Rus-LASA
НП «ОБЪЕДИНЕНИЕ СПЕЦИАЛИСТОВ ПО РАБОТЕ С ЛАБОРАТОРНЫМИ ЖИВОТНЫМИ»

Конференция
«Технологические процессы в современном виварии»
24 апреля 2023.

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ имени М.В.ЛОМОНОСОВА

Устройство современного вивария

Ловать М.Л.

Руководитель испытательного центра «виварно-экспериментальный комплекс ООО «НИИ Митоинженерии МГУ»», ВНС каф. высшей нервной деятельности биологического ф-та МГУ

MITOTECH SKQ

Задача: «Постройка/ переоборудование /заселение вивария»

С чего начинать?

Нанять подрядчика?

С создания **рабочей группы** по виварию.

???

В нее входят:

- **Исследователи**

(ставят задачи)

- Ветеринарный врач

(технологии)

- Администрация

(приказы, финансы)

- Члены этической комиссии

(правовые вопросы и законы)

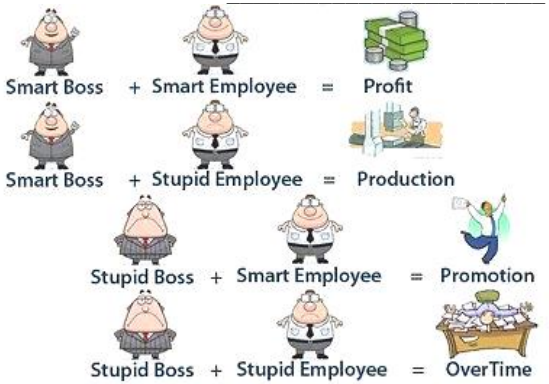
- Инженеры

(оценка реализуемости)

Разделение на функциональные блоки, назначение ответственных

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор ООО «НИИ Митоинженерии МГУ»

Пример: *Структурная организация Испытательного Центра «Виварно-экспериментальный комплекс ООО «НИИ Митоинженерии МГУ»» (ИЦ ВЭК)*



Администрация ИЦ ВЭК

Отдел обеспечения качества
Кушнир Е.А.

Отдел исследований на животных
Андреев-Андриевский А.А.

Отдел лабораторных исследований
Фролова О.Ю.

Отдел патоморфологии
Манских В. Н.

Выделенный персонал

Ветеринарный отдел
Шкомова А.С.

Отдел технического обслуживания
Пермяков О.А.

Архив
Архипова И.М.

!Приказ! - о создании центра и его структуре

Все должны знать: кто, на каком уровне и за что отвечает

Работа над концептом:

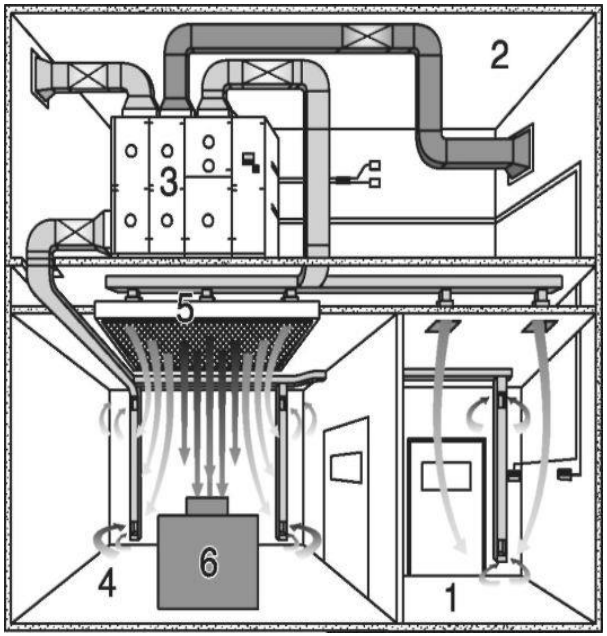
Обоснование затрат

на использование
качественных животных
в стандартных условиях

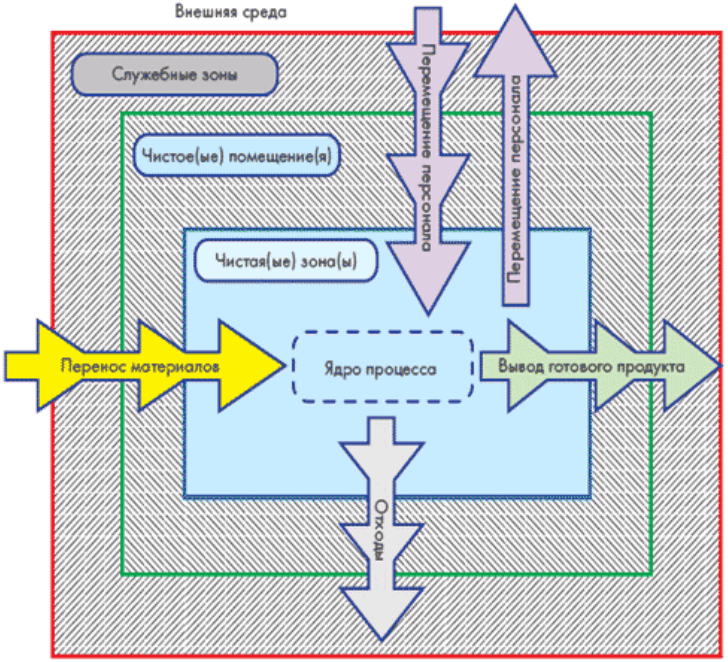
- ***Воспроизводимость*** *результатов:*
  снижение разброса данных⇒ получение достоверных результатов на меньшем числе животных
- *Повышение* ***пропускной способности*** *вивария (отсутствие «сезонности» работ, бОльшая плотность посадки животных, меньше повторных серий опытов)*
- ***Публикуемость*** *результатов (за рубежом, в рейтинговых журналах, нет проблем с комиссией по биоэтике)*
- *Возможность* ***колаборации****, привлечения* ***инвестиций***
- *Снижение риска профессиональных* ***заболеваний*** *у персонала*
- *Меньше проблем и расходов при* ***внешних проверках*** *учреждения*

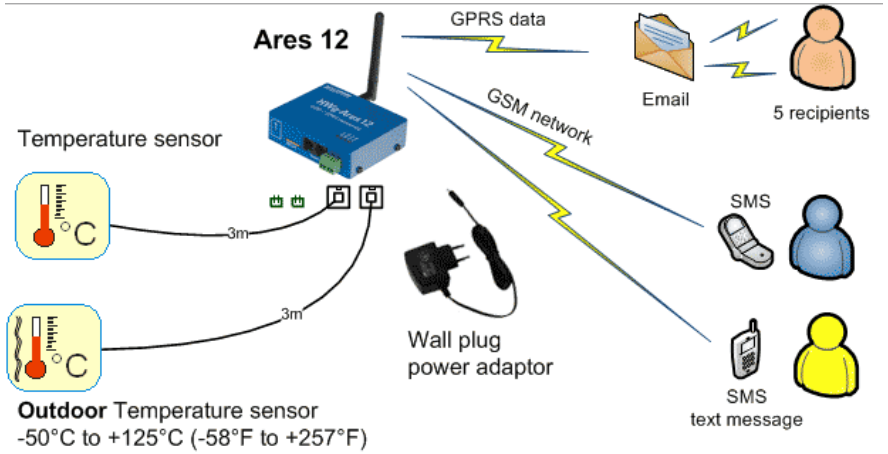
Рост престижа и доходности всего учреждения

Общие требования к планировке:



- **Отделение** от прочих помещений (отдельное здание/тех.этаж/тамбур)
- **Свой** воздух, стоки, электричество
- **Минимум** объемов:
- *убрать коридоры, двери, лифты, лестницы*
- *опустить потолки (и сделать тех этаж сверху)*
- **Зонирование** помещений
- **Разделение** потоков
- Система аварийного **оповещения**





Что **должно** быть в **любом** виварии?

- **Своя приточно-вытяжная <u>климатическая</u> машина, с фильтрами (от ЕИ7) и увлажнителем**

Самый важный слайд!

- **Ограничение <u>доступа</u>**

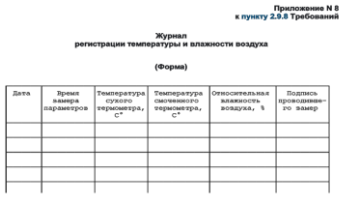
- **Выделенный большой <u>моечный</u> блок**

- **<u>Резервирование</u> (вода, тепло, электричество)**

- **<u>Склады</u> для хранения (корм, подстил, оборудование, документы)**

- **Письменный <u>мониторинг</u> основных потоков**

(люди, воздух, животные, материалы, отходы)



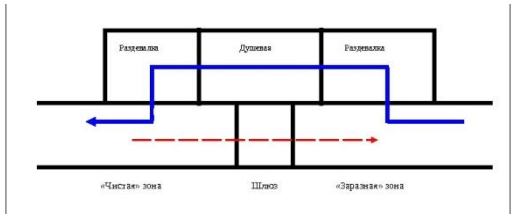
Приложение N 8
к пункту 2.8.8 Требований

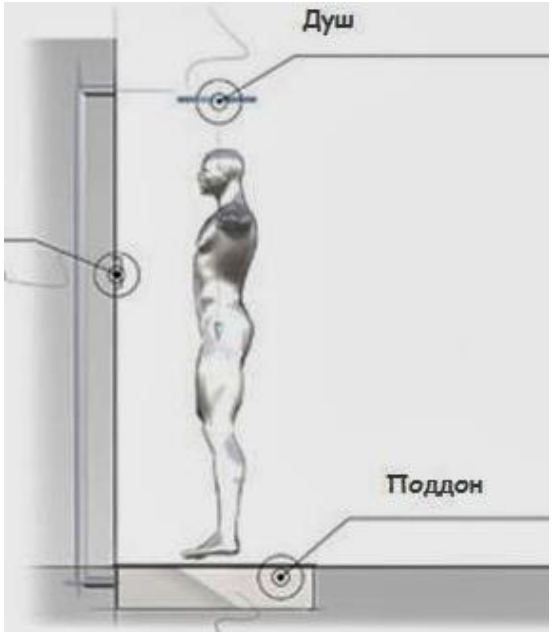
Журнал
регистрации температуры и влажности воздуха

(Форма)

Дата	Время замера параметров	Температура сухого термометра, С°	Температура смоченного термометра, С°	Относительная влажность воздуха, %	Подпись проводившего замер

- **Шлюзы**: для людей, материалов и животных





Воздушный шлюз

Душ
(проходной:
лейка на
потолке, сток
в полу, полка
– и все!)

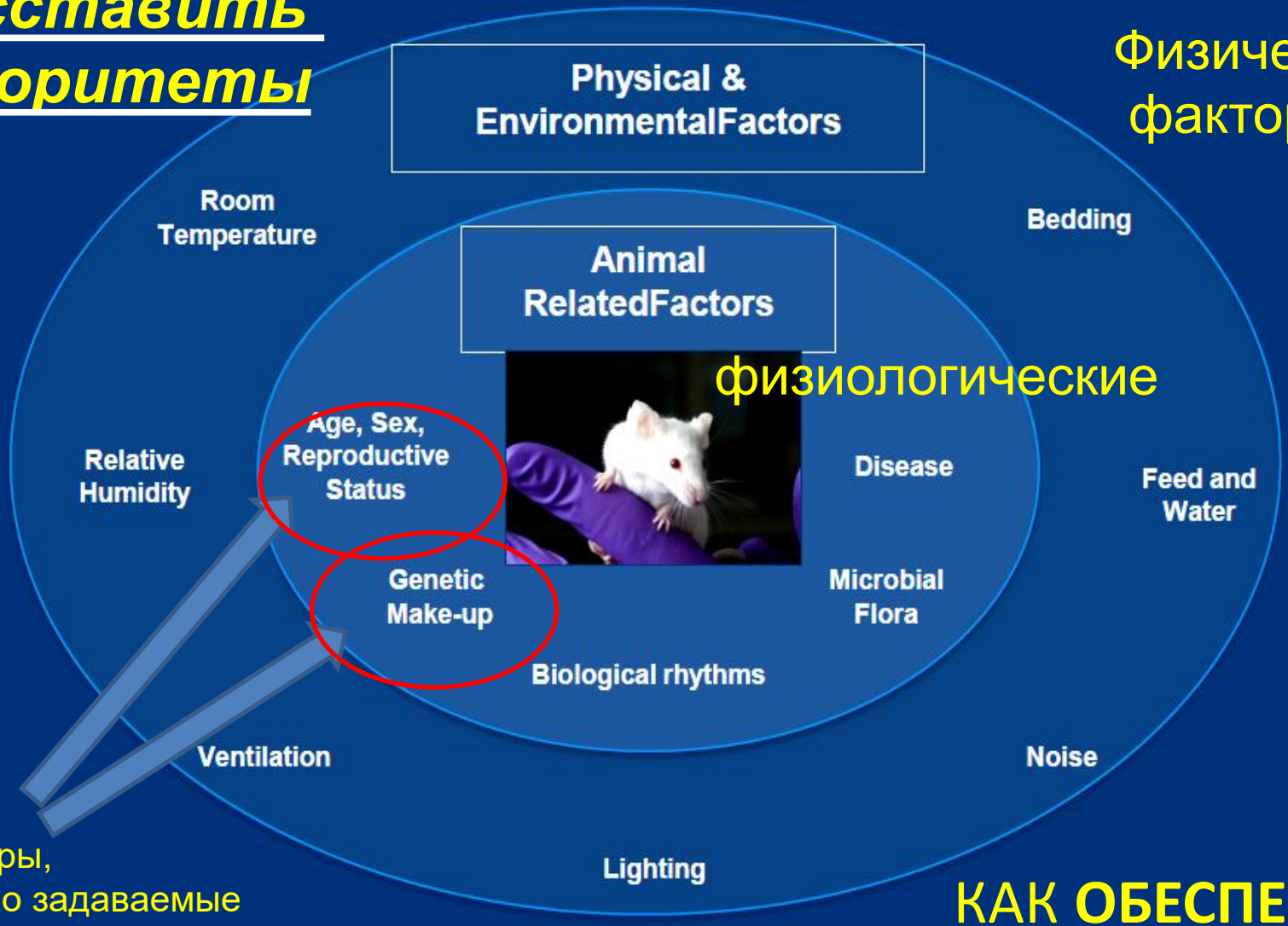
Гермицидный шлюз:
заранее подобрать его
размер (клетки!, приборы!)
и **конфигурацию**
смежных комнат (стол с
лампой, емкости для
замачивания, для отходов)

*Остальное зависит от **функций** вивария*

Выбрать ведущие факторы, которые важны для **ВАШИХ** исследований:

Расставить приоритеты

Физические факторы



Факторы, обычно задаваемые экспериментатором

КАК **ОБЕСПЕЧИТЬ**?

Сбор данных о планах работ

(на ближайший год!):

Какие животные:

- Статус **чистоты** (Аксенные/SPF/конвенция/патогены?)
- Будет ли **разведение**,
- **Виды** животных
- **Линии** (трансгенез)
- **Количество**
  (по виду и статусу: пиковая загрузка*2)

Эксперименты:

- Острые или **хронические** (дожитие)
- Сколько научных **групп**
  (монархия/коллективное пользование)
- **Направления** исследований

Кадры:

- (кто будет работать в **штате** вивария, а кто – **приходить**, режим для колаборaторов и кто за что отвечает).

(Пример: поведение + биохимия + секция+ трансгенез. SPF крысы, мыши, хроническое содержание до 500 крыс и 2000 мышей;
3 научные группы: 6 штатных ученых)

Требования к условиям содержания:

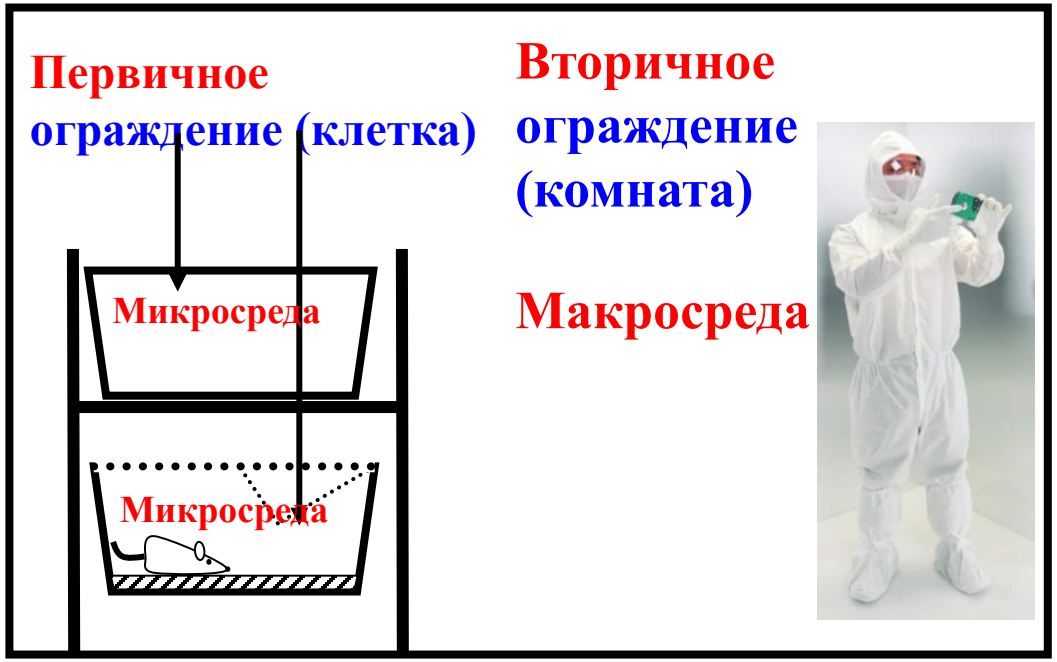
Приложение А к Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 г.) ETS N 123

«Все виварии должны быть построены таким образом, чтобы обеспечить **подходящие условия** **окружающей среды** содержащимся в них животным в соответствии с их физиологическими и поведенческими **потребностями**…»

Но что есть окружающая среда?

Есть внешняя, микро- и макро-:

Внешняя среда



Микробиологическая единица

– помещения с общим воздухом (между разными единицами – барьеры).

внутри микроорганизмы распространены +- равномерно!

Различные микробиологические единицы → различная конструкция помещений (расположение, «толщина» барьеров, направления защиты)

Различные системы содержания для грызунов разного статуса

- Конвенциональные – стандартные системы содержания без дополнительных уровней контроля (?).
- Барьерные («не внеси») – рассчитаны на защиту содержащихся животных от нежелательных патогенов.
- Germ-free – высокоспециализированные системы, исключающие воздействие на животных любых микроорганизмов.
- Биоизоляция («не вынеси») – система содержания разработана таким образом, чтобы защитить других животных и персонал от исследуемого или естественно наличествующего опасного агента (биологического, химического, радиоактивного).

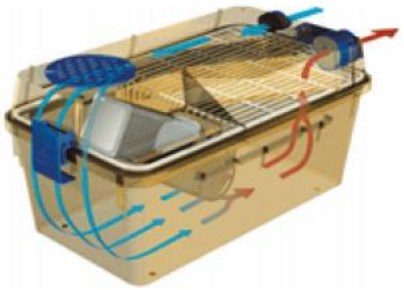
Концептуальное решение:

где поддерживать данные условия?

- В комнате/или ее части
  Изолятор/ чистая зона

- В клетках

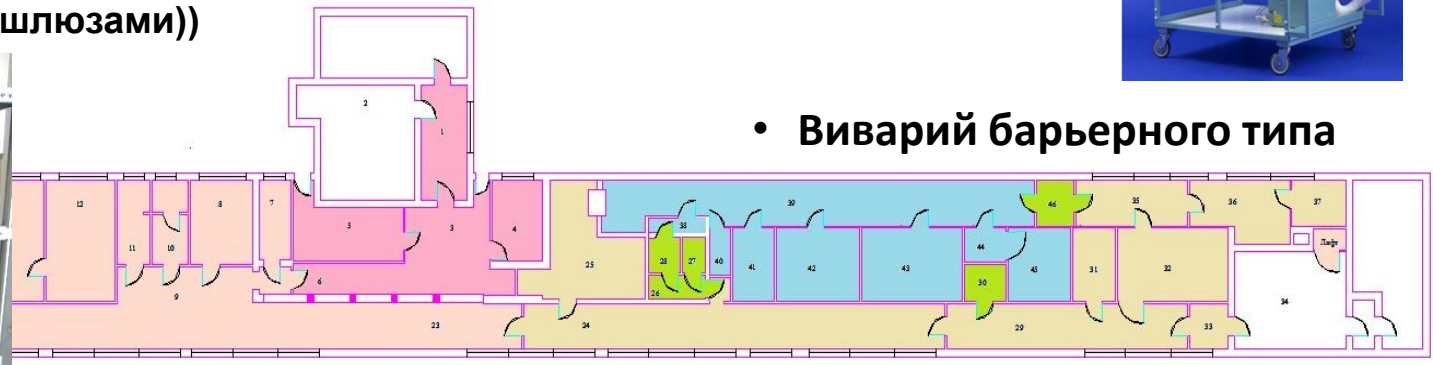
Системы индивидуально вентилируемых клеток (IVC=ИВК)



Выбор зависит от количества, вида животных и экспериментов, финансов

- В комнатах
  Открытое содержание

в помещениях барьерного типа (барьеры представлены шлюзами))



- **Виварий барьерного типа**

Индивидуально вентилируемые клетки (ИВК)

+ высокая **надежность** защиты
+ стабильность параметров
+ компактность
+ быстрота запуска и остановки
+ меньше кратность воздухообмена в помещении (ок. 5 об/ч)
+/- возможность содержания животных разных статусов здоровья

- Необходимость климатической установки
- сложность проведения «громоздких» экспериментов
- выше требования к персоналу (риск заноса инфекции)
- требует вспомогательных помещений
- высокая стоимость стартового комплекта

Гнотоизолятор

+ **стерильность! Работа с патогенами**
+ безопасность
+ компактность
+ быстрота запуска и остановки
+ ниже требования к асептике персонала

- сложно работать
- малый размер манипуляционного поля
- необходимость климатической установки
- требуется система выходной деконтаминации

Применение: простые манипуляции с небольшим количеством животных высокого качества

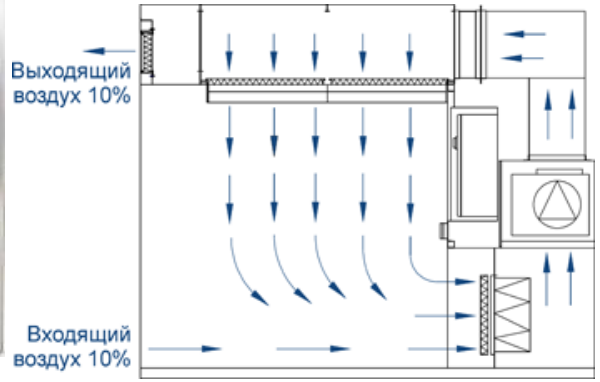
- *Работа с патогенными агентами и микроорганизмами I-II-III-IV групп патогенности*
- *Работа с радиоизотопами и канцерогенами*
- *Работа со сложными нокаутами*
- *Фармацевтика, Органический синтез, Криминалистика*

Чистый сектор («капсула»)

+ компактность
+ возможность инсталляции в работающем институте **(+клетки с фильтрами для перемещения)**
+ относительно недорого
+ возможность проведения более громоздких опытов
+ несложно обслуживать
+ возможен «апгрейд» до ИВК

- ниже класс чистоты, больше риск заражения
- при заражении страдают все животные
- трудно валидировать
- требует вспомогательных помещений

Применение: временное содержание небольшого числа животных в малоприспособленных помещениях

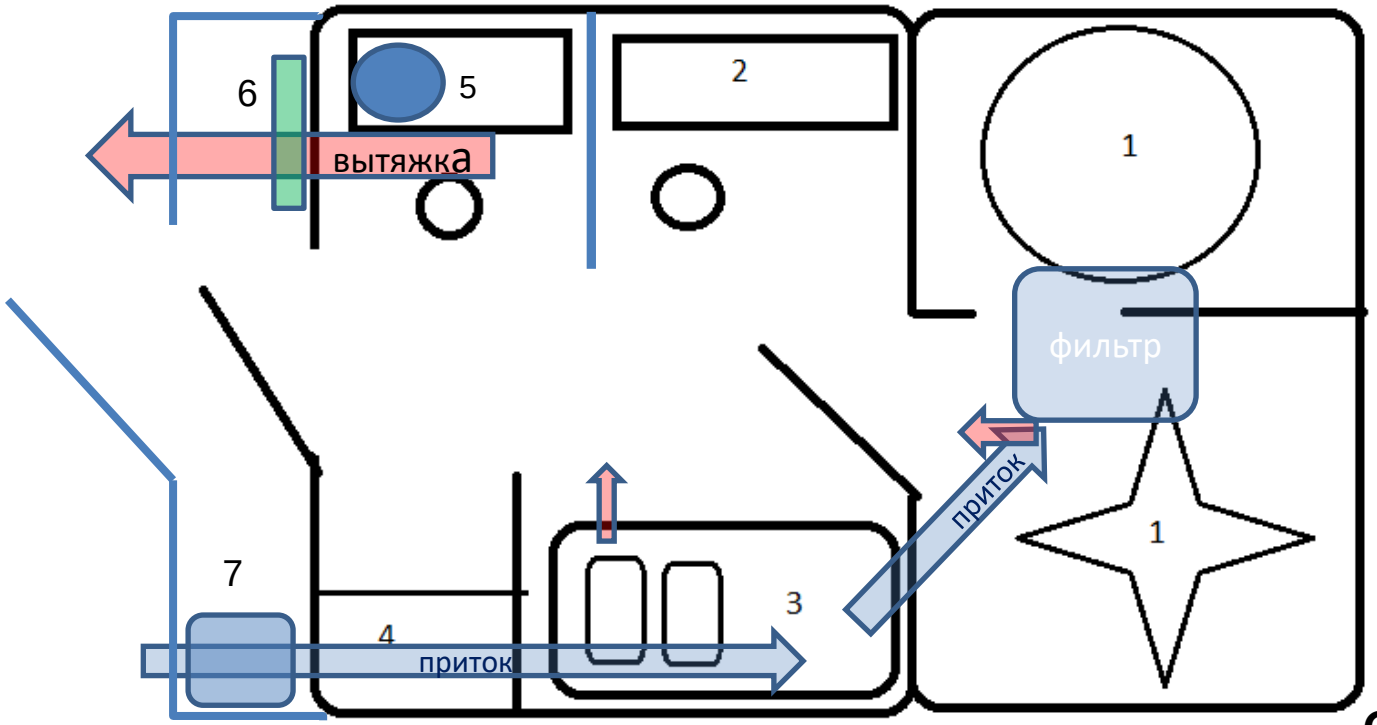


Кабина с нисходящим потоком

Передвижной модуль

Ламинарный бокс

Пример конвенциональной «капсулы» площадью 20 м2



1. Поведенческие (хирургические) установки
2. Стол оператора
3. Зона передержки и манипуляции с животными (ламинар)
4. Склад «чистый»
5. Стол и стеллажи для «грязных» предметов и манипуляций
6. Банкетка (переобувание) и вешалка (внутренняя одежда)
7. Душ

Сопутствующее оснащение:

1. Мойка
2. Стиральная машина
3. Стерилизатор
4. Склады
5. Архивы
6. Офис

Виварий барьерного типа

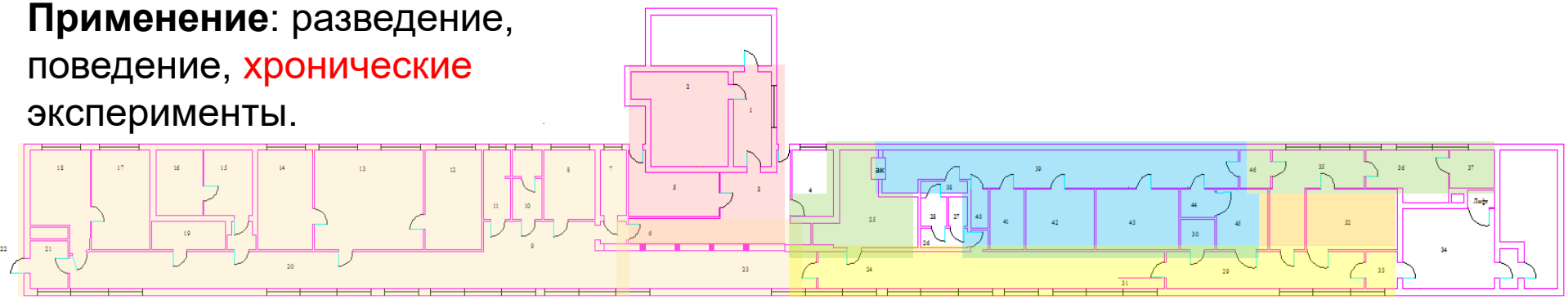
- Отделен от других помещений санпропускниками (улицей)
- Зонирование (сектора)
- Избыточное давление в зоне содержания
- Разделение потоков

(чистые/грязные для людей, животных, материалов)

+ надежность
(прощает ошибки в эксплуатации)
+ полифункциональность
+ много места для экспериментов
+ меньшая себестоимость на 1 животное

- большая площадь
- трудоемкость сан.обработки
- затраты мало зависят от количества животных
- при заражении страдают все животные
- нельзя временно отключить
- сложно вносить и обслуживать аппаратуру

Применение: разведение, поведение, хронические эксперименты.



Иногда **комбинируется** с ИВК (ядро линии для разведения, трансгенез)

Факторы среды обитания в виварии, влияющие на благополучие лабораторных грызунов

Макросреда

Физические
параметры (воздух, температура, влажность, освещённость, шум)

Химические
параметры (корм, подстил, вода)

Биологические
Здоровье животных + микробиологическая безопасность

Социальные
Соседи, жизненное пространство

Микросреда

Физические факторы: ВОЗДУХ

- **Воздухообмен: 15-20 объемов в час**

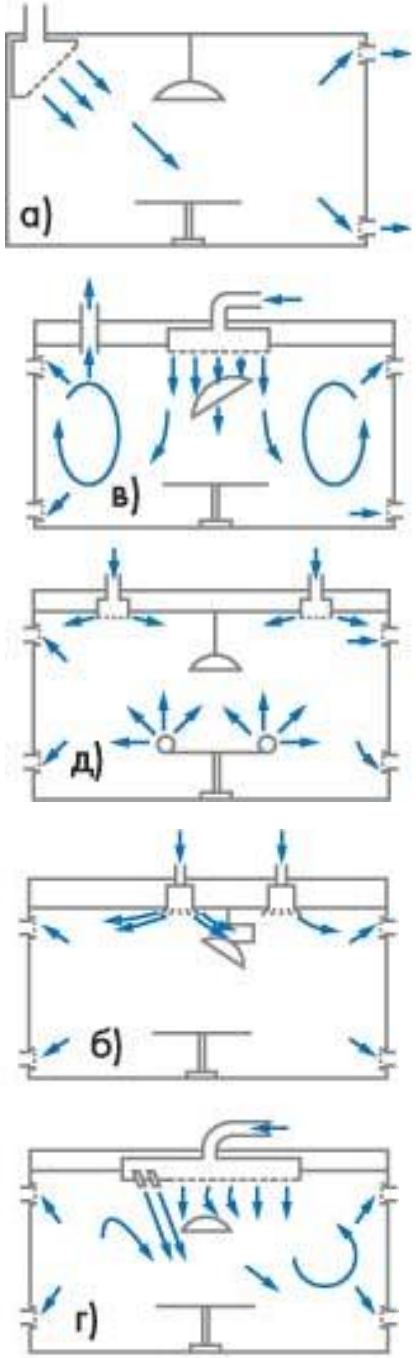
  (можно снизить до 8-10 объемов в час)

  ✓чем больше плотность содержания, тем выше кратность

✓высокий уровень воздухообмена необходим для удаления:

- тепла,
- влажности
- аммиака,
- углекислого газа,
- частиц в воздухе
- инфекционных агентов

потоки



- **Воздух должен быть очищен и не должен содержать токсических компонентов!!!**
- **Исключение вредных для животных сквозняков и беспокоящих шумов**
- **Запрет на курение в помещениях, где находятся животные**

Физические факторы - ТЕМПЕРАТУРА:

Термогигрометр

- **20-24 ° (20-26 согласно Guide-2010)**

•термонейтральная зона для мышей 26-34^0; для крыс- 26-30^0

•в клетке t может быть на 6° С выше, чем в окружающей среде

•новорожденные, молодые и не имеющие шерстного покрова животные, прооперированные, больные или травмированные животные – требуют более высоких значений температуры (гнезда, домики)

- **Ежедневно измерять** (журнал)

- **Регулировать в зависимости от потребностей**

Перегрев – опаснее переохлаждения!

•Изменения температуры могут отразиться на:

✓ ***поведении*** (чем выше температура, тем больше агрессивность животных, при снижении температуры животные горбятся, дрожат),

✓ ***уровне метаболизма*** (при снижении температуры большее потребление пищи для теплопродукции, изменение скорости метаболических процессов, в том числе - метаболизма лекарственных препаратов).

Физические факторы ВЛАЖНОСТЬ:

30-70 % - для большинства млекопитающих

45-65% (55+/-15) – грызуны

Относительная влажность может влиять на:

- Терморегуляцию
- Потребление пищи
- Уровень активности
- Передачу возбудителей заболеваний

- Длительное снижение влажности:

у отнятых от груди крыс –
воспалительные процессы респираторного тракта;
появление колец на хвостах у молодых грызунов,

Приточно-вытяжная система (HVAC):

Приток:

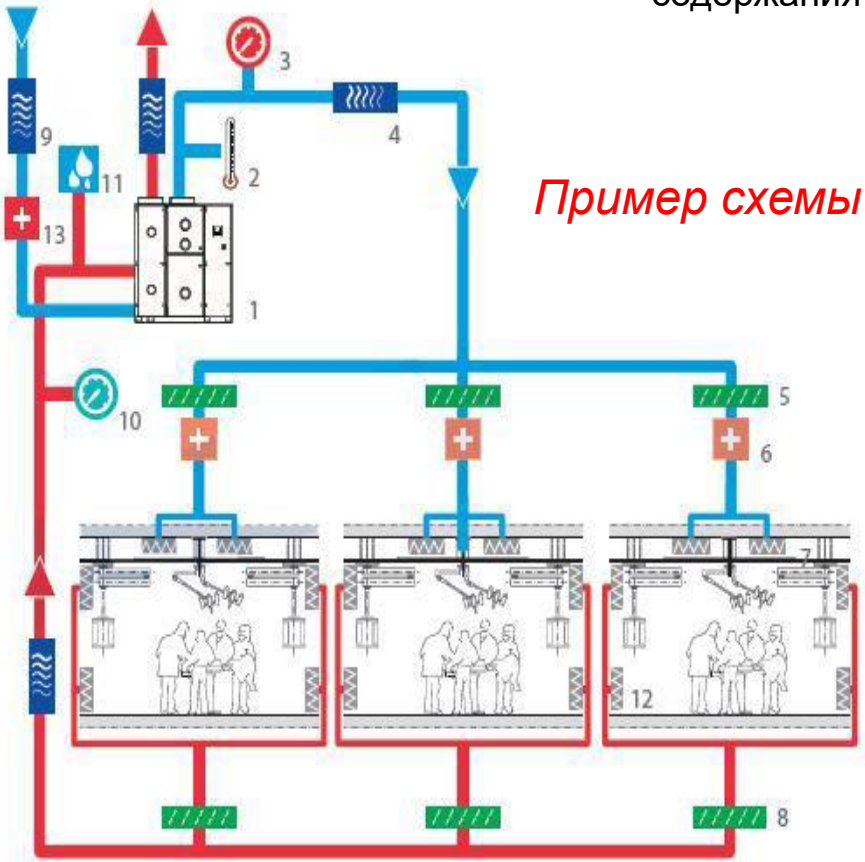
Самое дорогое из необходимого

- Ввод не менее 15 м от дверей и окон
- Входной грубый фильтр (класс 3) + запорный клапан
- Моторы притока
- Основные фильтры, датчики dP, T
- Фильтры тонкой очистки (класс 7) + стерилизатор (УФ опционально)
- Климатическая установка: датчики, увлажнитель, кондиционер/рекуператор
- Регуляторы-распределители
- Фильтры стерилизующие (класс 11) (только для барьерного SPF вивария)

Вытяжка:

- фильтры грубой и средней очистки
- Регуляторы
- Моторы
- Факельный выброс: 15 м от окна\крыши

- **Дублирование** с возможностью быстрого переключения для чистки (люки) и ремонта (за стенами или потолком/под полом)
- **Бесшумность**
- **Ламинарность** и объемность потоков (приток сверху, через большую площадь, вытяжка внизу (иначе духота и/или сквозняки!)
- Климатическая установка – **ближе** к комнатам содержания

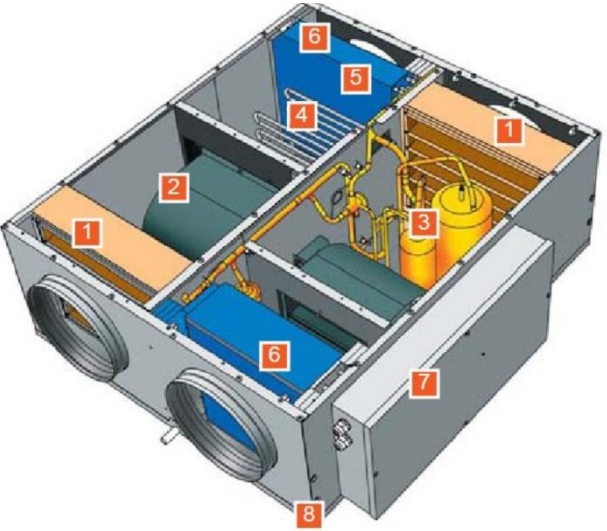


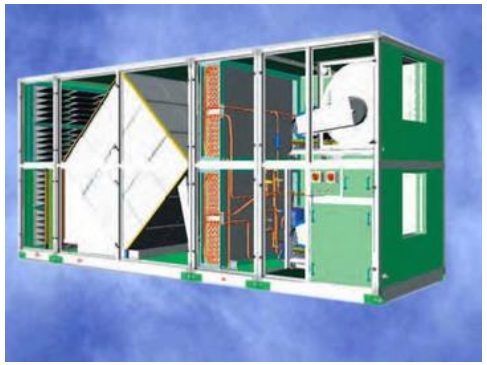
Пример схемы

Какие варианты?:

Отдельная автоматическая климатическая установка !

Охлаждение/осушение/нагрев воздуха





Микроклиматическая установка - от 2 млн.

400-700 т.р., 800-4500 м3/ч

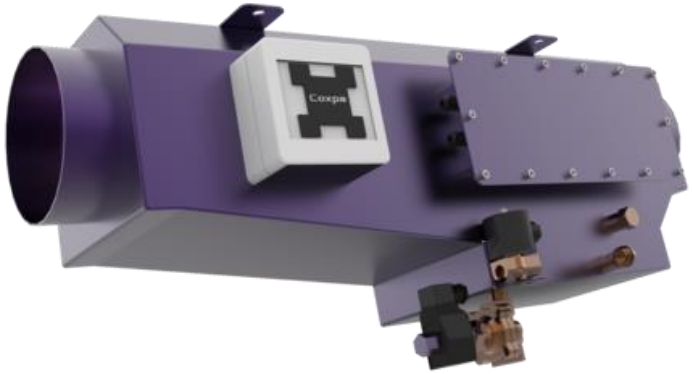
Комплексная приточно-вытяжная установка *(для небольших помещений (до 20 м2 – типа «Климат» - с увлажнителем , за потолок).*

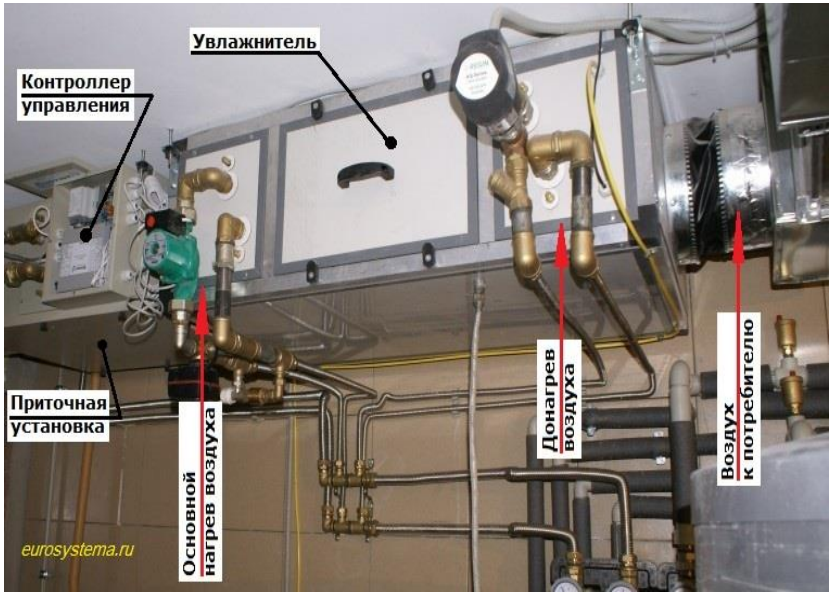
Важно правильно установить!

Увлажнители воздуха

Бытовые – неэффективны:
расход зимой - до100 мл/м^2 в **час**!

Ультразвуковые:3-45 л/ч:
+ экономичны, производительны
- Нет плавной регулировки,
- Можно использовать только **канальные, не комнатные** (УЛЬТРАЗВУК слышен для грызунов!)



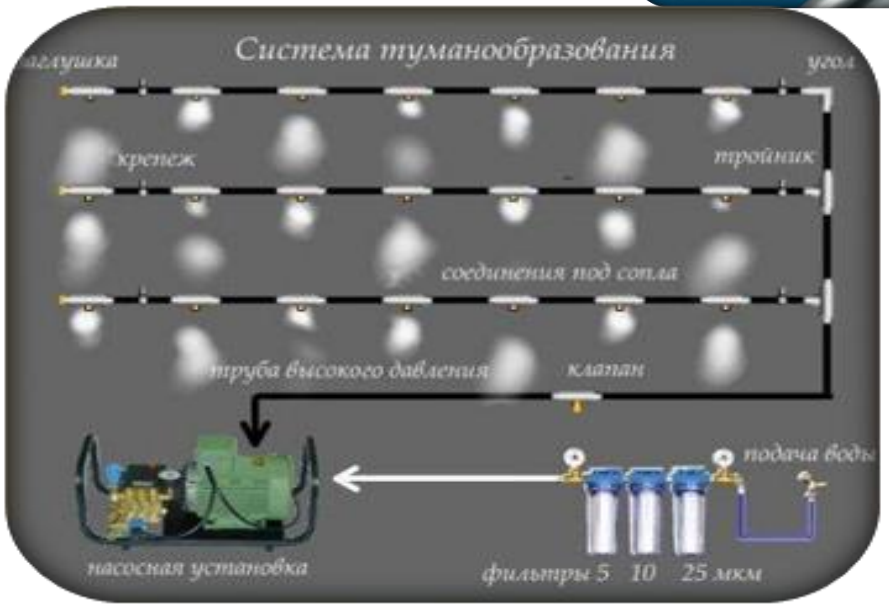


Нагревательные (принцип чайника):
5-350л/ч
+ точная настройка, надежность
- потребление энергии (в 20 раз больше)
- дороже

Увлажнители воздуха

Форсуночные:

от 5 до 50 л/ч



- Требуют обессоленную воду (водоподготовка)
- Капля 20-40 мкм (нужен большой поток)
- **Текут** (учесть при монтаже и обслуживании)

+ точность поддержания влажности
+ компактны
+ недороги при покупке и эксплуатации

Барабанные

до 7 л/ч

+ стоимость прибора и эксплуатации
+ стабильность параметров
+ делает пар (не капли)
- небольшая производительность
- громоздкие, ненадежны (пока)

Физические факторы

ШУМ, ВИБРАЦИЯ - проверить

Max сила звука - до 85 дБ

- **Следует минимизировать уровень шума, находящегося в диапазоне слышимости животных**
- **Учитывать акустические факторы во время планирования помещений, использовать шумоизоляцию**

Грызуны крайне чувствительны к ультразвуку, общаются в этом диапазоне:

Ультразвук - выше 20 кГц

(от лабораторного оборудования, капающих кранов, колесиков тележек и компьютерных мониторов) может вызвать:

- Нарушения репродуктивного цикла и снижение репродуктивных способностей
- Увеличение размера надпочечников и давления крови
- Шум может вызывать судорожные приступы у молодых животных
- Изменение параметров поведения, способности к обучению
- Изменение потребления пищи и воды
- Иммунный ответ, количество лейкоцитов
- Уровень холестерина в плазме крови

ОСВЕЩЕНИЕ

Лампы накаливания или диодные

Система регулирования освещения

- **Контролируемое искусственное освещение**

❑ В пустом, оснащенном помещении:
до 400 люкс в 1 м от пола

❑ Для животных, склонных к ретинопатии (альбиносы!): **130 - 325 люкс на уровне клетки**

❑ В центре клетки: **до 40 люкс**

❑ Крысы альбиносы предпочитают **<25люксс**

- **Не ставить клетки на верхнюю полку (*крыша*)!**
- **Использовать красный свет для наблюдения ночью**

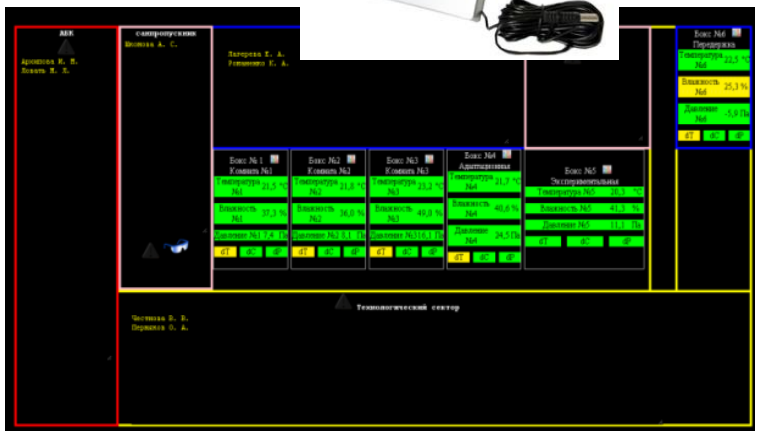
Суточный таймер

❑ **12-часовой фотопериод: 9.00-21.00**

- При необходимости **- постепенная смена дня и ночи (15 мин/сут),**
- Проведение экспериментов **в одно и то же время** для всех животных (уровень метаболизма у крыс выше в ночное время)
- Сажать животных **по группам вертикально** на стеллаже и **ротировать сверху вниз.**

✓ **Длина волны** влияет на вес органов и продолжительность эстрального цикла у мышей

Работу всех систем нужно контролировать (*Мониторинг*)



- Динамика микроклимата

(температура, влажность, перепад давления в помещениях)

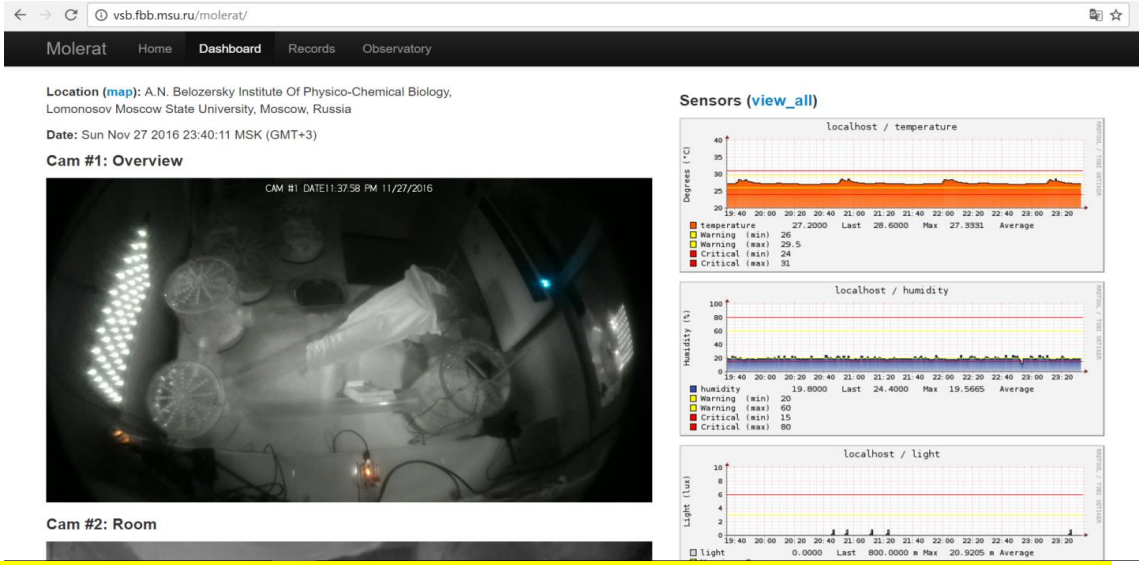
- **ежедневно** записывать (распечатывать)!

Приложение N 8
к пункту 2.9.8 Требований

Журнал
регистрации температуры и влажности воздуха

(Форма)

Дата	Время замера параметров	Температура сухого термометра, С°	Температура смоченного термометра, С°	Относительная влажность воздуха, %	Подпись проводивше-го замер



Инструкции на случай ЧП должны лежать на видном месте!

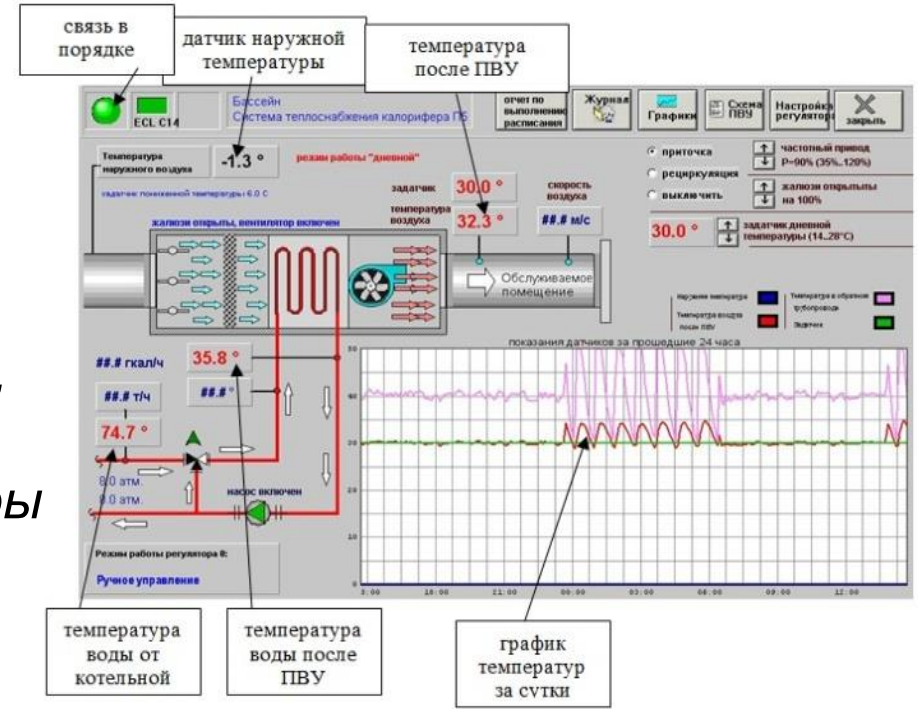
Мониторинг процессов вивария

- *Параметры **климатической** установки (скорость моторов, температура притока, разница давлений до/после фильтров, таймер смены фильтров*

***Таймеры** смены УФ ламп, чистки парогенератора, фильтров и т.п.*

*Термологгеры GSM в **холодильниках**,*

Термометры, гигрометры, манометры (в т.ч. в архивах)

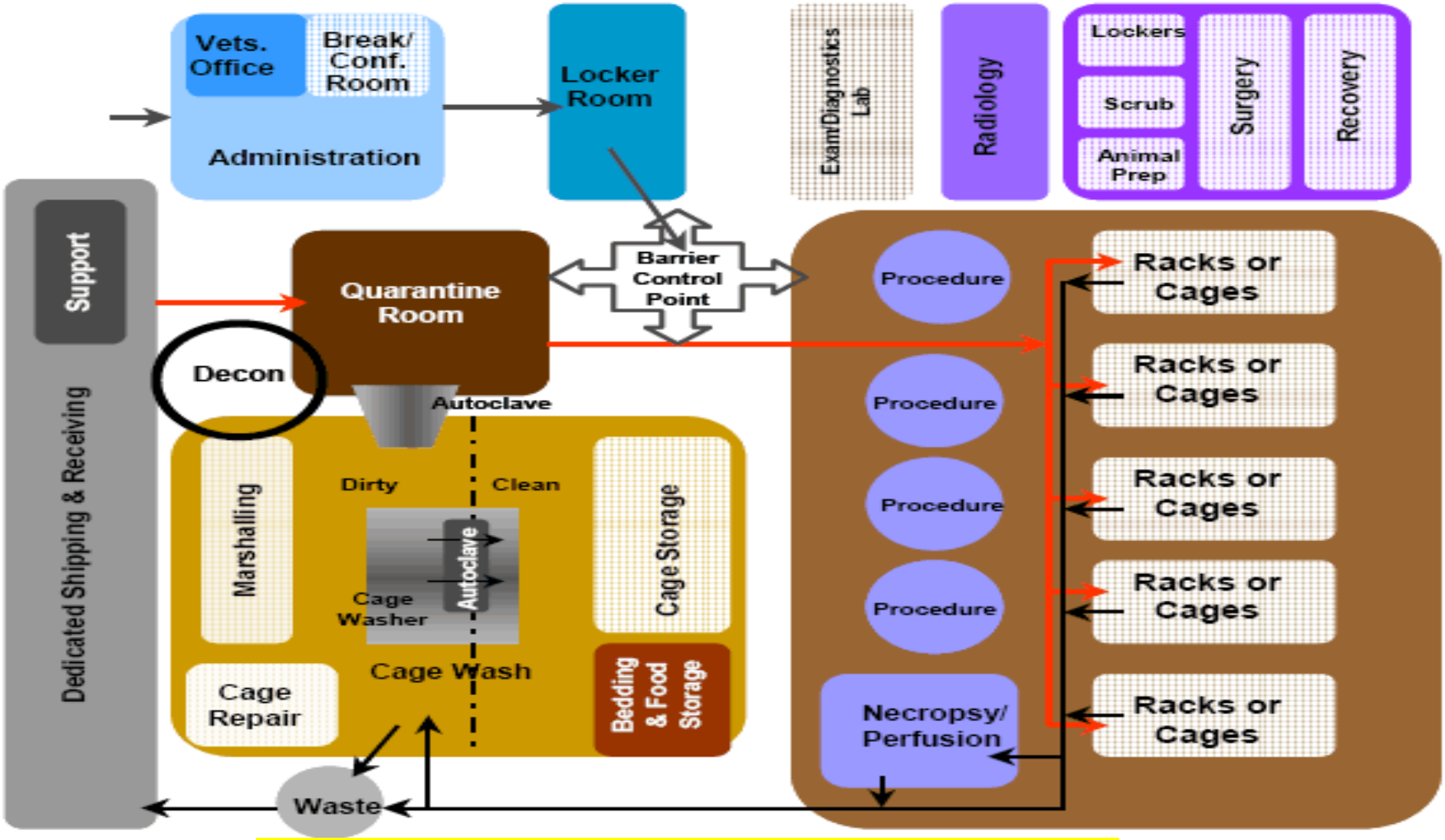


- Датчики поломки систем жизнеобеспечения (пожар, потоп, выход температуры за нормы, отключение электричества)

!их сигналы не должны беспокоить животных!

Составление функциональной схемы

*(ГДЕ ЧТО, **без стен**):*



!Моечный блок – сердце вивария!

Рисуем потоки

для **всего,** что движется:

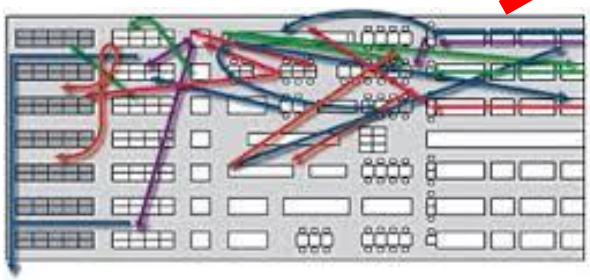
- техников
- ученых
- животных
- расходников
- оборудования
- реактивов
- отходов

*** Получается**

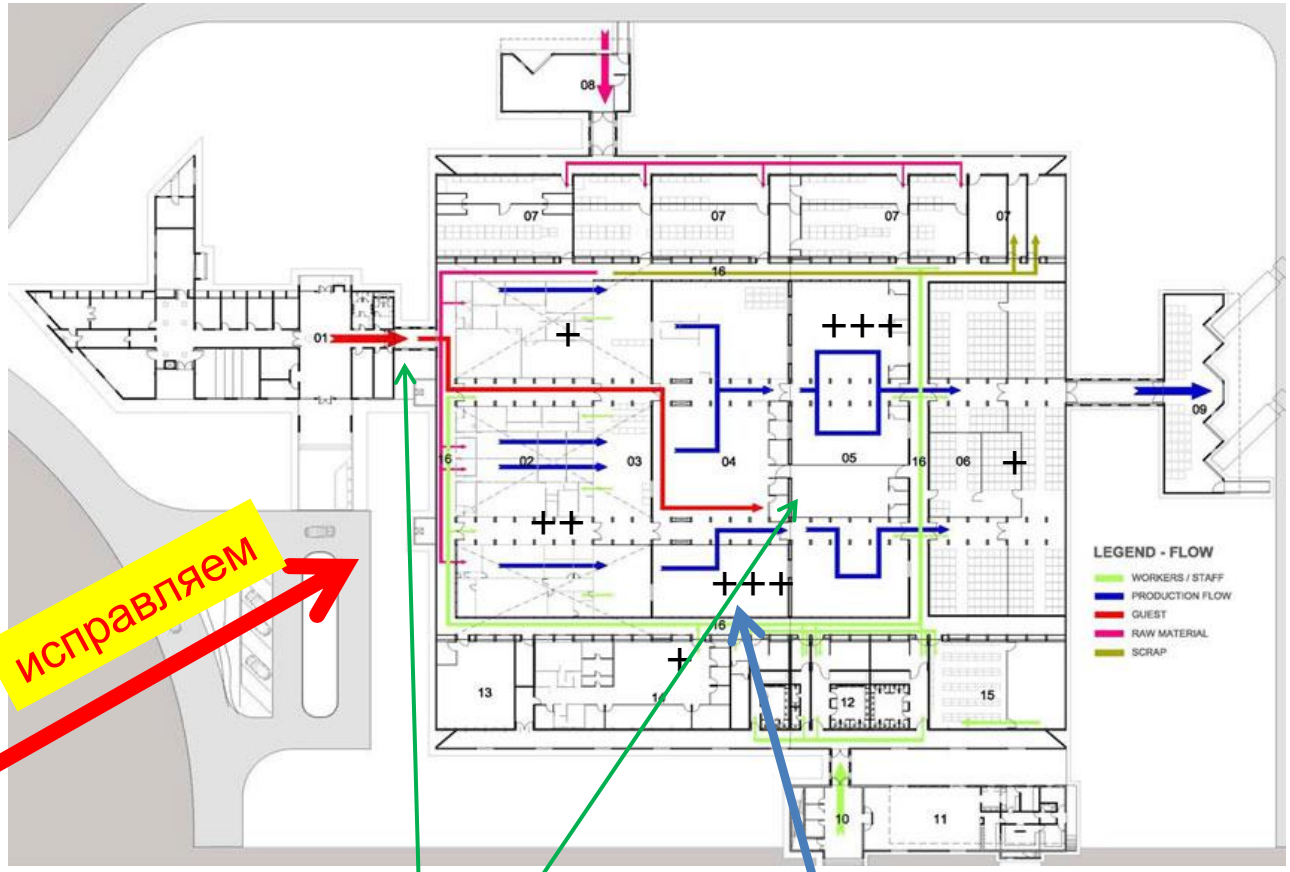
спагетти- диаграмма:

Переносим блоки по движению потоков:

От чистого к грязному



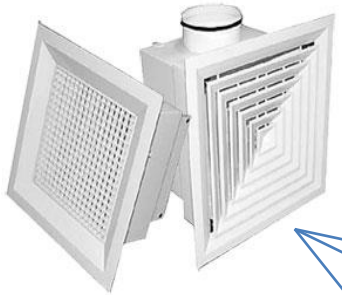
исправляем



Рисуем барьеры (-)

Рисуем перепады давлений (+)

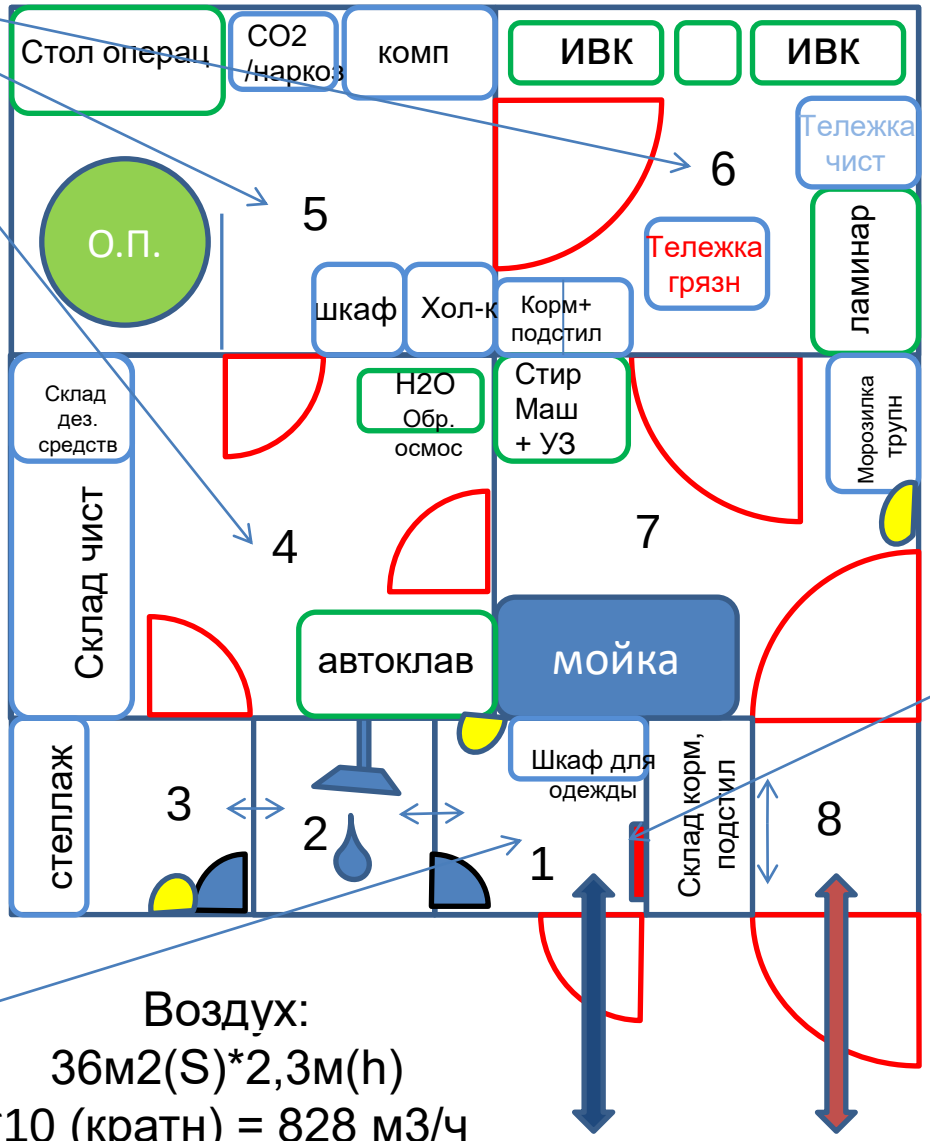
- Пересекаются? Исправляем регламентом!
- **Все склады и хранилища – по ходу движения**



Пример: блок 36 м2 на 600 мышей или 200 крыс

Потоки разделены, нет коридоров!

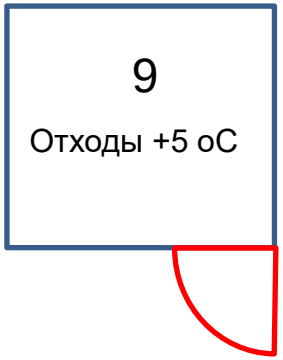
1- раздевалка
2- душ+шлюз
3 - раздевалка
4 - ЦСО + склад
5 - экспериментальная
6 - содержание
7 - моечная
8 - шлюз + склад
9 - *склад отходов*



- Мойки

- Накопители для мусора

Автоматика, контроль доступа



HVAC – над потолком

Воздух:
36м2(S)*2,3м(h)
*10 (кратн) = 828 м3/ч

Создание технического задания для строителей:

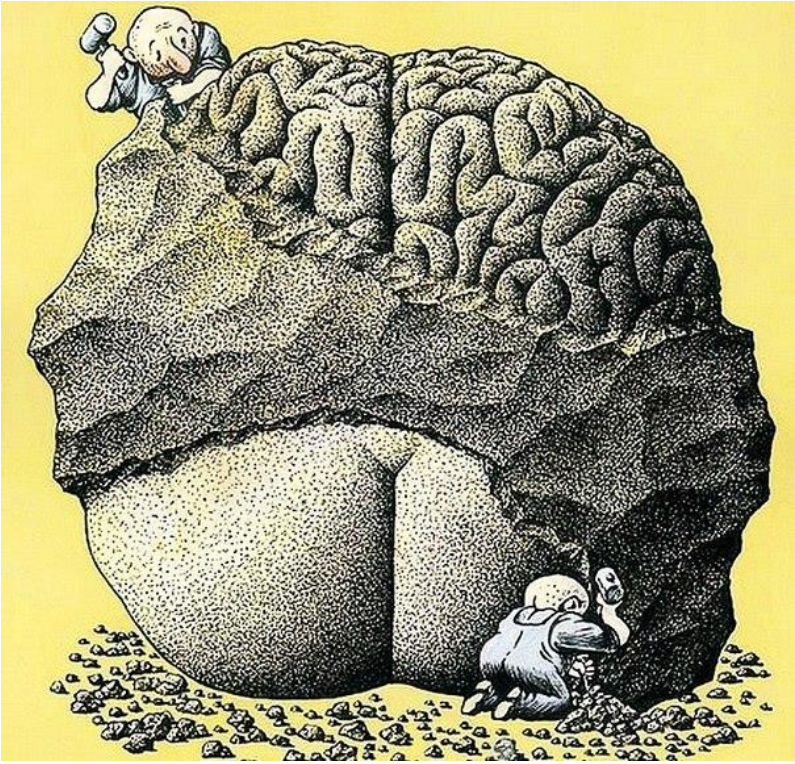
- Расположение в здании
- Блоки (зоны)
- Площади комнат (без коридоров)
- Требования к помещениям *(желательно к каждому):*

✓ **Степень важности** помещения (дублирование вводов, контроль доступа, резервирование, стабильность параметров, автономность)
✓ **Освещенность** (люксы, таймер, регулировка, искусств/естественное)
✓ **Воздухообмен** (кратность, перепад давлений)
✓ **Температурный и влажностный диапазон**
✓ **Устойчивость поверхностей** к истиранию, УФ, воде, щелочи/кислотам
✓ Количество потребляемой **воды и электроэнергии**
✓ Дополнительные опции (газы, дистиллят, доп. вытяжка и т.д.)

Теперь можно обращаться к подрядчику

Спасибо за внимание!

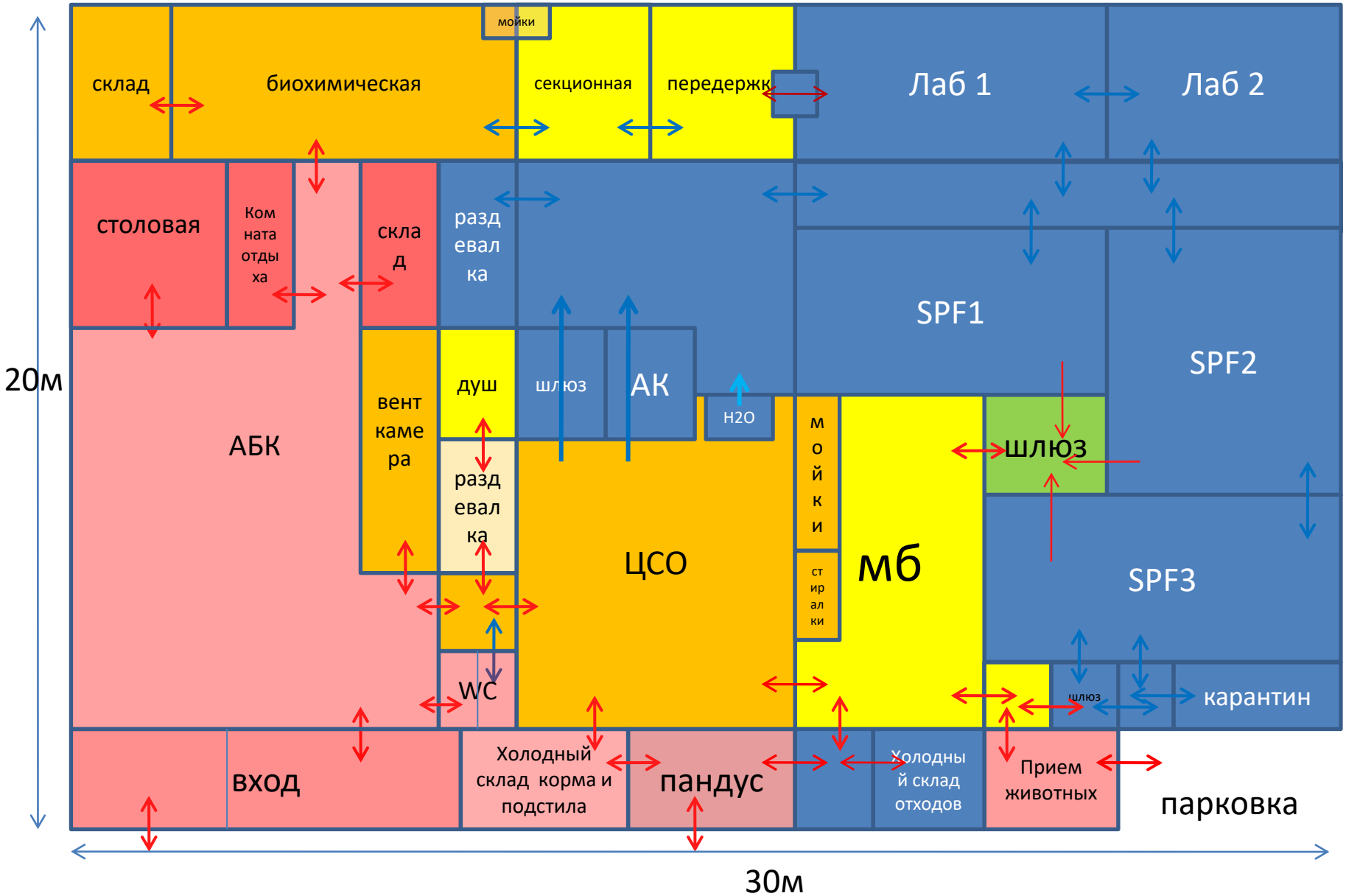
Главное – одинаково понимать идею...



Если есть вопросы – попробую ответить

Зачем это все знать технику?
Чтоб уметь правильно пользоваться!

Пример вивария (600 м^2)



- двери, шлюзы

без коридоров (страшный сон пожарника)!