д. Зарубежное оборудование было закуплено в 2008-2010 гг. специально для воспроизводства СПФ-животных (рис. 1).



Рис. 1. Оборудование лаборатории гнотобиологии НЦБМТ РАМН для получения лабораторных животных СПФ-статуса.

В создании коллекционного фонда мышей СПФ-статуса строго соблюдали гнотобиологическую технологию, которая включает аппаратуру и комплекс методологических приемов, направленных на получение и поддержание гнотобиотических, в т.ч. СПФ-категорий, животных. Основой гнотобиологической аппаратуры в данном случае был не гнотобиологический изолятор, а приобретенная зарубежная изоляторная система «RAIR Isosistem», состоящая из 144 микроизоляторов (рис. 2).



Рис. 2. Изоляторная система «RAIR Isosistem».

Данная изоляторная система содержания лабораторных животных обеспечивает защиту не только самих лабораторных животных, но и обслуживающего их персонала. Специальные воздушные клапаны создают комфортную температуру и влажность для животных, снижают контакт обслуживающего персонала с животными, очищают воздух помещений от аллергенных частиц кожи и шерсти животных, существенно снижают запах в помещении, что улучшает условия работы персонала. В течение часа воздух в клетке обменивается до 50 раз, при этом система обеспечивает его подачу в клетку без сквозняков. При полном отключении микроизолятора от системы воздухоподачи СПФ-статус животных сохраняется до 4 ч, за счет специального фильтра, размещаемого в крышке изолятора, что позволяет не только переносить клетки в пределах одного учреждения, но и перевозить их на значительное расстояние. Специальные датчики постоянно следят за состоянием микроизолятора, отображая его условия на табло, что существенно упрощает процесс. Обслуживание микроизоляторов производится по стандартным операционным процедурам, как правило, не вызывающим существенных затруднений в работе.

Результаты и их обсуждение

Как было уже отмечено, стандартизация лабораторных животных обеспечивается, прежде всего, современной технологией их разведения, содержания и кормления. Впервые в НЦБМТ РАМН была отработана и внедрена современная технология получения и выращивания лабораторных животных СПФ-статуса в изоляторной системе с использованием гнотобиологических методов. От-

работаны режимы стерилизации корма, воды, клеток, подстилочного материала и т.д. Стерилизацию проводили, в основном, в воздушных стерилизаторах ГП-640-ПЗ, а также в паровом стерилизаторе LAC-6065sp. Учитывая, что любая стерилизация разрушает патогенную ценность корма, лабораторные животные нуждаются в белково-витаминной добавке. Апробирован и другой способ стерилизации гранулированного корма гамма-лучами. Этот вид стерилизации считается наиболее щадящим, в первую очередь, к витаминам. Однако, из-за высокой стоимости такая обработка корма не находит широкого применения.

В настоящее время в НЦБМТ РАМН в СПФ-статус переведены 13 линий мышей коллекционного фонда: BALB/c, C57BZ/6, DBA/2, AKR, C57BL/10,101/H, CBA/Y, B/Ks, 129/Y, C3H/He A/sn, WR, B10GFP (зеленые). Ведется племенной учет всех линий.

Выводы

1. В результате работы в НЦБМТ РАМН были получены СПФ-животные: мыши линий BALB/c, C57BZ/6, DBA/2, AKR, C57BL/10,101/H, CBA/Y, B/Ks, 129/Y, C3H/He A/sn, WR, B10GFP.

2. Для получения лабораторных животных СПФ-категории необходимо, прежде всего, иметь современное оборудование, отработанную гнотобиотехнологию и хорошо подготовленный обслуживающий персонал.

3. Переход на изолированную систему содержания лабораторных животных в заинтересованных учреждениях позволит иметь качественных, здоровых животных, свободных от патогенной микрофлоры, т.е. животных СПФ-статуса, которые крайне необходимы как основа экспериментальной медицины.

Список литературы

1. Абдрашитова Э.Х., Зайцев Т.И. и др. Стандартизация лабораторных животных по состоянию здоровья // Ланималогия. 1993. № 1.

2. Болотских Л.А., Подопригора Г.И. Разработка и использование гнотобиологических методов в лабораторном животноводстве. В сб.: Актуальные вопросы стандартизации лабораторных животных для медико-биоло-

гических исследований. М. 1987. 23 с.

3. Болотских Л.А., Лушникова З.С. Усовершенствованный способ получения гнотобиотических животных // Биомедицина. 2005. № 1. С. 114-115.

4. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. М.: Профиль-2С. 2010. С. 89-90.

Actual issues of laboratory animals standardization for biomedical and biotechnical researches

L.A. Bolotskykh, N.N. Karkischenko, Kh.Kh. Semenov, I.Yu. Egorova, T.B. Beskova, Z.S. Lushnikova, N.V. Kasinskaya, L.Kh. Kazakova

Received as a result of the SPF-animals may be recommended by the concerned agencies with the purpose to get reliable and reproducible results of biomedical experiments with participation of experimental animals.

Key words: insulating system, gnotobiotic methods, sterilization, SPF-animals.

