

Deney Hayvanlarında Temel Uygulamalar

Doç. Dr. Emrah Şefik Abamor

Temel Uygulamalar

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.

Temel Uygulamalar

- Elle tutuş tekniğinin doğru uygulanması, araştırıcıların uygulamalarını en verimli şekilde gerçekleştirmelerine, hayvanlarda oluşacak stresin en aza indirgenmesine dolayısıyla deney sonuçlarının doğruluğuna olumlu yönde etki etmektedir.



Temel Uygulamalar

- 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.

Temel Uygulamalar

Parenteral yolla verilecek
maddenin formu ve
viskozitesi ve miktarı,

enjektör iğnesinin,
kullanılacak mide sondasının,
kanül ve kateterlerin çapı,

solüsyonların pH değerleri

Temel Uygulamalar

ilaçlar çeşitli amaçlarla (tam, tedavi, deneysel vs) hayvanlara verilen kimyasal maddelerdir.

Etkisi, vücuda veriliş yollarıyla doğrudan ilişkilidir. Bu nedenle ilaçların vücuda veriliş yöntemleri iyi bilinmelidir.

Ağız, solunum, mukoz membran, deri ve enjeksiyon yoluyla ***verilebilirler.***

Enjeksiyon Teknikleri

Parenteral;

Subkutan (sc)

Intraperitoneal (ip)

Intramusküler (im)

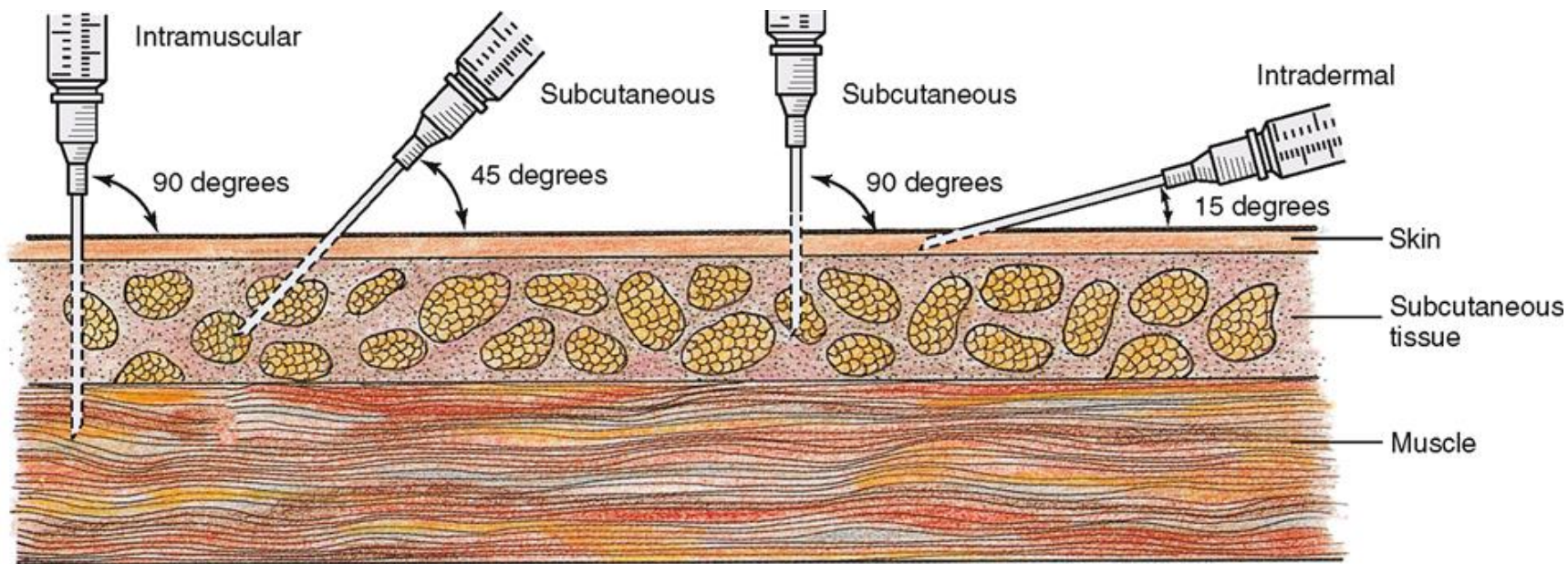
Intravenöz (iv)

Intradermal (id)

Gastrointestinal;

Oral

Gavaj

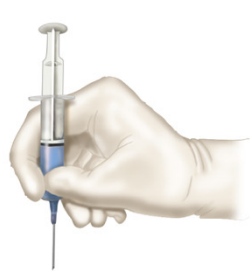
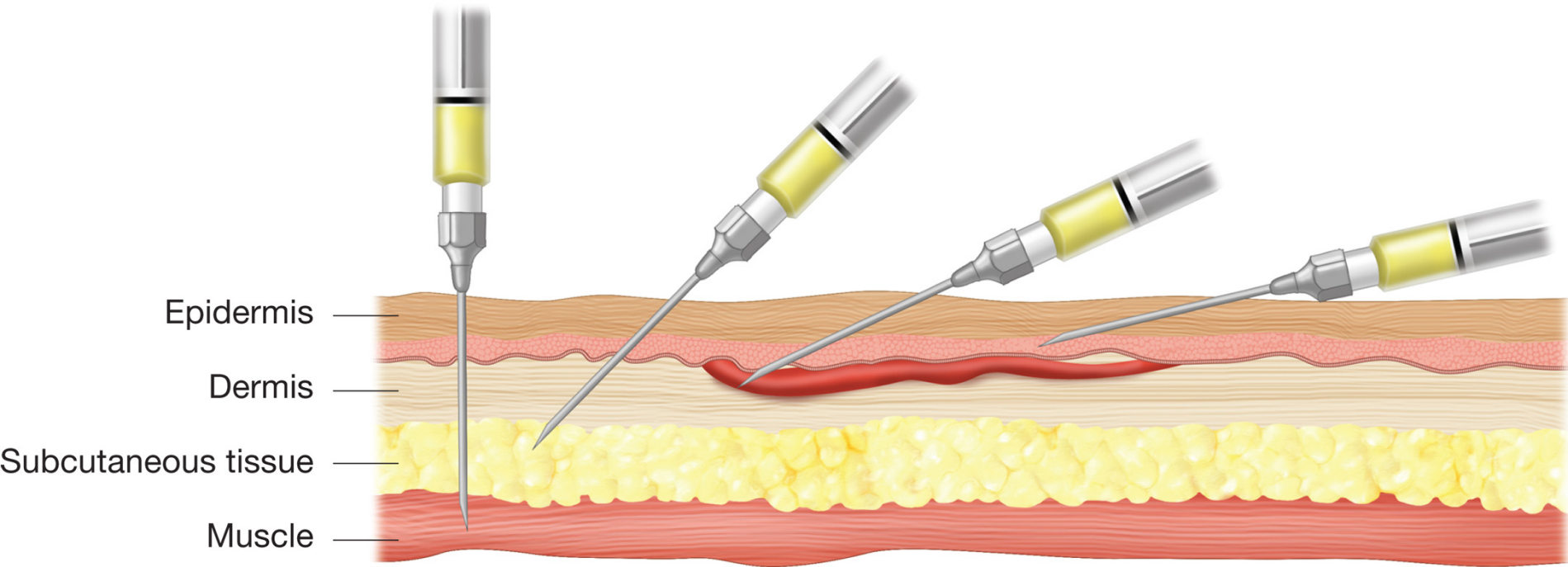


Intramuscular

Subcutaneous

Intravenous

Intradermal



Intramuscular



Subcutaneous



Intravenous



Intradermal

Tablo 1: Lab. Hay. Kullanılan İğne Numaraları (G)

Tür	Gavaj	İV	İP	İM	SC	Kalp
Fare	19-20	27-30	23-27	26-30	25-27	25
Sıçan	15-16	20-25	23-25	25-26	23-25	22
Tavşan	15-16	20-25	19-20	22-23	20-25	16
Kobay	15-16	27	19-25	20-25	20-25	22
Köpek	-	<20	<20	<20	<20	<22

Subkutan Enjeksiyon

Subkutan enjeksiyon tekniđi 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

Subkutan Enjeksiyon



Intradermal Enjeksiyon

- Kıvrımlı deri kaldırılarak ilaç uygulanır. İğnenin vücut duvarlarına paralel tutulması gerekir. İğne deriyi geçtikten sonra iğnenin büyüklüğü kadar deri altı yolla ilerletilir. Deri altı uygulama için çoğu hayvanda boyun derisi tercih edilir.

Intradermal Enjeksiyon

Deri altı ilaç kullanmanın en önemli avantajı yavaş yolla emilimin gerçekleşmesidir.



Uygulanan teknik oldukça basit olup çoğu araştırmacı tarafından rahatlıkla gerçekleştirilebilir. İlaç miktarı fazla da olabilir. Ancak tahriş edici ilaçlar için uygun bir yol değildir.



Deri altı uygulanacak solüsyon steril ve izotonik olmalıdır.

Intradermal Enjeksiyon



Intraperitoneal Enjeksiyon

- Farenin uygun bir şekilde tutulduktan sonra, abdomen bölgesinin sağ veya sol alt kadranına 23-29 no'lu iğne ile 45 derecelik bir açıyla deriye girilir. Deri altında bir miktar ilerledikten sonra hafifçe itilerek, karın kaslarına geçilir.



Intraperitoneal Enjeksiyon

- Bu işlem sırasında visseral organlara ve bezlere zarar verilmemesine dikkat edilmelidir. Peritonda olunmadığının doğrulanması için piston hafifçe geri çekilir
- Eğer enjektör içine kan vs sıvı dolarsa, iğne geri çekilir. Yeri dezenfekte edilerek sonra tekrar denenir. Yetişkin farelere 2 ml'den fazla madde verilmemelidir.

Intramuskuler 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 daldırılır.

İntamuskular Enjeksiyon



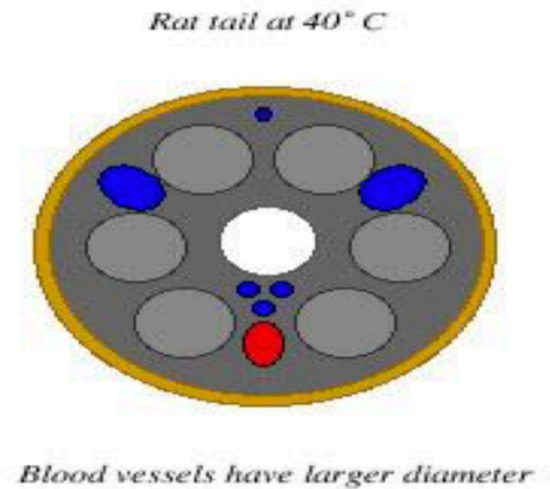
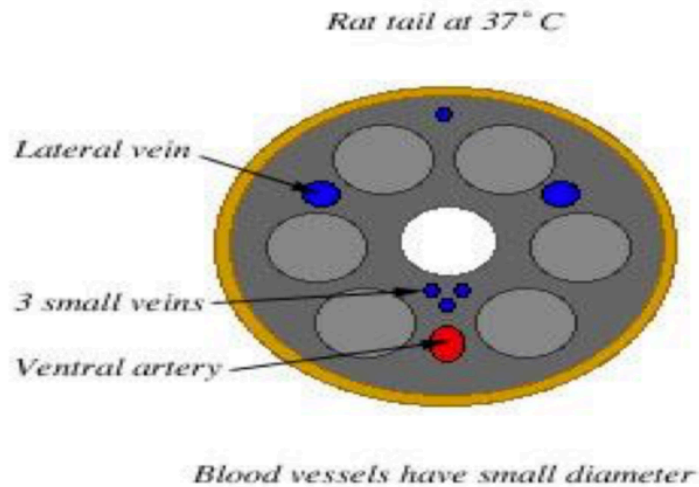
Intramuskuler Enjeksiyon

- 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.

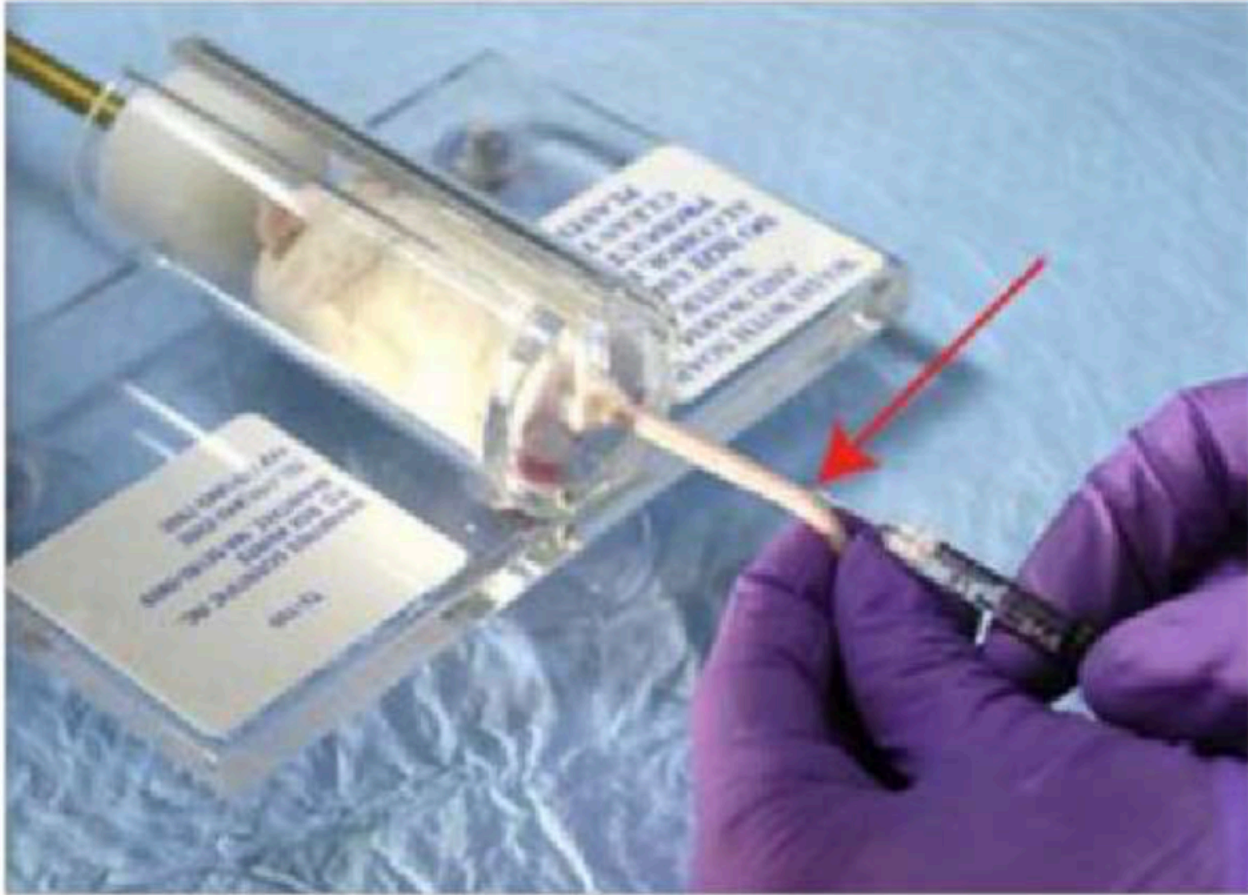
İntravenöz Enjeksiyon

- Bu tür uygulama farede özellikle dorsal kuyruk venine yapılmalıdır.
- Bu uygulamada gerekli dilatasyonu sağlamak amacıyla kuyruk veni ya 5-10 saniye sıcak suda tutulmalı veya alkol veya ksilol sürülerek damarın genişlemesi sağlanmalıdır.

İntravenöz Enjeksiyon



İntravenöz Enjeksiyon



Intravenöz Enjeksiyon

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

Intravenöz Enjeksiyon

- Tavşanlarda damar içi ilaç ve sıvı uygulamak için kulak venleri seçilir.
- Tavşan tespit edildikten sonra kulak venlerinin olduğu bölge traş edilir.
- Araştırmacı kulağı bir eliyle tutarken diğer elle 23 numaralı iğne ile hassas bir şekilde kulak venine girer ve lümende 1-2 cm ilerledikten sonra ilacı verir.

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.

Oral Yol

- Bu durumda tercih edilmesi gereken **gavaj yöntemi**, deney hayvanlarına verilecek olan maddenin uygun bir plastik sonda ile doğrudan mideye verilmesi işlemidir.

Oral Yol

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



Gavaj
Yönteminde
Kullanılan
İğneler



Tablo 2: Lab. Hay. Verilecek Maksimum Volüm (mL)

Tür	Gavaj (mL/kg)	İV	İP	İM (yer)	SC (yer)	İntradermal
Fare	20	0.2	2-3	0.05	2-3	0.01
Sıçan	10	0.5	5-10	0.3	5-10	0.01
Tavşan	5	5(yavaşça)	50-100	0.5-1	30-50	0.01
Kobay	5	0.5	10-15	0.3	5-10	0.01
Köpek	-	10- 15(yavaşça)	200- 500	2-5	100- 200	0.01

Deney Hayvanlarında En Sık Kullanılan Enjeksiyon Yerleri

Tür	SC	İM	İV
Fare	Ense	Quadriseps, arka uyluk	Lateral kuyruk veni
Sıçan	Ense	Quadriseps, arka uyluk	Lateral kuyruk veni
Kobay	Ense, sırt	Quadriseps, arka uyluk	Kulak veni, sefan ven
Tavşan	Ense, böğür	Quadriseps, arka uyluk, lumbar kaslar	Marginal kulak veni
Köpek	Ense, sırt	Quadriseps, arka uyluk	Sefalik ven

Aklınızdan Çıkarmamanız Gerekenler;

- Genel asepsi ve antisepsi kurallarına uyun.
- Enjekte edeceğiniz madde sıcaklığı hayvanın vücut sıcaklığına yakın olsun.
- Enjektörünüzün gauge'ı türe uygun olsun.
- Enjeksiyon öncesi enjektörünüz gerektiği kadar dolu ve hazır olsun.
- Enjeksiyon hacminiz hayvan türüne uygun olsun.
- Hayvanı en az rahatsız edecek yöntemle tutun.
- Hayvanınızı zapt-ı rapt ettiğinizden emin olun.
- Enjektör ucunuzun keskin yüzü hayvana dönük olmasın.
- Enjektörünüz ve hayvanınız arasındaki açı uygulayacağınız tekniğe uygun olsun.
- Enjekte edilecek sıvıda emboli riskine karşı hava kabarcığı olmasın.

Kan Alma;

Genel bir kural olarak sağlıklı bir hayvandan bir defada alınan kan, hesaplanan kan volümünün %10'unu veya vücut ağırlığının %1'ini (hayvanın total kan volümü, vücut ağırlığının %10'u kadardır) aşmamalıdır.

Kan alma

Bir defada büyük volümlerde kan alınması gerekiyorsa; total kan volümünün maksimum %20'si (vücut ağırlığının %2'si) alınabilir. Ancak hipovolemik şoku önlemek için kan alınmasından sonra elektrolit solüsyonu takviyesi yapılmalıdır.

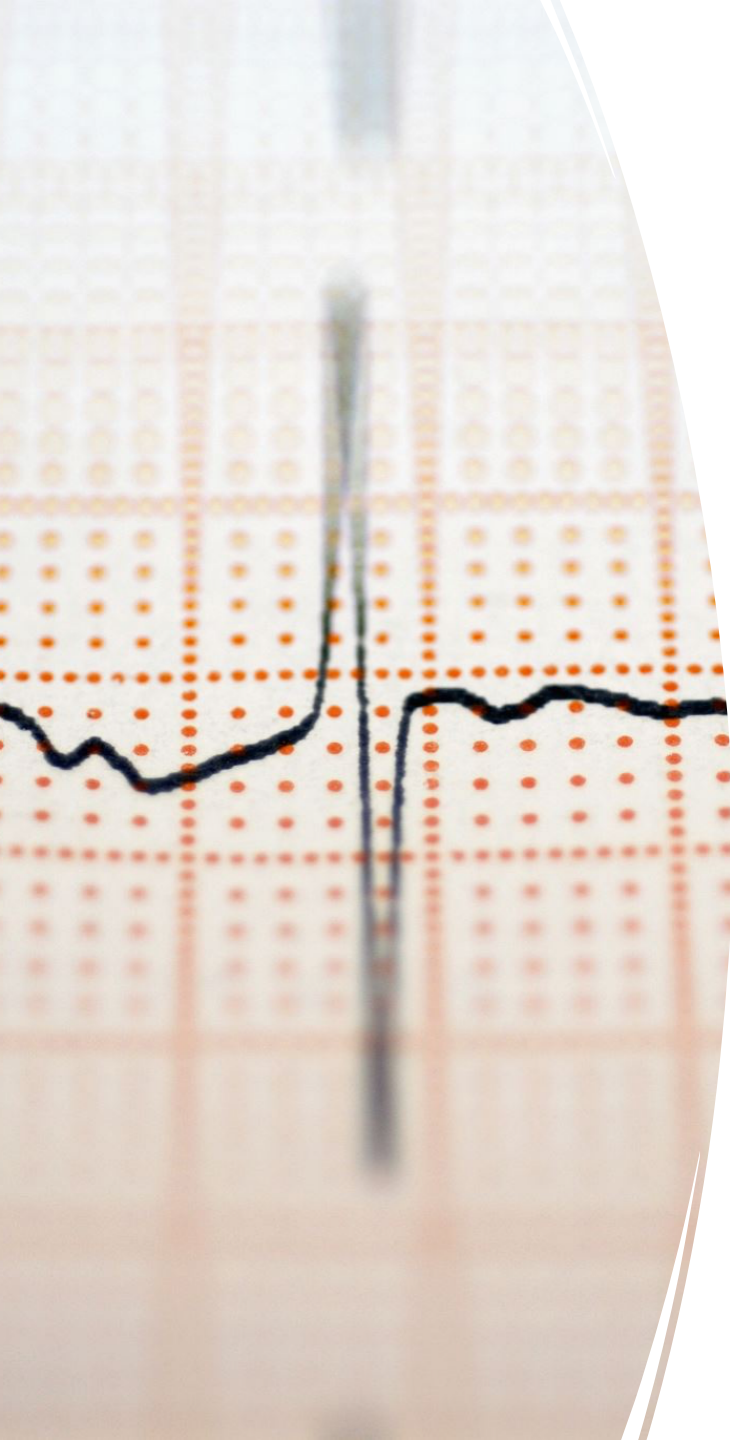
- Daha büyük hacimlerde kanın bir defada alınması yaşamsal fonksiyonları (hipovolemi, kardiovasküler yetmezlik, hemorajik şok) riske sokacaktır.**

Kan Alma Kriterleri

- Total kan volümünün %10'u alındığında, bu işlem 2-4 haftada bir tekrarlanabilir.
- Daha sık kan alma gerekliyse hematokrit veya serum protein düzeyi izlenmelidir. Genel bir yaklaşım olarak 1 ml/kg/gün oranında kan öğelerinin yenileyeceği unutulmamalıdır.
- Sık aralıklarla kan alınması durumunda dolaşımdaki kanın ancak %1'i 24 saatte bir alınabilir.
- Bir hayvandan sağlanabilecek total kan hacmi, total kan volümünün yarısı kadardır (vücut ağırlığının %5'i).

Kan Alma Teknikleri;





Kalpten Kan Alma

- Bu teknik genellikle deneyin sonlandırılması ve fazla miktarda kan alınması gerektiği durumlarda kullanılır.
- Fare anestezi ile uyutulduktan sonra sırt üstü pozisyonda yatırılır, insülin enjektörü kullanılarak orta hattın biraz solundan kalp atımları hissedilerek 20-30 derecelik açı ile kalbe girilir



Kalpten Kan Alma

- Kalpte olup olunmadığını anlamak için enjektörün pistonu yavaşça geri çekilir. Kalbin kollabe olmasını önlemek için yavaş olunmalıdır. Tekrarlayan kan alımları için bu yöntem kullanılamaz.
- Farenin büyüklüğüne ve kalp atımına bağlı olarak 0,1-1 ml kan elde edilebilir

Kuyruktan Kan Alma

Uzun süreli ve tekrarlı kan alımları için tercih edilen bir yöntemdir. Fare uyutulur ve özel hareket kısıtlayıcısına konulur.

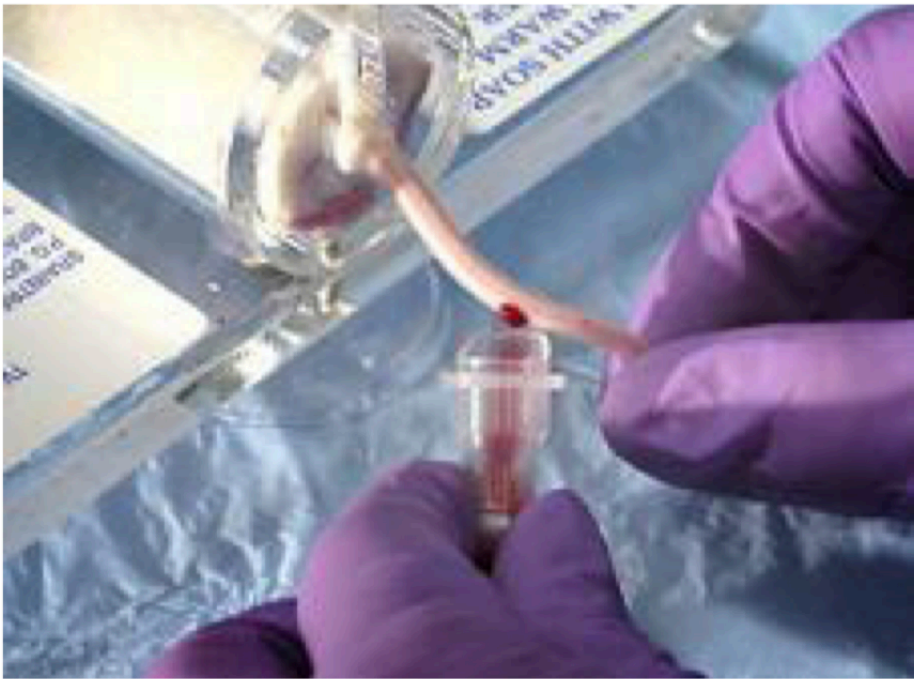
Kan kuyruk veninden ya da arterden alınacaksa damarın görünür hale getirilmesi gerekir.

Kuyruktan Kan Alma

Lateral kuyruk veninden 25-30 no'lu iğne ile enjektöre yavaşça çekilerek 0.5 ml kan alınabilir.

Daha fazla kan almak için kuyruk veninin üzerine küçük bir kesi yapılır ve kan doğrudan tüp içine akıtılır. Bu yöntem ile 1 ml kan alımı mümkündür.

Kanama, daha sonra kesi üzerine baskı uygulanarak durdurulur.



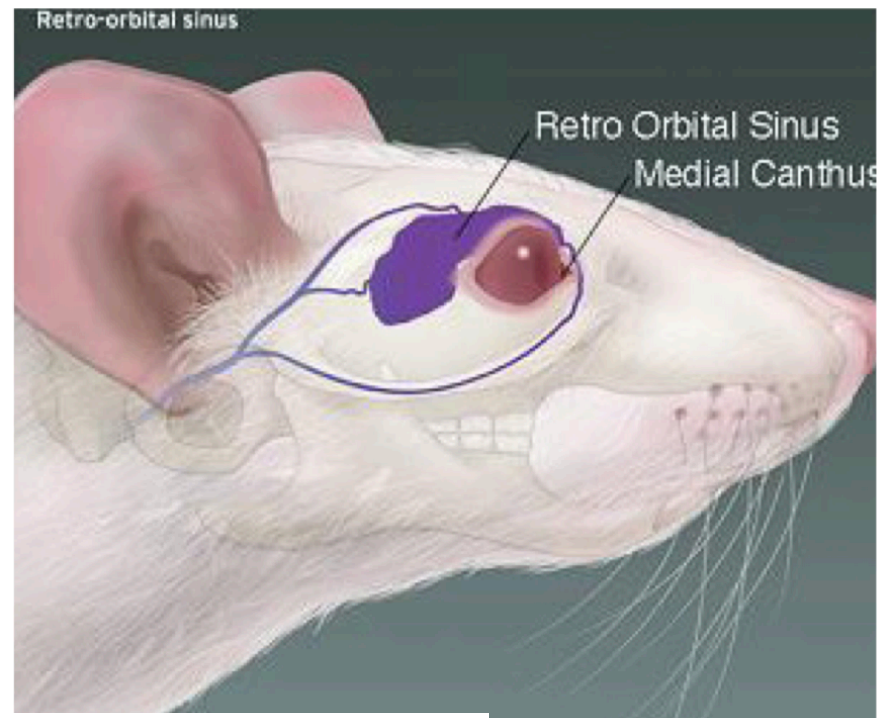
Orbital Sinüstan Kan Alma

- Kan almak için, fare hafif anestezi altında uyutulur ve yan yatırılır. Göz kapakları gerdirilerek gözlerin hafif dışarıya çıkması sağlanır. Medial göz açısından kapiler bir tüp orbital sinüse sokulur ve göz küresinin arkasındaki pleksusa doğru ilerletilir.



Orbital Sinüsten Kan Alma

- Tüp pleksusun içinde döndürülür, buradaki damarlar kanatılarak kanın tüp içine dolması sağlanır.
- Bu teknikle haftada bir veya iki haftada bir fareden 0.25 ml kan alınır.
- Bu işlemi yaparken o bölgenin anatomisinin iyi bilinmesi gerekir.
- İşlem bittikten sonra kanama ve hematom oluşmasını önlemek için tüpün girdiği yere hafifçe baskı uygulamak gerekir



Jugular Venden Kan Alma

Hayvan uyutulmalı, boynu tıraş edilmeli, orta hatta ve jugular vene paralel olarak 25 no'lu iğne ile girilmelidir.

Cilt altı katlar dikkatlice geçildikten sonra buraya venin kollabe olmasını önlemek için prokain hidroklorür uygulanmalıdır

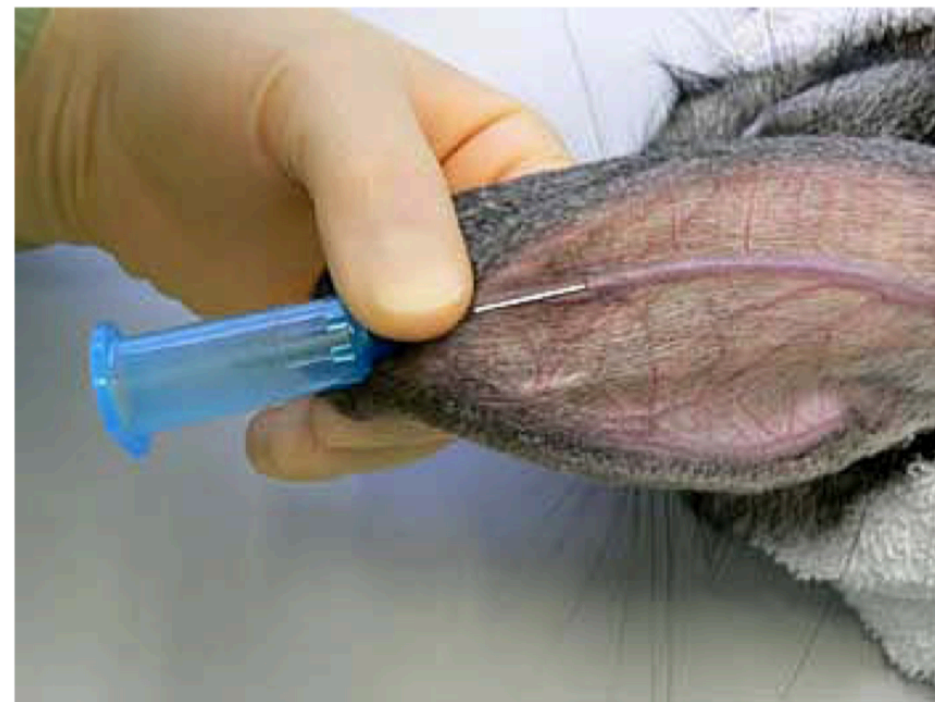
Kulak Veninden Kan Alma

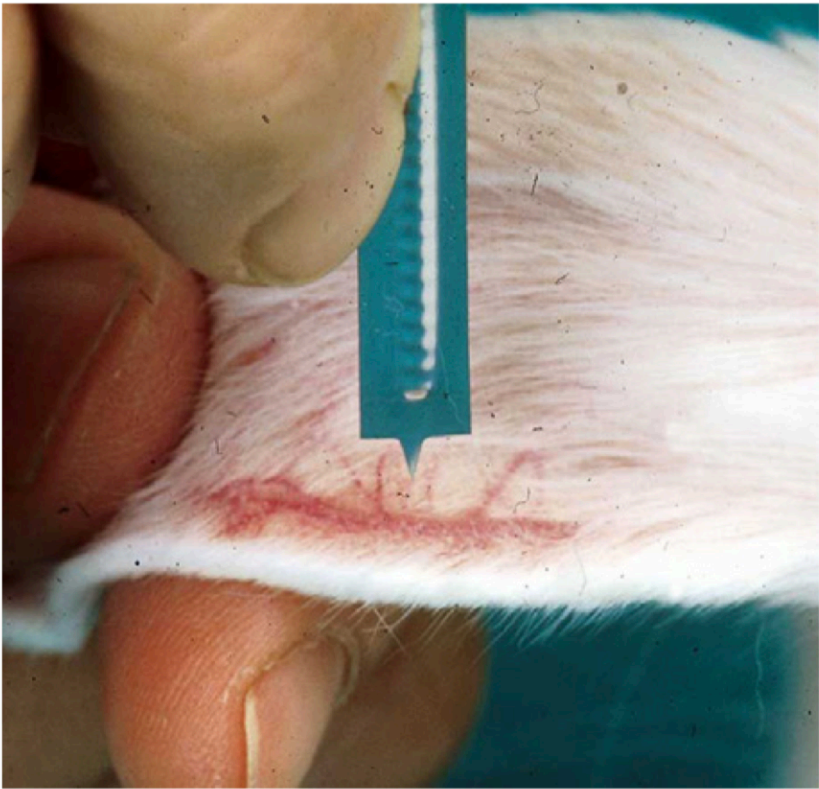
- Tavşandan kan almak için lateral ya da marjinal kulak venleri veya arteri tercih edilir. Özellikle bu iş için en uygun ven, marjinal kulak venidir. Kan alınacak bölgenin tüyleri tıraş edilir.
- Bu işlem için tavşanın anestezi altında olması gerekli değildir.
- Özel tasarım hareket kısıtlayıcı içine konan tavşandan kan örneği kolaylıkla alınabilir.

Kulak Veninden Kan Alma

Kulak işaret parmağı ile başparmak arasına alınır, 21-23 no'lu iğne ile kulak venine girilip gerekli miktarda kan enjektöre yavaşça çekilir.

Diğer bir yöntem ise, ven üzerine küçük bir kesi yaparak 50 ml'ye kadar kanın damla damla alınmasıdır





Deney hayvanlarında dolaşımdaki kan hacimleri ve alınabilecek kan miktarları

Tür	Ergin vücut ağırlığı (g)	Ort. erişkin kan volümü (ml)	Güvenle alınabilecek miktar (ml)	Alınabilecek en yüksek kan hacmi (ml)
Fare	25 – 40	2 – 3.2	0.2 – 0.32	1.2
Rat	300 – 500	21 – 35	2.4 – 4	12
Kobay	700 – 1200	60	5-6	30
Tavşan	2000 – 6000	250	25-50	150
Hamster	85 – 150	6.63 – 11.7	0.5	3

Deney Hayvanlarında Yaygın Olarak Kan Alınan Yerler;

Fare	Kalp (sadece ötenazi edilecekse), orbital sinus (sadece anestezi altında), kuyruk veni (Kuyruk kesme metoduna izin verilmez), saphenous ven, fascial ven
Sıçan	Farelerdeki gibidir. İlave olarak subclavian ven
Kobay	Kalp (sadece anestezi altında), anterior vena cava / subclavian ven
Tavşan	Kalp (sadece anestezi altında), kulak veni

Aklınızdan Çıkarmamanız Gerekenler;

- Genel asepsi ve antisepsi kurallarına uyun.
- Kan almadan önce hayvanı uygun yöntemle tutun.
- Anesteziye almanız gerekiyorsa deneyinize en uygun anesteziği seçin.
- Hayvanınızın sabit olduğundan emin olun.
- Deneyinize uygun kanı (arteriyel-venöz) alın.
- Hayvandan alabileceğiniz kan hacmini önceden hesaplayın.
- Aldığınız kanı yapacağınız analize uygun tüpe aktarın.
- Plazma-serum ayrılacaksa kanı 20 dk oda sıcaklığında bekletin ve sonrasında santrifüj edin.
- Hemen santrifüj edemiyorsanız en fazla 1 saat buz üstünde bekletebilirsiniz.

Deney Hayvanlarında Tutuş Teknikleri

- Hayvanlar üzerinde elle tutuş tekniğinin doğru uygulanması; hayvanlarda oluşacak stresin en aza indirilmesine ve ardından uygulanacak diğer deneysel tekniklerin de en verimli şekilde gerçekleştirilmesine olanak sağlamaktadır.



Deney Hayvanlarında Tutuş Teknikleri

- Deney hayvanları ile iyi bir iletişimin kurulması ve uygulanacak diğer temel uygulamaların sınılanması bakımından bir ön çalışmanın planlanması önerilmektedir.
- Uygulamalar öncesinde, deney için seçilen hayvanların tür ve soy özelliklerinin iyi bilinmesi gerekmektedir.

Deney Hayvanlarında Tutuş Teknikleri

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.

Sıçanlarda Tutuş Teknikleri

Sıçanlardaki Tutuş teknikleri; yapılacak uygulamaya ve uygulama bölgesine göre değişiklik gösterir. Sıçanlara nazikçe yaklaşılmalı, bulundukları kafesten kuyrukları yavaşça tutularak dışarı çıkarılmalıdır.

Bu işlem sırasında ani ve sert hareketlerden kaçınılmalıdır.

Hayvanların çok gelişmiş koku alma duyuları olduğundan bu yaklaşımlarına tepki gösterilmemehdir.

Sıçanlarda Tutuş Teknikleri

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



Sıçanlarda Tutuş Teknikleri

Klasik yöntemde, yavaşça omuzlarından kavranır, toraksa fazla baskı yapmadan hayvanın vücudu avuç içi desteğiyle kaldırılır.

Baş parmak, mandibulayı yukarda tutar ve böylece ısırılma olasılığı engellenir. Enjeksiyonlar için uygundur

Sıçanlarda Tutuş Teknikleri



Sıçanlarda Tutuş Teknikleri

- 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

Klasik Yöntem



Sıçanlarda Tutuş Teknikleri

- Hayvanların tutulması için diğer 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



Resim 7



Resim 8



Resim 9

Farelerde Tutuş Teknikleri



Tavşanlarda Tutuş Teknikleri

- Tavşanlar çok nadiren ısırırlar. 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

Tavşanlarda Tutuş Teknikleri

