Центральная научно-исследовательская лаборатория

ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России

ПЛАН ИССЛЕДОВАНИЯ

НАЗВАНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Коды исследуемых веществ: вписываете, если есть исследуемые вещества

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Ответственный исполнитель, должность | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  подпись, дата | Фамилия И.О. |
| Руководитель,  должность | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  подпись, дата | Фамилия И.О. |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Проверено | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  подпись, дата | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  Фамилия И.О. |
| Присвоен номер | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ |  |

Томск 202\_

1. **Информация об исследовании**

|  |  |
| --- | --- |
| Тип исследования: *(выбрать нужное)*   * фундаментальное, * доклиническое испытание новых хирургических технологий, * доклиническое испытание новых инвазивных и неинвазивных методов диагностики, лечения, * доклиническое испытание новых лекарственных препаратов, биологически активных добавок, биоактивных веществ, * доклиническое испытание новых клеточных технологий, * доклиническое испытание новых медицинских материалов, * тестирование токсикологических, мутагенных, эмбриотоксических, аллергогенных, канцерогенных свойств веществ, * разработка новых экспериментальных моделей |  |
| Телефон ответственного исполнителя: |  |
| Телефон научного руководителя: |  |
| Дата начала исследования: |  |
| Основные периоды выполнения исследования *(с указанием даты)*:   * формирование экспериментальных групп: * введение экспериментального веществ: * плановая некропсия: * предоставление отчета:   (Приведены примеры основных этапов. Если у Вас другие этапы, то прописывайте их подобным образом) |  |
| Дата окончания исследования: |  |

1. **Список исполнителей**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Должность | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  (подпись) | Фамилия И.О. |
| Выполняемые манипуляции | *Здесь описываются процедуры, которые выполняет исполнитель, например формирование экспериментальных групп, моделирование патологии, некропсия, получения легочного сурфактанта* | |
| Должность (если студент, то учащийся факультет и группа) | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  (подпись) | Фамилия И.О. |
| Выполняемые манипуляции | *Здесь описываются процедуры, которые выполняет исполнитель, например формирование экспериментальных групп, моделирование патологии, некропсия, получения легочного сурфактанта* | |

1. **Регулирующие стандарты** *(Нормативные документы, выделенные заливкой, не удаляйте! Добавляйте дополнительно документы, на основании которых будет проводиться исследование)*

* ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами»;
* Euroguide on the accommodation and care of animals used for experimental and other scientific purposes. © 2007 FELASA: Federation of European Laboratory Animal Science Associations, 25 Shaftesbury Avenue, London W1D 7EG, UK;
* СанПин 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», утвержденные главным государственным санитарным врачом Российской Федерации от 28 января 2021 г. № 4;
* Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, ISBN-13: 978-0-309-15400-0, 246 pages, 2011.

1. **Контроль содержания и использования животных** *(не удалять и не изменять данный пункт)*

Использование животных в исследовании рассмотрит комиссия по контролю содержания и использования лабораторных животных (IACUC) ЦДИ ЦНИЛ ФГБОУ ВО СибГМУ на предмет соответствия Политике работы с лабораторными животными ЦДИ и нормативным документам, регулирующим работы с лабораторными животными.

1. **Цель исследования**

Указывается цель работы

1. **Обоснование исследования**

Указывается актуальность вашего исследования или необходимость проведения в рамках установленных законом требований (токсичность) – объем не более 1 стр. А4.

1. **Дизайн исследования**

Приводится подробное описание выполняемого исследования. Обязательно указываются порядок формирования экспериментальных групп, режимы дозирования, частота введения веществ и способ.

1. **Методы исследования**
2. **Введение веществ** *(описание процедуры введения исследуемого вещества)*

Пример 1 описания процедуры:

<Вещество вводится внутривенно болюсно в хвостовую вену. Объем введения составляет 10 мл/кг. Объем введения для каждого животного рассчитывают в соответствии с его массой тела. Для введения используют шприцы на 1 мл с иглой 27G и меньше (один шприц на животное). Введение веществ осуществляют ежедневно один раз в день в первой половине дня на протяжении 28 дней.>

Пример 2 описания процедуры:

<Препараты вводятся внутримышечно в четырехглавую мышцу бедра. Для дозы 0.250 мл/животное из флакона с препаратом, содержащего 0.5 мл, шприцем отобрать 0.250 мл, максимально избегая потери. Использовать один шприц (объемом 1 мл, с впаянными иглами 27-30G) на одно животное. Введение осуществляют в первой половине дня (09:00-12:00), режим введения - раз в две недели, 5-ти кратно.>

Если введение веществ животным не предполагается, то в данном пункте указать:

<Введение веществ производиться не будет>.

1. **Внешний вид, смертность** *(описываете, как часто будут выполняться процедуры)*

Выявление смертности, тяжелого состояния, общего состояния здоровья и признаков токсичности будет проводиться ежедневно.

1. **Клинический осмотр** *(описываете, как часто будут выполняться процедуры)*

Клинический осмотр будет проводиться при формировании групп и еженедельно (1, 8, 15, 22, 29-й дни исследования).

1. **Масса тела** *(описываете, как часто будут выполняться процедуры)*

Масса тела будет регистрироваться при формировании групп и раз в неделю в последующем (1, 8, 15, 22, 29-й дни исследования). Масса тела голодного животного непосредственно перед некропсией будет взята для расчета процентного отношения массы органов к массе тела.

1. **Потребление корма** *(описываете, как часто будут выполняться процедуры)*

Потребление корма будет определяться количественно для клетки содержания еженедельно (1, 8, 15, 22, 29-й дни исследования) взвешиванием решетки с кормом в начале и спустя 24 часа.

1. **Сбор проб** *(описываете, виды проб и как часто будут выполняться процедуры)*

Пример 1 описания процедуры:

Моча собирается у животных с помощью метаболической клетки в конце исследования Животное помещается в метаболическую клетку после 28-го введения или после периода отмены введения во второй половине дня на ночь без корма, но со свободным доступом к воде. Порция собранной мочи передается на общий анализ.

Пример 2 описания процедуры:

Перед некропсией будет взята кровь для анализа клинической патологии/биохимического анализа из нижней полой вены после предварительной анестезии животных изофлураном.

1. **Патологическая анатомия и гистология**
2. **Животные в тяжелом состоянии и умершие во время исследования** *(не удалять и не изменять данный пункт)*

Действия в отношении животных, находящихся в агональной стадии или умерших во время исследования, определяются соответствующей СОП ЦДИ. Умирающие животные подвергаются эвтаназии и вскрываются (при необходимости). Эвтаназия умирающих животных выполняется после решения руководителя исследования или IACUC.

1. **Эвтаназия** *(описываете способы эвтаназии)*

Пример 1 описания процедуры:

Животные подвергаются эвтаназии ингаляцией CO2 с последующим обескровливанием (максимальным забором крови для лабораторных анализов), согласно действующей СОП.

Пример 2 описания процедуры:

Эвтаназия будет проводиться методом цервикальной дислокации, согласно соответствующей СОП.

1. **Некропсия** *(описываете процедуру некропсии)*

Пример 1 описания процедуры:

Сразу после ингаляции Xe001 животные всех групп будут подвергаться эвтаназии методом цервикальной дислокации с последующей некропсией. При некропсии будут исследованы внешнее состояние тела и грудная полость. Все отклонения от нормы будут зафиксированы. Бронхолегочной комплекс будет выделен и использован для получения супернатанта и морфологических исследований.

Пример 2 описания процедуры:

Проводят полную некропсию тел всех животных. При некропсии исследуют внешнее состояние тела, внутренние поверхности и проходы, полость черепа, грудную, брюшную и тазовую полости с находящимися в них органами и тканями, шею с органами и тканями, каркас и скелетно-мышечную систему.

1. **Масса органов**

Пример описания процедуры:

Нижеследующие органы (соответствующие полу) будут взвешены у всех животных при запланированной некропсии: *перечисляете органы*. У умерших животных или животных, подвергнутых незапланированной эвтаназии, органы взвешиваться не будут. Парные органы будут взвешены вместе. Кроме абсолютного веса органов, будет определено процентное отношение веса органа к весу тела согласно действующей СОП.

1. **Морфология и гистология**

Приводится описаниепроцедуры фиксации органов с последующей подготовкой и окрашиванием.

1. **Лабораторные тесты**

Приводится описание лабораторные тестов, которые будут проводиться на базе центра доклинических исследований с указанием требуемых материалов и реактивов. Если тесты будут проводиться в другом месте, этот пункт не описывается.

1. **Гематология**

Пример описания процедуры:

Кровь собирается в пробирки с ЭДТА. Анализ будет проводиться в день взятия проб на ветеринарном гематологическом анализаторе ВС 2800 согласно действующей СОП по следующим параметрам: количество эритроцитов (RBC), среднее содержание гемоглобина в клетке (MCH), уровень гемоглобина (HGB, средняя концентрация гемоглобина на клетку (MCHC), гематокрит (HCT), средний объем эритроцита (MCV), количество лейкоцитов (WBC), количество тромбоцитов (PLT), лейкоформула.

1. **Биохимия сыворотки**

Пример описания процедуры:

Образцы цельной крови после свертывания центрифугируются для получения сыворотки. Сыворотка замораживается (-20°С) и хранится при -20°С до выполнения измерений. В сыворотке крови будет определено содержание фосфолипидов и белка. Содержание фосфолипидов будет определено спектрофотометрически с помощью набора Phospholipids (Cronolab, Испания). Содержание белка будет оценено спектрофотометрически c использованием бицинхиноновой кислоты (BCA).

С помощью биохимического анализатора в сыворотке определяются следующие параметры: аланинаминотрансфераза (ALT), креатинин, альбумин (A), глобулин (G), отношение A/G, глюкоза, щелочная фосфатаза (AP), ионорганические фосфаты, аспартатаминотранфераза (AST), калий, ззот мочевины крови (BUN), натрий, кальций, общий билирубин, хлориды, белок, холестерин, триглицериды.

1. **Биохимия мочи**

Описание процедуры по примеру п. 9.6.2.

1. **Животные**

|  |  |
| --- | --- |
| Вид: | *Mus musculus* (мышь домовая) |
| Линия/сток/порода: | Balb/c |
| Пол и количество животных: | 20 самок |
| Статус здоровья: | конвенциональные |
| Возраст к началу исследования: | 11 недель |
| Масса животных к началу исследования: | 20 г |
| Источник получения животных: | НИИ Фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга |

1. **Условия содержания** *(не удалять и не изменять данный пункт)*

Животных будут содержать в виварии ЦДИ ЦНИЛ ФГБОУ ВО СибГМУ. Содержание и уход за животными будут осуществлять согласно СОП ЦДИ. В комнате содержания животных будут поддерживаться следующие параметры микроклимата: температура воздуха 20-26 °С, относительная влажность воздуха 40-70 %, воздухообмен 8-15 объемов/ч, световой режим регулируемый 12:12. Контроль параметров микроклимата и ведение соответствующих учетных записей осуществляется дважды в день.

1. **Клетки** *(не удалять и не изменять данный пункт)*

Животные будут содержаться группами в клетках типа Т2, T3, Н4, Евразия плюс *(выберите верное)*. Клетки снабжены решетчатыми крышками из нержавеющей стали с углублением для корма и поилки. Замена загрязненных клеток и клеточного оборудования, их дезинфекция и стерилизация проводится не реже 1 раза в неделю.

1. **Подстил** *(не удалять и не изменять данный пункт)*

В качестве подстилочного материала будут использовать предварительно простерилизованную сухую (не более 15 % влажности) обеспыленную древесную стружку лиственных пород деревьев (ИП Филонич А.А., г. Новосибирск).

1. **Корм** *(не удалять и не изменять данный пункт)*

Животные будут иметь неограниченный доступ к полнорационному гранулированному корму «Чара» для крыс и мышей (ГОСТ Р 51849-2001, ООО «Ассортимент-Агро», г. Сергиев Посад Московской обл.). Предварительно простерилизованный корм помещается в кормовое углубление крышки. Подготовка корма осуществляется согласно соответствующей СОП.

1. **Вода** *(не удалять и не изменять данный пункт)*

Животные будут иметь постоянный доступ к питьевой воде, находящейся в поилках (бутылочки из поликарбоната с крышкой из нержавеющей стали). Приготовление воды будут осуществлять согласно СОП.

1. **Адаптация и карантин** *(не удалять и не изменять данный пункт)*

Животные перед экспериментом будут проходить адаптацию к условиям среды не менее 3-5 дней.

1. **Распределение по группам** *(не удалять и не изменять данный пункт)*

Животные будут распределены по группам случайным образом (чтобы разброс по исходной массе не превышал ±10 % от ее среднего значения). Рандомизацию будут проводить с использованием стандартного генератора псевдослучайных чисел (программа анализа данных AtteStat 12.5). Критерий рандомизации – масса тела.

1. **Идентификация**

Будут использоваться методы групповой и индивидуальной идентификации согласно СОП. Каждая группа будет содержаться в отдельной клетке и иметь идентификационную карточку-этикетку. Индивидуальная идентификация будет осуществляться методом маркировки ушей, цветных меткок, выстриживания волос и т.д. (*прописываете, каким способом будете проводить).*

Перед описание процедуры ознакомьтесь с информационным материалом ниже!

Метод идентификации должен быть надежным и вызывать минимальный дискомфорт и боль у животного, как во время его применения, так и в отдаленном периоде. При необходимости следует использовать местные анестетики и анальгетики.

В качестве методов идентификации крыс и мышей используется маркировка ушей иссечением фрагмента ушной раковины хирургическими ножницами или её перфорированием специализированным пробойником. Ушные метки выполняются стерильным инструментом с соблюдением правил асептики. Необходимо контролировать, чтобы метки оставались различимыми в течение исследования. Ушные метки могут повреждаться другими животными (особенно у самцов) или зарастать (проколы).

При проведении кратковременных исследований допускается маркировка мышей и молодняка крыс цветными метками на теле (бриллиантовым зеленым, раствором фукарцина, хирургическим маркером) или выстрижением шерсти. Необходимо учитывать, что цветные метки со временем стираются! Выстриженный участок шерсти зарастает в течение 8-10 дней.

Метки отмечаются (при необходимости) на карточке клетки. Запись о выполнении меток (лист кодировки меток) прикладывается к пакету данных по исследованию и должен быть доступен персоналу, выполняющему манипуляции с животными и некропсию.

1. **Лишение корма**

Пример описание процедуры:

Животных лишают корма в конце исследования перед забором крови.

1. **Исследуемые вещества и образцы сравнения** *(если имеются)*
2. **Исследуемый образец**

|  |  |
| --- | --- |
| Название/код в исследовании: |  |
| Полное название: |  |
| Описание: |  |
| Производитель: |  |
| Поставщик: |  |
| Лот: |  |
| Количество: |  |
| Срок годности: |  |
| Условия хранения: |  |

1. **Реактив** (подразумевается вещество, которое будет использоваться как инициатор какого-либо процесса, например, Адъювант Фрейнда, липополисахарид, опухолевые клетки и т.д**.**)

|  |  |
| --- | --- |
| Название/код в исследовании: |  |
| Полное название: |  |
| Описание: |  |
| Производитель: |  |
| Поставщик: |  |
| Лот: |  |
| Количество: |  |
| Срок годности: |  |
| Условия хранения: |  |

1. **Растворитель** *(если имеется)*

|  |  |
| --- | --- |
| Название/код в исследовании: |  |
| Полное название: |  |
| Описание: |  |
| Производитель: |  |
| Поставщик: |  |
| Лот: |  |
| Количество: |  |
| Срок годности: |  |
| Условия хранения: |  |

1. **Подготовка вещества для введения**

Пример описания процедуры:

Тестируемое вещество готовится в виде раствора в 0,9% NaCl для инъекций в концентрациях: 0,2 мг/мл, 0,6 мг/мл, 1 мг/мл. Дозы до введения хранятся при 5±3°C.

1. **Анализ данных**

Пример описания процедуры:

Для всех данные будет применена описательная статистика: подсчитаны среднее значение и стандартная ошибка среднего, которые вместе со значением n (количество вариант в группе) будут представлены в итоговых таблицах. Для определения значения минимальной дозы, которая вызывает достоверный эффект, данные будут проанализированы тестом Kruskal-Wallis для непараметрических данных. Большая доза будет проанализирована, используя двусторонний тест. Меньшая доза будет проанализирована односторонним тестом, основываясь на изменениях, обнаруженных при анализе большей дозы. Если различий между дозами обнаружено не будет, данные будут проанализированы тестом U Mann-Whitney для непараметрических данных для выявления достоверного различия между контрольной группой и каждой дозой. Анализ будет выполнен для каждого пола отдельно.

Статистический анализ будет проводиться программой AnalystSoft Inc., StatPlus - программа статистического анализа, версия 2009. Различия определяются при 0.05% уровне достоверности и отражаются значком \*.

1. **Изменения плана исследования**

Изменения утвержденного Плана/Протокола исследования обсуждаются руководителем исследования и ответственным исполнителем и документируются в форме поправки, которая утверждается и имеет дату начала действия. Поправки подписываются и датируются и руководителем исследования/ответственным исследователем, и представителем центра ДКИ, и прикладываются ко всем верным копиям Плана/Протокола исследования.

1. **Отклонения исследования**

Все отклонения будут документироваться в данных по исследованию с оценкой их влияния на исследование.

1. **Отчет**

Указывается, кому будет предоставлен отчет об исследовании и в каком виде (протокол исследования, глава диссертации и т.д.).

1. **Документация и архивирование**

Указывается, какие документы должен предоставить центр доклинических исследований для экспериментатора.

Пример описания процедуры:

* План исследования
* Отклонения от плана исследования
* Записи приемки животных
* Записи наблюдения за животными и клинического осмотра
* Записи формирования групп и идентификации животных
* Записи некропсии животных