

Deney Hayvanlarında Temel Uygulamalar

Yard.Doç. Dr. Mutlu KÜÇÜK, Yrd. Doç. Dr. Aydın ÇEVİK, Dr. Rivaze KALAYCI

Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü
Deney Hayvanları Biyolojisi Ve Biyomedikal Uygulama Teknikleri ABD

Araştırmalar için standart deney hayvanların seçimi kadar temel uygulamalardaki verimlilikte deneysel verilerin kalitesine önemli ölçüde etki etmektedir.

Temel uygulamalar; elle tutuş, ilaç verme ve enjeksiyon, kan ve örnek alma tekniklerini içerir. Uygulama öncesinde uygun hayvan seçiminin yapılması (tür, soy, cinsiyet vs) ve seçilen hayvanların tür özelliklerinin iyi bilinmesi gerekmektedir. Elle tutuş tekniğinin doğru uygulanması, araştırmacıların uygulamalarını en verimli şekilde gerçekleştirmelerine, hayvanlarda oluşacak stresin en aza indirgenmesine dolayısıyla deney sonuçlarının doğruluğuna olumlu yönde etki etmektedir.

Seçilen hayvanlara ait biyolojik, fizyolojik ve anatomik özelliklerin iyi bilinmesi, uygun doz ve enjeksiyon yerinin, kan alma için uygun vücut bölgesinin, veriliş yolu ve hacminin doğru saptanmasına ve uygulanmasına olanak sağlayacaktır. Parenteral yolla verilecek maddenin formu ve viskozitesi,

miktarı, enjektör iğnesinin, kullanılacak mide sondasının, kanül ve kateterlerin çapı, solüsyonların pH değerleri gibi faktörlerin de sonuçları etkilediği unutulmamalıdır.

Deneysel çalışmalarda hayvanlarda oluşacak ağrı ve acı; ancak uygun anestezi tekniğinin, uygun anestetik madde ve dozunun, deney protokolünü en az etkileyecek biçimde ve doğru yere uygulanması ile en aza indirilebilmektedir. Hayvanlarda gerekli olması durumunda ilaçla vücudun tamamı veya bir kısmında tam duyu kaybının yaratılması; hayvan modelinin kullanılışlılığını ve etik açıdan geçerliliğini sağlayacaktır.

Daha ileri incelemelerin, organ-doku eldesinin gerektirdiği ötenazi işleminin, tür özellikleri dikkate alınarak, deneyin sonuçlarını etkilemeyecek, insani bir yöntemle yapılmasının gerekliliği, bilimin araştırmacılara yüklediği en önemli etik sorumluktur.

DENEY HAYVANLARINDA TUTUŞ TEKNİKLERİ

Deneyel Araştırmalarda deney hayvanı seçimi kadar hayvanlar üzerindeki temel uygulamaların (elle tutuş, enjeksiyon, örnek ve kan alma vs) verimliliği de deneyel verilerin kalitesine önemli ölçüde etki etmektedir.

Hayvanlar üzerinde elle tutuş tekniğinin doğru uygulanması; hayvanlarda oluşacak stresin en aza indirilmesine ve ardından uygulanacak diğer deneyel tekniklerin de en verimli şekilde gerçekleştirilmesine, olanak sağlamaktadır. Deney hayvanları ile iyi bir iletişimin kurulması ve uygulanacak diğer temel uygulamaların sınanması bakımından bir ön çalışmanın planlanması önerilmektedir. Uygulamalar öncesinde, deney için seçilen hayvanların tür ve soy özelliklerinin iyi bilinmesi gerekmektedir.

Elle tutma işlemi öncesinde;

- Tek kullanımlık eldiven kullanılmalı (aynı zamanda hayvanları enfeksiyondan korumak amacıyla),
- Temastan önce eller yıkanmalı (kokunun rahatsız edici

özelliğinden ve enfeksiyon riskinden korunma nedeniyle),

- Temiz bir laboratuvar önlüğü giyilmelidir.

Ön çalışma sürecinde, elle tutuş işlemi için bir hafta boyunca her gün 10 ila 15 dakika ayrılması, deneyin sağlıklı bir şekilde yürütülebilmesi için yeterli olacaktır.

SIÇAN

Sıçanlardaki Tutuş teknikleri; yapılacak uygulamaya ve uygulama bölgesine göre değişiklik gösterir. Sıçanlara nazikçe yaklaşılmalı, buldukları kafesten kuyrukları yavaşça tutularak dışarı çıkarılmalıdır. Bu işlem sırasında ani ve sert hareketlerden kaçınılmalıdır. Hayvanların çok gelişmiş koku alma duyuları olduğundan bu yaklaşımlarına tepki gösterilmemelidir. Sıçanlar genellikle uysal hayvanlardır. Ancak stres içersindeyken ve ağrı ya da acı çekerken ve korktuklarında ısırma eğilimi gösterirler. Sıçanlara gösterilecek pozitif yaklaşım, küçük dokunuşlar, avuca alma vb davranışlar adaptasyonları için önemlidir (Resim 1,2).



Resim 1



Resim 2

Klasik yöntemde, yavaşça omuzlarından kavranır, toraksa fazla baskı yapmadan hayvanın vücudu avuç içiyle desteğiyle kaldırılır. Baş parmak, mandibulayı yukarı tutar ve böylece ısırılma olasılığı engellenir. Enjeksiyonlar için uygundur.

Diğer bir yöntemde ise hayvanın ense bölgesinden postu sıkıca kavranırken diğer elle de kuyruğu tutulur. Bu yöntem daha çok enjeksiyon ve gavaj vs işlemler için uygundur (Resim 3,4,5).



Resim 3



Resim 4



Resim 5

Hayvanların tutulması için diğere bir yöntem de Camilla yöntemidir. Bu teknikte hayvanın önce kuyruğundan tutulur ve kafesinden çıkarılır. Sonrasında üçgen haline getirilmiş bir

örtü yardımıyla hayvan sadece kuyruk dışarıda kalacak şekilde hareketsiz hale getirilir. Bu yöntem kuyruk bölgesinde yapılacak uygulamalar için uygundur (Resim 6,7,8,9).



Resim 6



Resim 7



Resim 8



Resim 9

FARE

Sıçanlar için uygulanan tüm elle tutuş teknikleri farelerde de geçerlidir. Farelerin boyut olarak sıçanlardan çok daha küçük olmaları nedeniyle elle tutulmaları daha kolaydır. Bu nedenle işlemler sırasında çok daha nazik, duyarlı ve dikkatli

olunmalıdır. Farelerin daha hareketli ve çevik oluşları da ısırılma riski bakımından dikkate alınmalıdır. Farelerde elle tutuş teknikleri de uygulama bölgesi ve yapılacak işleme uygun olmalıdır (Resim 10,11).

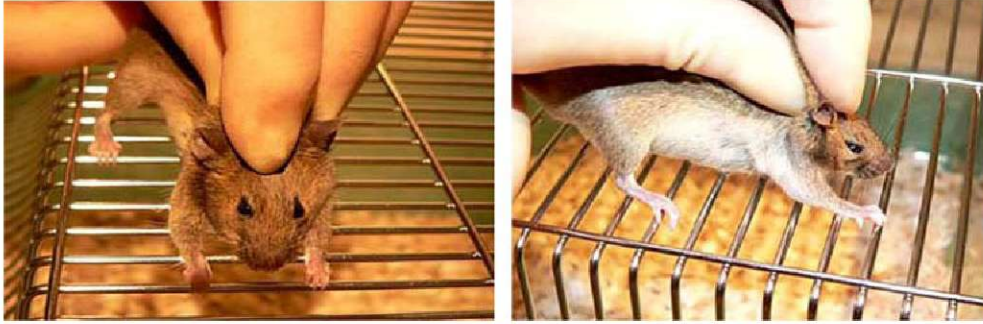


Resim 10



Resim 11

Klasik teknik sıçanlarda olduğu gibi uygulanır (Resim 12,13).



Resim 12

TAVŞAN

Tavşanların lomber bölgesi spinal çıkıklara karşı çok duyarlıdır, bu yüzden tutma ve taşıma işlemleri istenmediği halde paralizi ile sonuçlanabilir. Bu nedenle tavşanlar tutulurken daima bu bölgeden destek yapmak gerekir. Tavşanlar çok nadiren ısırır. Buna karşın hayvanları tutarken veya taşıırken

tırmalanma riskine karşı dikkatli olunmalıdır. Tavşanlar asla kulaklarından tutarak taşınmamalıdır. Doğru pozisyon bir el ile postlarının ense bölgesinden sıkıca kavramak ve alt taraftan diğer el ile desteklemektir (Resim 14,15,16).



Resim 14



Resim 15



Resim 16

İLAÇ VERME VE ENJEKSİYON TEKNİKLERİ

İlaçlar çeşitli amaçlarla (tanı, tedavi, deneysel vs) hayvanlara verilen etmek kimyasal maddelerdir. İlaçların etkisi, vücuda verilme yollarıyla doğrudan ilişkilidir. Bu nedenle ilaçların vücuda verilme yöntemleri iyi bilinmelidir. İlaçlar; ağız, solunum, mukoz membran, deri ve enjeksiyon olmak üzere beş yolla verilebilir.

Deney hayvanı kullanılarak yapılan çalışmalarda da çalışmanın amacı, ilacın etkinliği kadar türe ve soya en uygun verilme yolu ve doz seçimleri önem kazanmaktadır. Deney hayvanlarına ilaç ve madde verme işlemi doğal olarak yemlerine ve içme sularına karıştırılarak oral yolla verilebilir. Verilen maddenin kokusu ve tadı deney hayvanı tarafından tüketimini etkileyebileceği gibi yemlerin tamamı tüketilmeyebilir ve dolayısıyla sözkonusu madde istenen şekilde ve miktarda deney hayvanına verilemez. Ortam sıcaklığı, nem, ışık vb dış

faktörler de su içimini ve gıda tüketimini etkilemektedir.

İlaç ve maddeler gastrointestinal veya parenteral yolla verilebilir. Gastrointestinal olarak oral yolla ya da gavaj yoluyla verilebilir. Enteral yolla verilmesi uygun olmayan ya da çabuk etki etmesi istenilen ilaçların Parenteral yolla yani enjeksiyon yöntemiyle verilmektedir. Parenteral uygulamalar da verilecek ilacın özellikleri, kullanılacak deney hayvanının türü ve uygulamanın amacı önem kazanır. Parenteral yolla verilecek maddenin formu ve viskozitesi, miktarı, enjektör iğnesinin, kullanılacak mide sondasının, kanül ve kateterlerin çapı, solüsyonların pH değerleri gibi faktörlerin de sonuçları etkilediği unutulmamalıdır. Subkutan (deri altı- s.c); intramüsküler (kas içi-i.m); intrapertoneal (periton içi-i.p) intravenöz (ven içi-i.v); intrakardiyak (kalp içi-i.c) oral yol (gavaj, p.o) başlıca enjeksiyon tipleridir.

FARE

Subkutan Enjeksiyon: Subkutan enjeksiyon tekniğinde belli bir dozdaki enjektabl maddenin deri altına verilmesidir. Farenin ense veya sırt bölgesindeki deri, baş ve işaret parmağı ile tutulduktan sonra deri gerdirilerek iğne 45-60° bir açıyla deriye batırılır. bu şekilde 1-2 ml'lik madde enjekte edilir. İşlem sonrasında deride bir ödemin oluşması doğru uygulamanın yapıldığını gösterir (Resim 1).



Resim 1

İntraperitoneal Enjeksiyon: Farenin uygun bir şekilde tutulduktan sonra, abdomen bölgesinin sağ veya sol alt kadrana 23-29 no'lu iğne ile 45 derecelik bir açıyla deriye girilir. Deri altında bir miktar ilerledikten sonra hafifçe itilerek, karın kaslarına geçilir. Bu işlem sırasında visseral organlara

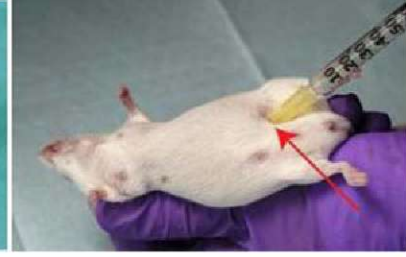
ve bezlere zarar verilmemesine dikkat edilmelidir. Peritonda olunmadığının doğrulanması için piston hafifçe geri çekilir enjektör içine kan vs sıvı dolarsa, iğne geri çekilir yeri dezenfekte edilerek sonra tekrar denenir. Yetişkin farelere 2 ml.den fazla madde verilmemelidir. (Resim 2 , 3 ,4).



Resim 2



Resim 3



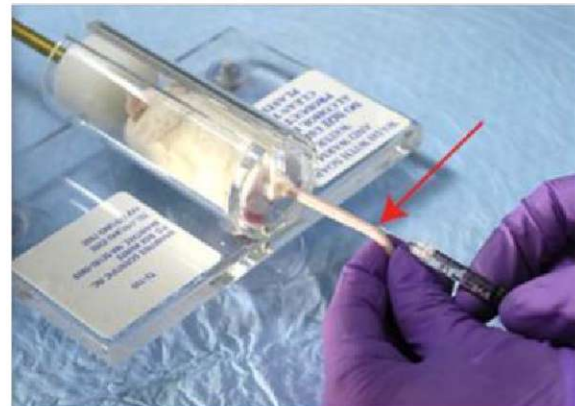
Resim 4

İntramusküler Enjeksiyon: Farelerin kas kitleleri çok küçük olduğu için intramusküler enjeksiyon, pek önerilen ve tercih edilen bir yol değildir. Eğer yapılması gerekiyorsa farenin arka bacak kası içine uygulanır. Bu işlemleri yaparken fare uygun biçimde tutulduktan sonra, iğne 45 derecelik bir açıyla kas içine batırılır. Kas içine giren enjektörün pistonu hafifçe geri çekilerek damar içinde olunmadığına dikkat edilir. Enjektöre kan gelecek olursa işlem sonlandırılır ve iğne değiştirilerek başka bir sahada işlem tekrarlanır. Bu iş için 25-30 nolu iğne uygundur. Farelerin kas içine verilecek maddenin 0,05 ml. veya daha az miktarda olması önerilir (Resim 5).



Resim 5

İntravenöz Enjeksiyon: Bu tür uygulama farede özellikle dorsal kuyruk venine yapılmalıdır. Bu uygulama da gerekli dilatasyonu sağlamak amacıyla kuyruk veni ya 5-10 saniye sıcak suda tutulmalı veya alkol veya ksilol sürülerek damarın genişlemesi sağlanmalıdır. İğne ucu damara girer girmez enjektör yatırılır ve iğne damar içinde bir miktar ilerletilir. Pistonu hafif geri çektiğimizde enjektöre kan gelirse işlemin doğru uygulandığını gösterir. İşlem sırasında damar dışına çıkılırsa kuyrukta ödem oluşur. Bu durumda işlem sonlandırılarak aynı venin daha üst yerinden yeniden denenmelidir.(Resim 6).



Resim 6

Oral Yol: Deney hayvanına verilecek maddeler yemlerine ya da içtikleri suya eklenerek verilebilir. Ancak bu durumda tüketilen miktar standardize edilemez. Kullanılacak maddenin tadı ve kokusu kötü ise tüketim miktarı azalacaktır. Bu durumda tercih edilmesi gereken gavaj yöntemi, deney hayvanlarına verilecek olan maddenin uygun bir plastik sonda ile doğrudan mideye verilmesi işlemidir. Bu işlem anestezi verilmeden de yapılabilir. Deney hayvanı uygun şekilde tutularak kaldırılır

ve baş arkaya ve düz pozisyona getirilir, diğer elle deney hayvanının plastik sondayı ısırmasını önlemek için ortası delik küçük bir tahta ekartör yerleştirilir. Enjektörün içindeki maddenin oral yolla verilebilmesi için ekartördeki deliğin içinden plastik sonda mideye kadar sokulur. Eğer plastik sonda kolaylıkla ilerliyorsa işlem doğru kabul edilir. Plastik sondanın 10 cm' lik bölümü mideye erişim ve uygulama için yeterlidir (Resim 7, 8, 9.).



Resim 7



Resim 8



Resim 9

SIÇAN

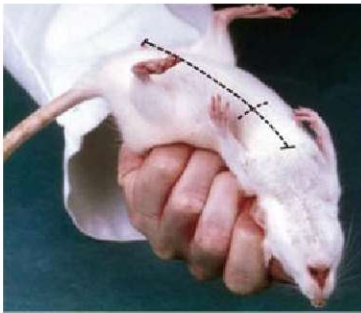
Subkutan Enjeksiyon: Sıçanlarda subkutan enjeksiyon, farelerde olduğu gibi yapılır. Yalnız uygulama 2 kişi tarafından yapılacaksa biri bir eli ile sırtından diğer eli ile bacaklarından tutar. Diğer araştırmacı ise sırt ve ense derisine üçgen yaparak enjeksiyon yapar. Bu enjeksiyon için 20-25 nolu iğne kullanılır. Subkutan enjeksiyon yoluyla verilecek sıvı miktarı 10 ml'yi aşmamalıdır (Resim10).



Resim 10

İntraperitoneal Enjeksiyon: İşlem farede olduğu gibi uygulanır. Bu enjeksiyon için 20-25 nolu iğne kullanılır.

İntraperitoneal enjeksiyon yoluyla verilecek sıvı miktarı 10 ml'yi aşmamalıdır (Resim11,12,13).



Resim 11



Resim 12



Resim 13

İntramüsküler Enjeksiyon: Sıçanların kas kitlesinin küçük olması nedeniyle bu yöntem sıçanlarda pek kullanılmamaktadır ve önerilmemektedir. Eğer gerekiyorsa en uygun yerler kuadriseps, arka baldır ve triseps kaslarıdır. İşlem sırasında siyatik sinirin zedelenmemesine özen gösterilmelidir. Kuadriseps kasına girildikten sonra enjektörün pistonu hafifçe geri çekilerek damarda olup olmadığı kontrol edilir. Bu sırada siyatik sinirin zedelenme riskinden kaçınmak için bacağın dış tarafı tercih edilmelidir. (Resim 14).

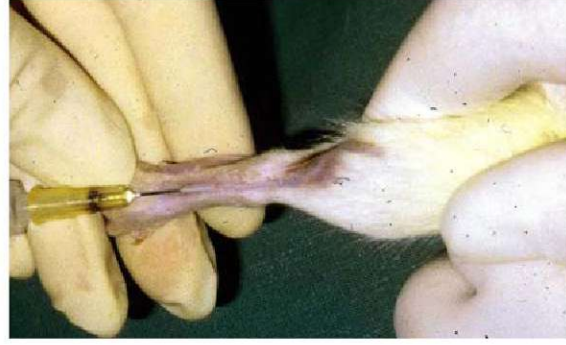


Resim 14

İntravenöz Enjeksiyon: Sıçanlarda intravenöz enjeksiyon için en sık kullanılan ven lateral kuyruk venidir. Yaşlı hayvanlarda kuyruk derileri kalınlaştığından bulunması zordur. Venlerin görünür hale gelmesi için sıçanın kuyruğu 45derecelik sıcak suya 5-10 saniye daldırılır ya da alkol veya ksilol ile damar genişlemesi sağlanır. 20-25 nolu iğne ile enjeksiyon yapılmalıdır. Eğer kuyrukta bir şişlik oluşur ise o zaman daha proksimalden tekrar denenmelidir. Enjeksiyonla verilen miktar 0,5ml yi geçmemelidir.



Resim 15



Resim 16

Oral Yol: Her hayvan tarafından tüketilen miktar farklı olsa da maddeler sıçanların yemlerine ve içeceklerine katılarak verilebilir. Sıçanlardaki gavaj yöntemi farelerde olduğu gibi uygulanır.



Resim 17

TAVŞAN

Subkutan Enjeksiyon: Subkutan Enjeksiyon: Tavşanlarda kolay bir işlem olup intravenöz yolun açılmadığı ve sıvı verilmesi gereken durumlarda tercih edilir. Bir elle tavşanın boyun derisinden tutulmalı, gerilen ve üçgenleşen derinin tam ortasından 20-23 nolu, 2.5 cm uzunluğunda iğneyle girilerek 30-50 ml sıvı enjeksiyon yapılabilir. Subkutan enjeksiyonlarda iğnenin ince seçilmesinin nedeni deri altına verilen sıvının geri gelmesini önlemek içindir. Subkutan enjeksiyonlarda kullanılan iğnenin çapı, hayvanın türüne, solüsyonun viskozitesine ve verilecek sıvının volümüne bağlıdır. Subkutan enjeksiyon tavşan hareketlerini sınırlayacak uygun bir kutu içine konarak veya bir kişi tarafından sıkı bir şekilde tutularak ta yapılabilir.



Resim 18

İntraperitoneal Enjeksiyon: Tavşana intraperitoneal enjeksiyon, bir yardımcı çalışmacı tarafından sağ eli ile sırt derisinden sol eli ile kalçadan tutularak yapılmalıdır. Karın derisi tıraş edilip dezenfektan madde ile silindikten sonra karın duvarının sağ alt köşesinden ejektör ile girilmelidir. Bu pozisyon ile mide veya mesane girişi önlenir. Kullanılan iğne 19-20 nolu ve en fazla 2,5 cm uzunluğunda olmalıdır. Yetişkin bir tavşana en fazla 50-100ml enjeksiyon yapılabilir. Karnını 1/3 alt kadranında arka bacağın önünden enjeksiyon yapılır; ancak bu arada hayvan ani hareket edebileceğinden dikkat edilmelidir. Aksi halde bir organ yaralanmasına neden olunabilir.



Resim 19

İntramusküler Enjeksiyon: Bu enjeksiyon ancak ön ve arka baldıra yapılabilir. Buralarda büyük damarlar olduğu için enjeksiyon sırasında enjektör 45 derecelik açı ile tam kas kitlesine sokulmalı ve enjektörün pistonu geri çekilerek damara girilip girilmediğinden emin olunmalıdır. Bu işlemin iki kişi tarafından uygulanması uygundur. Kullanılacak iğne 22-23 nolu ve 2-2,5 cm uzunluğunda olmalıdır. İntramusküler olarak 0,5 ml enjeksiyon yapılabilir.

İntravenöz Enjeksiyon: Bu uygulama için marjinal kulak veni tercih edilir. İlk olarak hayvan türe uygun bir sabitleme kutusu içinde tutulmalıdır. Ven çevresindeki deri tıraş edilmeli ve alkol ya da alkol-iyotla silinmelidir. İşlemi uygulayacak iki kişiden birisi venin köküne bastırılmalı ya da alkol veya ksilolle dilate hale gelmesi sağlanmalıdır (Ksilol kullanılacaksa iritan olduğu unutulmamalıdır ve sabun ve su ile iyice temizlenmelidir). Damar açık bir şekilde görüldüğünde bir elle kulak tutulurken diğer elle iğne vene paralel tutulup damara girilmeli ve 1-2 cm ilerletilmelidir. Damarda olduğundan emin olduktan sonra madde verilmelidir (Resim 20-21).



Resim 20



Resim 21

Oral Yol: Tavşanlara verilecek madde miktarının bilinebilmesi için fare ve sıçanlarda olduğu gibi türe uygun bir beslenme sondası yardımıyla gavaj işlemi uygulanmalıdır (Resim 22-23).



Resim 22



Resim 23

KOBAY

Subkutan Enjeksiyon: Sıçanlarda olduğu gibi uygulanır ancak kobayların derisi daha kalın olduğundan işlem zorlaşmaktadır. Uygulamada 1-2 cm'lik 20-22 nolu iğne kullanılır (Resim 24).



Resim 24



Resim 25

Intradermal Enjeksiyon: Sıçanlardakine benzer şekilde yapılır. Derinin daha kalın olması işi daha da kolaylaştırır. Sırt derisinden 25-30 nolu iğne, 20 derecelik açı ile girilir. Her seferinde en fazla 250 ml enjektde edilmelidir. Küçük bir kabarıklık başarıya işaret eder.

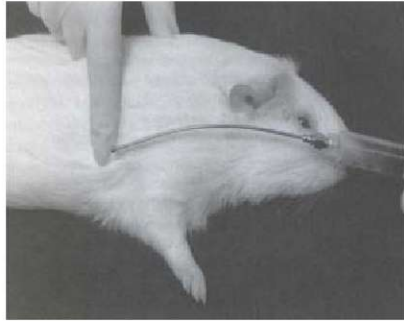
Intraperitoneal Enjeksiyon: Bu enjeksiyon sıçanda olduğu gibi uygulanır. Bir kişi kobayı tutarken, diğer kişi hayvanın bacağına uygun pozisyonda tutarak, iğneyi baldıra paralel uzatıp karnın arka kadranının merkezine enjeksiyonu yapmalıdır.

Çok sık kullanılmaz ise de, ön ve arka baldırlar en uygun enjeksiyon yerleridir. Triseps de olası bir enjeksiyon yeridir. Kuadriseps kası kullanılacak olursa enjeksiyon sağdan kasmın merkezine yapılmalıdır. Kasın içine girildiğinde enjektör iğnesi geri çekilerek kan gelip gelmediğine bakılmalıdır. En fazla 0,3 ml enjeksiyon yapılabilir. Bu işlemin 2 kişi tarafından uygulanması uygundur.

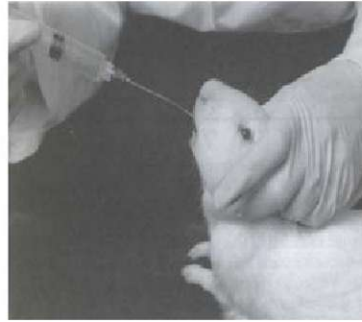
Intravenöz Enjeksiyon: Bu amaçla çok sayıda ven kullanılabilir. Bu venler arasında 27 nolu iğne kullanılarak enjeksiyon yapılabilecek olan lateral safen ven ve sefalik ven de vardır. Bu iş için alt bacak tüyleri temizlenir ve ksilol ile silindikten sonra diz eklemi üzerinden safen ven sıkıştırılır. 27 nolu iğne 20 derecelik bir açı ile en az 5 mm ilerletilir.

Sonra enjeksiyon yapılır. Bir de farelerde anlatılana benzer şekilde anterior vena kavaya girilerek enjeksiyon yapılabilir. Kobayın marjinal kulak veni ve erkek hayvanlarda penis venine de enjeksiyon yapılabilir. Bu hayvanlara ait damarlar küçük ve frajil olduğu için intravenöz enjeksiyon güçtür. Çoğu kez anestezi uygulaması önerilir. Aksi halde ven işlem yapmadan yırtılabilir. Penil ven enjeksiyonu anestezi altında yapılmalı ve penis ucu yakalanmalı ve çekilmelidir. Enjeksiyon frajil veni yırtmadan nazikçe yapılmalıdır. Tekrarlayan girişimler için juguler vene kateter konulması tercih edilen yöntemdir.

Oral Yol: Türe uygun besleme sondası seçildikten sonra fare ve sıçanda kullanılan tekniğe benzer bir gavaj uygulaması yapılır.



Resim 26



Resim 27

Kaynaklar

• İde T, Çeviri Editör. Laboratuvar Hayvanları Biliminin temel İlkeleri. van Zutphen, LFM, Baumans V, Beynen AC,editors, Principles of Laboratory Animals Science. Ankara Özkan Matbaacılık Ltd. Şti. Medipres, 2003.

• Cantürk N Z, Sayrek İ. : Cerrahi Araştırma. Nobel Tıp kitapevleri Ltd.Şti. 2005

• İssi M. Laboratuvar hayvanlarında kan alma teknikleri, Bornova Vet Kont.Araşt. Enst. Derg. 2008;30;44:43-48.

• Durgut R, Yarsan E, editors. Laboratuvar Hayvanları Hastalıkları ve Sağaltımı. Ankara. Medisan Yayınları:2007.