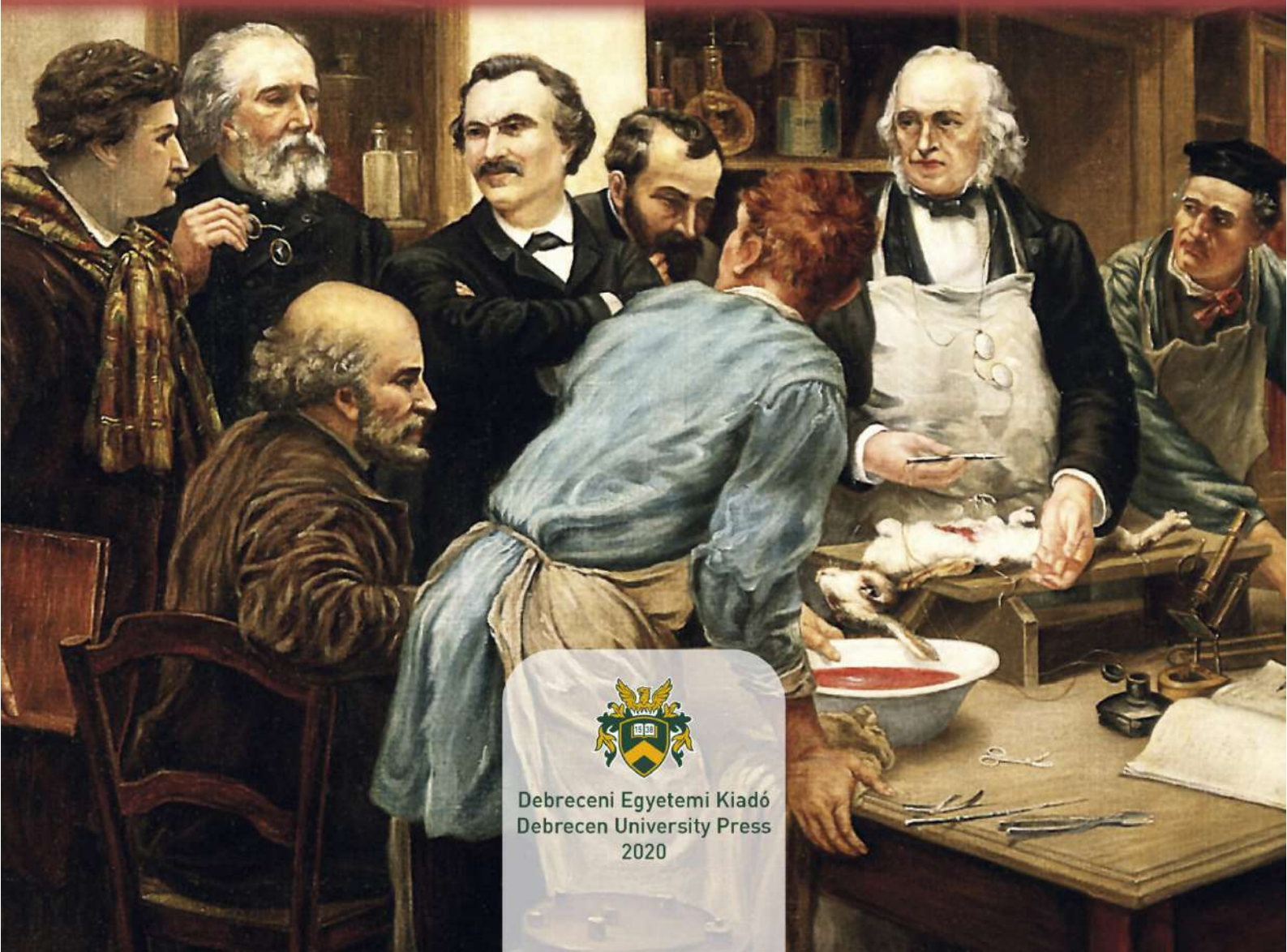


Németh Norbert – Deák Ádám

# ÁLLATKÍSÉRLETI ALAPISMERETEK

Egyetemi jegyzet



Debreceni Egyetemi Kiadó  
Debrecen University Press  
2020

NÉMETH NORBERT-DEÁK ÁDÁM

# ÁLLATKÍSÉRLETI ALAPISMERETEK

egyetemi jegyzet  
az Általános Orvostudományi Kar  
Orvosi Diagnosztikai Analitikus alapszak Orvosi Kutatólaboratóriumi  
Analitika specializáció hallgatóinak

NÉMETH NORBERT – DEÁK ÁDÁM

# ÁLLATKÍSÉRLETI ALAPISMERETEK

egyetemi jegyzet  
az Általános Orvostudományi Kar  
Orvosi Diagnosztikai Analitikus alapszak Orvosi Kutatólaboratóriumi  
Analitika specializáció hallgatóinak



Debreceni Egyetemi Kiadó  
Debrecen University Press

2021

Németh Norbert, Deák Ádám: Állatkísérleti alapismeretek  
egyetemi jegyzet

*Lektorálta:*

Dr. Lantos János, egyetemi docens

Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar

Sebészeti Oktató és Kutató Intézet

## Tartalom

Előszó .....	7
1. Az állatkísérletek története .....	9
2. Az állatkísérletek jogi és etikai vonatkozásai.....	17
3. Az állatkísérletek engedélyezése.....	25
4. Az állatkísérletek tervezésének fő szempontjai .....	30
5. Az állatkísérletek kivitelezésének fő szempontjai.....	39
6. A genetikai szabványosítás alapfogalmai .....	45
7. A mikrobiológiai szabványosítás alapfogalmai (higiéniai szintek és kategóriák) .....	51
8. A kísérleti /laboratóriumi állatok főbb anatómiai és élettani jellemzői ....	60
9. Kísérleti állatok anesztéziája .....	95
10. Életjelenségek monitorozása.....	106
11. Vérvételi módszerek állatkísérletekben.....	110
12. <i>In vivo, ex vivo, in vitro</i> technikák és modellek – Izolált szervek preparálásának alapjai.....	116
13. Forrás, válogatott irodalom .....	125

© Debreceni Egyetemi Kiadó – Debrecen University Press,  
beleértve az egyetemi hálózaton belüli elektronikus terjesztés jogát is

ISBN 978 963 318 908 5

Kiadta: a Debreceni Egyetemi Kiadó, az 1795-ben alapított  
Magyar Könyvkiadók és Könyvterjesztők Egyesülésének a tagja  
dupress.unideb.hu

Felelős kiadó: Karácsony Gyöngyi

A nyomdai munkálatokat

a Debreceni Egyetem sokszorosítóüzeme végezte 2021-ben

# 1. Előszó

*„A természet nagy elvekre épül. A természet nem épít külön elveket egy fának, egy bokornak, egy virágnak, egy embernek. Minden egy közös nagy alapelvre épül, úgyhogy végeredményben mindegy, hogy mit tanulmányozunk, ha elég értelmesek vagyunk ahhoz, hogy az élet alapelveit, szerkezetét megértsük.” – Szent-Györgyi Albert*

A Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar Orvosi Diagnosztikai Analitikus Alapszak Orvosi Kutatólaboratóriumi Analitika (OKLA) specializációján 2007 óta kötelező tantárgy a Sebészeti Műtéttani Tanszék által oktatott „Állatkísérleti alapismeretek”. Ennek fő oka, hogy az orvosbiológiai kutatások ma még nem nélkülözhetik a jogi és etikai kereteken belül jól tervezett, erős szakmai (beleértve a laborállat-tudományt) alapokon nyugvó, megfelelően kivitelezett állatkísérleteket.

Az invazivitással járó kísérletekhez szükséges műtéttani alapok elsajátításához a Mikó Irén és Furka István professzorok által szerkesztett „Műtéttani alapismeretek az ÁOK hallgatói részére” (4. javított, bővített kiadás, Debreceni Egyetemi Kiadó, 2016) című sillabusz típusú egyetemi jegyzet, vagy a „Műtéttani alapismeretek” (javított kiadás, Debreceni Egyetemi Kiadó, 2015) igényes tankönyv tematika szerint vonatkozó fejezetei kiválóan alkalmasak. Ezért ebben a jegyzetben csak az állatkísérleti alapismeretekre, laborállat-tudományi és kísérlettervezési szempontokra fókuszáltunk.

Áttekintést adunk az állatkísérletek történetéről, jogi és etikai vonatkozásairól, a laboratóriumi / kísérleti állatok anatómiai, élettani jellemzőiről, tartási előírásairól és technológiájáról, mikrobiológiai és genetikai szabványosításukról, alapot adva a szakszerű kísérlettervezés és kivitelezés módszertanához.

Ajánljuk ezt a jegyzetet az OKLA specializáció hallgatóinak, valamint PhD-hallgatóknak.

Debrecen, 2020. október

Prof. dr. Németh Norbert és Dr. Deák Ádám

## 1. Az állatkísérletek története



Léon-Augustin Lhermitte:  
*Claude Bernard és tanítványai* (1889)

Az állatok védelméről és kíméletéről szóló 1998. évi XXVIII. törvény szerint az állatkísérlet:

- az állat kísérleti, oktatási vagy egyéb tudományos célból való felhasználása, amely
- az állatnak tűszúrás által okozottal egyenértékű vagy annál magasabb szintű fájdalmat, szenvedést vagy maradandó károsodást okozhat,
- az állat felhasználása akkor is kísérletnek minősül, ha a fájdalom, szenvedés vagy maradandó károsodás kiküszöbölése céljából érzéstelenítést, fájdalomcsillapítást vagy egyéb módszert alkalmaznak.

Habár a kísérleti célokra felhasznált állatok száma bizakodásra okot adó módon az elmúlt évtizedekben folyamatosan csökkenő tendenciát mutat, még mindig nem nélkülözhetőek a biotechnológiai, orvostudományi kutatások számára.

### 1.1. Szükségesek-e még az állatkísérletek?

„Az állatkísérletek az életjelenségek, a kórtani történések és a gyógykezelések lehetőségeinek vizsgálatakor nélkülözhetetlen eljárások voltak és jelenleg is azok. Tulajdonképpen minden nagy élettani, kórtani és gyógyszer-tani felfedezés állatkísérletekhez kötött. [...]

Az élettudományok által feltárt ismeretek egyaránt szolgálják az emberi egészség és életminőség javítását, az emberi faj és a bioszféra kölcsönhatásainak megértését. Az életjelenségek végső soron, megbízhatóan csak élő szervezetekben tanulmányozhatók, ezért az élettudományok nem nélkülözhetik az állatkísérleteket. [...]

Az emberiség fennmaradása ma még nem képzelhető el állatok felhasználása nélkül. Ezeknek túlnyomó többségét, 95%-át, táplálékként fogyasztjuk el, de hosszú távú létezésünk szempontjából ugyanilyen fontossággal bír az a három ezrelék (0,3%) – többségében erre a célra kitenyésztett és szaporított – állat, melyet tudományos kutatásokhoz használunk fel.

Az orvostudomány, beleértve alaptudományait is, a betegségek, az általuk okozott szenvedés és a halál ellen küzd, ezért nemcsak hasznossága, hanem erkölcsi alapja is kikezdetlenül szilárd, mivel az emberi élet fontosságát minden mást megelőző helyre teszi.”

Bertók Lóránd: Az MTA Osztályközi Állatkísérleti Tudományos Bizottságának álláspontja az állatok tudományos célra történő felhasználásáról. *Magyar Tudomány*, 2005/3: 360.

Egy elgondolkodtató becslés: két évezred alatt a gyógyítás és az alapját képező orvostudomány keveset fejlődött. A látványos fejlődés a XIX. században kezdődött el: mai tudásunk mintegy 80%-át csak 1800 után szereztük, több mint 50%-át pedig 1900 óta. Ennek a tudásnak jelentős részét állatkísérletes kutatásoknak köszönhetjük.

Nagy Sándor: Az állatkísérletek etikai vonatkozásai és törvényi szabályozása. In: Boros M. (szerk.) (2007): *Állatkísérletek az orvostudományban*, Szegedi Tudományegyetem.

Napjainkig az 1901 óta kiadott élettani/orvosi Nobel-díjak mintegy 88%-át állatkísérleteket alkalmazó kutatásoknak ítélték oda (94 a 106-ból). Az 1.1. táblázat ezekből mutat be egy válogatást.

1.1. táblázat. Szemelvények az állatkísérleteken alapuló, Nobel-díjas felfedezésekből (teljes lista: <http://www.animalresearch.info/en/medical-advances/nobel-prizes/>)

Téma	Év	Tudós(ok)	Gerinces állatfaj(ok)
A diftéria elleni szérumterápia	1901	Emil von Behring	tehén, tengerimalac, ló, nyúl, patkány
Az emésztés élettana	1904	Ivan Pavlov	kutya
A tuberkulózis terjedése és kezelése	1905	Robert Koch	tengerimalac, egér, patkány
Az idegrendszer felépítése	1906	Camillio Golgi, Santiago Ramón y Cajal	macska, kutya, egér, nyúl, hüllők
Immunitás fertőző betegségekben	1908	Ilya Mechnikov, Paul Ehrlich	tengerimalac, egér, főemlős, egyéb faj
Az erek varrata	1912	Alexis Carrel	macska, kutya, nyúl
Az inzulin felfedezése	1923	Frederick Banting, John MacLeod	tehén, kutya, hal, sertés, nyúl
Az elektrokardiogram	1924	Willem Einthoven	kutya, béka
A tífusz vizsgálata	1928	Charles Nicolle	tengerimalac, egér, patkány, főemlős
A neurotranszmitterek felfedezése	1936	Henry Dale, Otto Loewi	macska, béka
A penicillin felfedezése	1945	Alexander Fleming, Ernst Chain, Howard Walter Florey	egér
A szénhidrátok metabolizmusa	1947	Gerty Cori, Carl Cori, Bernardo Houssay	kutya, béka, nyúl, patkány
A streptomycin felfedezése	1952	Selman Waksman	csirke, tengerimalac, egér
A citromsavciklus	1953	Hans Krebs, Fritz Lipmann	galamb
A poliovírus tenyésztése	1954	John Enders, Thomas Weller, Frederick Robbins	egér, főemlős
Az oxidatív enzimek hatása	1955	Axel Theorell	ló
A belső fül mechanikája	1961	Békésy György	béka, tengerimalac, egyéb emlős
A DNS molekuláris szerkezete	1962	Francis Crick, James Watson, Maurice Wilkins	tehén, birka, egyéb gerinctelen
A daganatok okai és kezelése	1966	Peyton Rous, Charles Huggins	csirke, kutya, nyúl, patkány

1.1. táblázat folytatása

Téma	Év	Tudós(ok)	Gerinces állatfaj(ok)
A látás élettana	1967	Haldan Hartline, George Wald, Ragnar Granit	macska, béka, tengerimalac, patkány, hüllők
A genetikai kód és a fehérjeszintézis kapcsolata	1968	Robert Holley, Marshall Nirenburg, Gobind Khorana	béka, tengerimalac, patkány
Tumorvírusok és a sejt genetikai komponensei közötti kölcsönhatások	1975	Renato Dulbecco, Howard Temin, David Baltimore	csirke, ló, egér, főemlős
A hisztokompatibilitási antigének és a hatásmechanizmus azonosítása	1980	Baruj Benacerraf, Jean Dausset, George D. Snell	tengerimalac, egér
Szervátültetési technikák	1990	Joseph E. Murray, E. Donnall Thomas	kutya, egér, nyúl
Sejtek szabályozó mechanizmusa	1992	Edmond H. Fischer, Edwin G. Krebs	egér, nyúl
G-proteinek és jelátviteli szerepük	1994	Alfred G. Gilman, Martin Rodbell	patkány
A prionok felfedezése és jellemzése	1997	Stanley B. Prusiner	hőrcsög, egér
Jelátvitel az idegrendszerben	2000	Eric, Kandel, Paul Greengard, Arvid Carlsson	tengerimalac, egér, patkány, hüllő
A HPV és a HIV szerepe betegségek kialakulásában	2008	Harald zur Hausen, Françoise Barré-Sinoussi, Luc Montagnier	kecske, ló, egér, birka
A telomerek és a telomeráz szerepe a kromoszómák védelmében	2009	Elizabeth H. Blackburn, Carol W. Greider, Jack W. Szostak	béka, egér
Cellularis autophagia	2016	Yoshinori Ohsumi	egér
Rákellenes terápia a negatív immunszabályozás gátlásával	2018	Tasuko Honjo, James P Allison	egér

## 1.2. Szemelvények az állatkísérletek történetéből (szemléletek és szemléletváltások)

### 1.2.1. Ókor, középkor

Az orvostudomány „hajnala” óta az ember különböző állatfajokat használt az anatómiai és élettani ismeretek bővítésére. Számos kultúrában az emberi test boncolása tabunak számított, tiltva volt az ókori Görögországban, a Római Birodalomban, később a keresztény államokban és az iszlám világban is. Ezért sok évszázadon keresztül az anatómiai ismeretek megszerzésére és az élettani folyamatok megfigyelésére, megértésére egyedül az állatok boncolása, nemritkán vivisectiója adott módot. Mai szemmel a vivisectio, azaz élveboncolás igencsak elborzasztó.

Az ókori Görögországban Krotóni Alkmaion (Kr. e. V. század), Arisztotelész (Kr. e. 384–322), Kalisztoszi Dioklész (Kr. e. 375–295), Praxagorasz (Kr. e. IV. század), Hérophilosz (Kr. e. 335–280), Eraszisztratosz (Kr. e. 304–250) és kortársaik főleg sertéseket, majmokat boncoltak. Az alexandriai iskolában az emberi test felnyitására irányuló tabu fellazult, és elitélteken is végeztek boncolást, sőt vivisectiót (Hérophilosz, Eraszisztratosz).

A megszerzett ismeretek akkoriban jelentősnek számítottak és nagy hatással voltak a későbbi korokra, köztük a görög származású (Pergamon), római orvos és tudós, Galenus (129–216 körül) munkásságára is. Galenus sertéseken, majmokon és más emlősállatokon végzett vivisectiója és tetembontása során nyert ismeretek aztán egészen a reneszánsz időkig kanonikus jelleggel, dogmaként maradtak fenn, azok mai ismereteink szerinti igazságaival és nem kevés súlyos tévedéseivel is.

Az ókori görögök és rómaiak számára nem volt erkölcsi kérdés az állatok ilyen célú és módú felhasználása. Az ember hasonlósága az antropomorf istenekkel magasabbrendűséget jelentett, és filozófiájuk szerint így az ember meghatározott szinten helyezkedett el a természet hierarchikusnak hitt láncolatában (*scala naturae*), ami az élettelen elemektől, az állatokon, az embereken át az istenekig vezetett. Az ember vélt dominanciája a természet felett a későbbi korokban, más vallásokban és világképekben is megmaradt, és látjuk ezt ma is.

Később a zsidó-keresztény kultúrában is tovább élt az ember mint felsőbbrendű lény nézete. Mózes I. könyvében kinyilatkoztatásra kerül, hogy Isten teremtésének részei az állatok, de az ember felettük áll:

„Alkossunk embert a képmásunkra, hozzánk hasonlónak: uralkodjék a tenger halain, az ég madarain, a jóságokon, az összes vadállaton és az összes csúszómászón, ami a földön csúszik-mászik. [...] Szaporodjatok, sokasodjatok, töltsetek

tek be a földet, és hajtsátok uralmatok alá! Uralkodjatok a tenger halain, az ég madarain és a szárazföldön mozgó minden élőlényen!” (Mózes I. könyve). De Isten szövetségének részei az állatok is, könyörülettel kell velük bánni: „Én pedig ímé szövetséget szerzek ti veletek és a ti magvatokkal ti utánnatok. És minden élőállattal, mely veletek van: madárral, barommal, minden mezei vaddal, mely veletek van; mindattól kezdve a mi a bárkából kijött, a földnek minden vadjáig.”

Ez a nézet a Koránban is jelen van (VII. század), mely szerint minden élőlény Allah teremtménye, tehát Allah szeret minden állatot. Az állatok azért léteznek, hogy az emberek hasznára legyenek. Ugyanakkor az állatok felé jó szándékkal és könyörülettel kell viseltetni. A cselekedetek a szándék szerint ítéltetnek meg.

Hippói Szent Ágoston (354–430), korának egyik legjelentősebb keresztény teológusa szerint az állatok az emberek kiszolgálására létrehozott világ részét képezték (akárcsak a „föld, víz és ég”), így az emberiségnek nincsenek velük szemben kötelezettségei. Később, Aquinói Szent Tamás (1225–1274) szerint bár az ember alá rendelt állatoknak nincs képességük gondolkodni, lelkük sincs, ezért nem lehet velük szemben bünt elkövetni, de a velük szemben mutatott kegyetlenség elítélendő, mert az hajlamosít az emberekkel szembeni kegyetlenkedésre. Mai nézet szerint is tehát az emberi méltósággal ellentétes az állatok halálának és szenvedésének szükségtelen okozása. A középkor szentjei között számos példa mutatja az állatok iránti szeretet és jóindulat fontosságát, mint Assisi Szent Ferenc (1182–1226) vagy Páduai Szent Antal (1195–1231).

### 1.2.2. Reneszánsz és barokk medicina

Állatkísérletek felhasználása a tudományos kutatások kielégítésére a reneszánszban jelentkezik újra. Vesalius flamand anatómus (1514–1564), szakítva a hagyományokkal és szabályokkal, az emberi test anatómiájának megismerésében úttörő jelentőségű munkát végzett, megteremtve ezzel is az összehasonlító anatómia alapját. Tisztázott számos félreértést az emberi test felépítéséről hitt, állatok boncolásán alapuló galenusi dogmákat illetően. Az anatómiai ismeretek bővülése mellett, amelyet a Katolikus Egyház emberi testek boncolásának tiltásával („*Ecclesia abhorret sanguinem*”) szembeszálló tudósok tettek lehetővé, a reneszánsz korszakában a vivisectio is újjáledt, mint felfedező jellegű módszer az élettan megértéséhez. Francis Bacon (1561–1626) is megerősítette a vivisectio tudományos jelentőségét, ezzel az *anatomia vivorum* már Celsus (Kr. e. 25 – Kr. u. 50 körül) által is inhumánusnak ítélt mivoltát elvetette. Az állatokat nem tekintették érző lényeknek, továbbra is úgy tartották, hogy nincs lelkük és tudatuk. Ezt a nézetet támogatták René Descartes (1596–1650) írásai, amelyek szerint az élő rendszerek kizárólag a mechanika alapelvei segítségével érthetőek meg.

Ebben az időben nemcsak a humán anatómiai ismeretek bővíthettek tehát, hanem az élettani felfedezések is, melyek közül a legjelentősebbnek tekinthető William Harvey (1578–1657) munkássága. Szakítva a mintegy tizennégy évszázadon át uralkodó galenusi dogmával, miszerint a „vérkeringés” központja a máj, állatokon végzett kísérletekben bebizonyította, hogy a vér valóban kering (kiszív, nagyvérkör), a keringés központja a pedig a szív (*Exercitatio Anatomica de Motu Cordis et Sanguinis in Animalibus*, 1628).

### 1.2.3. A XVIII–XIX. század

A XVIII. századtól kezdve fokozatosan elfogadták, hogy a kísérletes orvostudomány eredményei az ember jólétéhez járulnak hozzá. Az is nyilvánvalóvá vált, hogy az orvostudomány további fejlődése az állatkísérletek eredményeitől nagyban függ.

Jeremy Bentham (1748–1832) filozófus, szociális reformer főművében (*Introduction to the Principles of Morals and Legislation*, 1789) az állatkísérletekkel kapcsolatban írta: „*Nem az a kérdés, hogy tudnak-e gondolkodni, tudnak-e beszélni, hanem az, hogy tudnak-e szenvedni?*” (Prof. dr. Nagy Sándor fordítása). Ez a nézet igen nagy befolyást gyakorolt az állatkísérletekről folyó vitára.

A XIX. században jelentős mozgalom indult az állatkísérletek ellen, először a viktoriánus Angliában, majd Franciaországban is. Az első anti-vivisectionista szervezetet, a „*Viktória Utcai Társaság*”-ot 1875-ben Frances Power Cobbe (1822–1904) író, szociális reformer, feminista és anti-vivisectionista alapította Angliában. Angliában vezették be az első, a kísérleti állatokat védő törvényt (*Cruelty to Animals Act*, 1876).

A XIX. század végére az állatkísérletek száma fokozódott, szabályozottabb keretek között ment végbe. Ezt több tényező segítette elő:

- az általános érzéstelenítés bevezetése: Horace Wells, 1844 (dinitrogén-monoxid) és William Morton, 1846 (diethyl-éter);
- Charles Darwin (1809–1882): *A fajok eredete*, 1859;
- Claude Bernard (1813–1873): *Bevezetés a kísérletes orvostudomány tanulmányozásához*, 1865;
- fejlődés a mikrobiológia terén, Robert Koch (1843–1910): *Postulates*, 1884;
- több orvosbiológiai diszciplína és a gyógyszeripar fejlődése.

A XIX. század végéig főként háziállatokat használtak az orvostudományi kísérletekhez.

#### 1.2.4. A XX. század

Az állatokkal való kísérletezés gyors tempóban terjedt. Egyre inkább előtérbe kerültek a már rendelkezésre álló beltenyésztett egér- és patkánytörzsek. Később több más emlős, madár, hüllő, kétlábú és halfaj is bevonásra került. Etikai Kódexek, Állatvédelmi Törvények 1966-tól jelentek meg (Magyarországon 1998-ban).

Az állatkísérletek szabályozásában mérföldkőnek számított Russell és Burch 1959-ben megjelent *The Principles of Humane Experimental Technique* című munkája, amellyel bevezetésre került a laborállat-tudomány és kísérlettervezés máig is sarkalatos elemeként szem előtt tartott 3R elve (Replacement – helyettesítés, Reduction – csökkentés, Refinement – finomítás/tökéletesítés).

Az elmúlt évtizedekben nagy előrelépések történtek a tenyésztési programok, a genetikai és mikrobiológiai szabványosítás, az állatházak technológiája, az állatok egészségi állapotának megőrzése, a tartási és környezetgazdagítási, takarmányozási kérdések terén.

A tudományterületek fejlődése számtalan új ismeretet adott ahhoz is, hogy az egyes fajok anatómiai és élettani jellegzetességei, az egyes beavatkozások, gyógyszerek, készítmények hatásai milyen mértékben hasonlíthatóak össze a humán vonatkozásokkal. Sajnos ebbe a folyamatba tragédiák sora is beletartozott, ami az állatkísérleteket ellenzők számára bizonyosággal szolgált. Ilyen esetként említhető az 1950-es évek végén és 1960-as évek elején bevezetett és használt thalidomid (nyugtató fájdalomcsillapító szer), aminek használata miatt több tucat országban sok ezer gyermek született végtagfejlődési rendellenességgel (phocomelia), mert az anyák terhességük alatt szedték ezt a gyógyszert. Állatkísérletekben (rágcsálók) nem mutatkozott ilyen hatás, emberben sajnos igen. 1961–1968 között minden országban betiltották ezt a szert.

Az extrapoláció kérdése tehát sarkalatos tényezővé vált, mint a laborállat-tudomány és kísérlettervezés fontos szempontja. A translációs szemlélet kialakulása és erősödése napjainkra beágyazódott a kutatásokba, különösképpen a gyógyszerfejlesztés területébe. A taxonómiai távolság/közelség, fajok között mutatkozó élettani és kóréleti különbségek és jellegzetességek alapvető fontosságúak az extrapoláció tekintetében.

## 2. Az állatkísérletek jogi és etikai vonatkozásai

### A 3R

1959-ben William M. S. Russell és Rex L. Burch *A humánus kísérleti módszerek alapelvei (Principles of Humane Experimental Technique)* című könyvében fektette le a 3R elvét. A 3R egy angol betűszó, amelynek jelentése: Replacement, vagyis helyettesítés, Reduction, azaz csökkentés és Refinement, a magyar jogszabályban a tökéletesítés (korábban finomítás). A 3R irányelv kidolgozásának mozgóereje az állatkísérletekben használt technikák etikai megítélése és elemzése volt. A mű célja humánus és etikus szemlélet kialakítása az állatkísérletekben részt vevő kutatókban.

*A replacement:* az állati modellek helyettesítése más módszerekkel, modellekkel. A helyettesítés lehet teljes helyettesítés (*absolute replacement*). Ezek olyan kísérletek, melyekhez nem szükséges állati eredetű biológiai anyag. Lehet relatív helyettesítés (*relative replacement*), azaz olyan kísérletek, amelyekben részt vesznek állatok, azonban teljesen megszüntetik az állati szenvedést anélkül, hogy mindez kizárná a vizsgálatok további folytatását. Napjainkban a kísérleti állatok helyettesítésének széles skálája áll a kutatók rendelkezésére, így az:

- *in vitro* módszerek, sejt-, szövet- és szervkultúrák,
- 3D sejttenyésztés/szövettenyésztés, 3D nyomtatás,
- organoidok,
- nem vagy kevésbé érzőképes élőlények, alacsonyabb rendű szervezetek (pl. rovarok, csigák, férgek, baktériumok, gombák, növények),
- önállóan táplálkozni nem képes lárvaállapotú gerincesek,
- embrionális állapotú emlősök a vemhesség első kétharmadában,
- önkéntesek,
- biopreparátumok, *ex vivo* szövetek,
- mechanikus modellek,
- *in silico* eljárások,
- számítógépes rendszerek/szimulációk,
- matematikai modellezés,
- oktatófilmek.

A *reduction*, vagyis csökkentés, a kísérletekben felhasznált állatok számának csökkentését jelenti a lehetőségek határáig, például:

- a kísérlet megfelelő tervezése,
- megfelelő statisztikai módszerek alkalmazása,
- a megfelelő kísérleti modell (állat) kiválasztása,
- beltenyésztés (a variabilitás csökkentése érdekében, amely nélkül a kísérlet sok állatot igényelne és bizonytalanok lennének az eredmények),
- genetikai módosítás (kevesebb állatot igényel, célzottabb és biztosabb),
- kísérleti állatok egészségi állapotának és az állati jóllétnek (a variabilitás, elhullás elfed/eltorzít) a fontossága.

A *refinement*, vagyis tökéletesítés (korábban finomítás megnevezéssel is szerepelt a magyar nyelvű szakirodalomban) az állati fájdalom és szenvedés csökkentése, kevesebb szenvedést okozó módszerek alkalmazása. Ezeket a következők alkalmazásával lehet elérni:

- oktatás – a kutatók és gondozók képzettsége,
- megfelelő állattartási körülmények, környezetgazdagítás,
- az állatok szoktatása, tanítása, kondicionálása,
- nyugtatás, érzéstelenítés és fájdalomcsillapítás,
- végpontok körültekintő meghatározása és pontos betartása,
- megfelelő eutanázia.

Napjainkban már minden felelős kutatónak ismernie és alkalmaznia kell a fent ismertetett elveket.

Az etikai és a jogi kérdések nem választhatók szét élesen egymástól. Ezt mutatja az a tény is, hogy a 3R, vagyis a helyettesítés, a csökkentés és a tökéletesítés elve a különböző útmutatók és ajánlások után megjelent, először a nemzetközi jogszabályokban, így a 2010/63/EU Irányelvben is, majd a hazai jogszabályokban, az állatvédelmi törvényben és a 40/2013. kormányrendeletben is.

#### *Az állatkísérleti jogszabályok*

Jelentősebb nemzetközi jogszabályok az állatok védelméről és kíméletéről:

- 1876: Cruelty to Animals Act, Egyesült Királyság,
- 1966: Animal Welfare Act, módosítások (amendments) 1970, 1976, 1985, 1990, 2002, 2007, 2008, Amerikai Egyesült Államok,
- 1986: Animals (scientific procedures) Act, Egyesült Királyság,
- 1986: A Tanács 86/609/EGK Irányelve (1986. november 24.) a kísérleti és egyéb tudományos célokra felhasznált állatok védelmére vonatkozó tagállam-

mi törvényi, rendeleti és közigazgatási rendelkezések közelítéséről, Európai Unió,

- 2007: az Európai Bizottság 2007/526/EK sz. ajánlása a kísérleti és egyéb tudományos célokra használt állatok elhelyezésére és gondozására vonatkozó iránymutatásról,
- 2010: Az Európai Parlament és a Tanács 2010/63/EU Irányelve a tudományos célokra felhasznált állatok védelméről.

Bár hazánkban a XIX. századtól kezdve jelentek meg az állatvédelemmel foglalkozó értekezések, cikkek, folyóiratok, könyvek és jogszabályok is (például minisztériumi rendelet), az első átfogó állatvédelmi törvényre egészen a XX. század végéig várnunk kellett. 1998-ban jelent meg az 1998. évi XXVIII. törvény az állatok védelméről és kíméletéről. A törvényt az elmúlt két évtizedben számos alkalommal, törvényekkel és kormányrendeletekkel erősítették meg vagy módosították.

Az 1998. évi XXVIII. törvény az állatok védelméről és kíméletéről 11 fejezetben szabályozza az állatok védelmét. Ezek közül a IV. fejezet, amely a kísérleti, oktatási vagy egyéb tudományos céllal tartott állatokra vonatkozó külön szabályokat ismerteti. Ezen belül találhatóak:

- az állatkísérlet végzésének általános szabályai,
- az állatkísérletek engedélyezése,
- az állatkísérlet végzésével és a tenyésztők, beszállítók, felhasználók működésével kapcsolatos intézkedések és jogkövetkezmények.

Magyarországon az Európai Parlament és Tanács 2010/63/EU Irányelv a tudományos célokra felhasznált állatok védelméről, a 40/2013. (II. 14.) Kormányrendelet az állatkísérletekről formájában került bevezetésre.

A 40/2013. (II. 14.) Kormányrendelet az állatkísérletekről részei:

- I. Fejezet: Általános rendelkezések
- II. Fejezet: A kísérletben felhasználható állatokra vonatkozó rendelkezések
- III. Fejezet: A kísérletre vonatkozó általános szabályok
- IV. Fejezet: A tenyésztők, beszállítók és felhasználók működési követelményei
- V. Fejezet: Az állatkísérleti tevékenység engedélyezése
- VI. Fejezet: Állatkísérleti Tudományos Etikai Tanács
- VII. Fejezet: Záró rendelkezések

**Mellékletek:**

1. Kísérleti állatot tenyésztő, beszállító és felhasználó működési engedély iránti kérelem tartalmi elemei
2. A projekt engedélyezése iránti kérelem tartalmi elemei
3. A létesítményekre, valamint az állatok gondozására és elhelyezésére vonatkozó követelmények; A követelmények állatfajok szerinti lebontása
4. Az állatok leölésének módszerei
5. Oktatási és képzési minimumkövetelmények

**Az állatkísérletek végzése szempontjából fontos fogalmak****Mit nevezünk állatkísérletnek?**

Hogy mi számít állatkísérletnek, azt az Állatvédelmi törvény határozza meg. Az állat kísérleti, oktatási vagy egyéb tudományos célból való felhasználása, amely az állatnak a helyes állatorvosi gyakorlat szerint kivitelezett tűszúrás által okozott egyenértékű vagy annál magasabb szintű fájdalmat, szenvedést, kínt vagy maradandó károsodást okozhat, beleértve bármely olyan tevékenységet, amely állat születését – beleértve a kikelést – eredményezi ilyen körülmények közé, valamint az ilyen állapotot eredményező géntechnológiailag módosított fajtavonalak létrehozását és fenntartását. Az állat ilyen felhasználása akkor is kísérletnek minősül, ha a fájdalom, szenvedés, kín vagy maradandó károsodás kiküszöbölése céljából érzéstelenítést, fájdalomcsillapítást vagy egyéb módszert sikeresen alkalmaznak (Átv. 3. §).

**Mi az, ami nem minősül állatkísérletnek?**

A nem kísérleti jellegű, mezőgazdasági vagy klinikai állatorvosi tevékenység, illetve az állatok leölésének vagy megjelölésének a természettudományok által elfogadott korszerű, kevésbé fájdalmasnak tartott módszereinek alkalmazása. A rendelet előírásai nem alkalmazandók az állatgyógyászati készítmény forgalomba hozatalának engedélyezéséhez szükséges állatorvosi klinikai vizsgálatra és az elismert állattartási gyakorlatra. Az elismert állattartási gyakorlat nem kísérleti jellegű mezőgazdasági vagy állatorvosi tevékenységnek minősül (Korm. rendelet 1. §. (4)).

**Mit nevezünk kísérleti állatnak?**

„1. § (1) E rendelet hatálya alá a kísérletek során felhasznált vagy ilyen felhasználásra szánt, valamint a kifejezetten szerveik vagy szöveteik tudományos célra történő felhasználásáért tenyésztett:

- a) élő gerincesek, beleértve
  - aa) az önállóan táplálkozó lárvaállapotú állatokat; valamint
  - ab) az emlős magzatokat rendes fejlődésük utolsó harmadában;
- b) élő lábasfejűek, tartoznak.”

**Milyen állaton végezhetünk kísérletet?**

30. § (1) Kísérlet céljára az állatvédelmi hatóság által engedélyezett állatot szabad felhasználni.

- (2) Az emberszabású majmok kísérleti célú felhasználása tilos.
- (3) Nem emberszabású főemlősök kísérleti célú felhasználása csak e törvény végrehajtására kiadott rendeletben meghatározott feltételek fennállása esetén engedélyezhető.
- (4) Háziastított állatfaj kóbor egyedét, valamint vadon befogott állatot – a (6) bekezdésben foglalt kivétellel – kísérlet céljára felhasználni nem szabad.
- (5) Természetvédelmi oltalom alatt álló vagy nemzetközi természetvédelmi egyezmény hatálya alá tartozó állatfaj egyedén, a törvényben meghatározott kivételekkel.
- (6) Az állatvédelmi hatóság e törvény végrehajtására kiadott rendeletben meghatározott feltételek fennállása esetén mentességet adhat a (4) bekezdés alkalmazása alól.

- (1) Az alább felsorolt fajok egyedét csak akkor lehet kísérlet során felhasználni, ha azt kifejezetten e célra tenyésztették:
  - a) egér (*Mus musculus*)
  - b) patkány (*Rattus norvegicus*)
  - c) tengerimalac (*Cavia porcellus*)
  - d) szíriai aranyhörcsög (*Mesocricetus auratus*)
  - e) kínai törpehörcsög (*Cricetulus griseus*)
  - f) mongol futóegér (*Meriones unguiculatus*)
  - g) nyúl (*Oryctolagus cuniculus*)
  - h) kutya (*Canis familiaris*)
  - i) macska (*Felis catus*)
  - j) a főemlős állatok összes faja,
  - k) dél-afrikai karmosbéka (*Xenopus laevis*), nyugati karmosbéka (*Xenopus tropicalis*), gyepi béka (*Rana temporaria*), északi leopárdbéka (*Rana pipiens*),
  - l) zebradánió (*Danio rerio*).

A főemlősök kivételével tudományos indokok alapján mentesség adható (Korm. rendelet 3. §).

### *Meddig kell alkalmazni a kísérleti állatokra vonatkozó szabályokat?*

„1. § (3) E rendelet előírásai mindaddig alkalmazandók, amíg a rendelet hatálya alá tartozó állatot le nem ölik, újból ki nem helyezik, vagy vissza nem juttatják, egy megfelelő élőhelyre vagy állattartási rendszerbe. E rendelet előírásai a kísérletekben felhasznált olyan állatokra is alkalmazandók, amelyek annak ellenére, hogy a kísérlet idején nem érik el a (1) bekezdés *a*) pontjában leírt fejlettségi szintet, a kísérletet követően megélik az annak a fejlettségi szintnek megfelelő kort és az elvégzett kísérlet eredményeképpen életük későbbi szakaszaiban valószínűsíthetően fájdalomban, szenvedésben, kínban vagy maradandó egészségkárosodásban lehet részük.”

### *Mi a kísérletek súlyossági besorolása?*

A kísérletek súlyosság szerint a következők lehetnek a Kormányrendelet 2. §-a szerint:

- **érzéstelenítéses-túlaltatásos kísérlet:** teljes mértékben általános érzéstelenítésben végzett kísérlet, amely után az állat nem nyeri vissza az eszméletét;
- **enyhe kísérlet:** olyan kísérlet, amely során az állatot valószínűsíthetően rövid ideig tartó enyhe fájdalom, szenvedés vagy kín éri, valamint az olyan kísérlet, amely során az állat jóléte vagy általános állapota nem romlik számottevően;
- **mérsékelt kísérlet:** olyan kísérlet, amely során az állatot valószínűsíthetően rövid ideig tartó mérsékelt fájdalom, szenvedés vagy kín vagy hosszú ideig tartó enyhe fájdalom, szenvedés vagy kín éri, valamint olyan kísérlet, amely során az állat jóléte vagy általános állapota valószínűsíthetően mérsékelten romlik;
- **súlyos kísérlet:** olyan kísérlet, amely során az állatot valószínűsíthetően súlyos fájdalom, szenvedés vagy kín, vagy hosszú ideig tartó mérsékelt fájdalom, szenvedés vagy kín éri, valamint olyan kísérlet, amely során az állat jóléte vagy általános állapota valószínűsíthetően jelentősen romlik.

### *Ki tervezhet, vezethet, végezhet állatkísérletet?*

#### *Ki gondozhat és ölhet le állatot?*

(2) A személyzetnek megfelelő képzésben és oktatáson kell részt vennie az alábbi tevékenységek bármelyikének végzését megelőzően:

- a*) állat gondozása:
  - helyi oktatás és MÁB vizsga, vagy
  - állattenyésztő, állatgondozó bizonyítvány

*b*) állaton végzett kísérlet:

- érettségi bizonyítvány és
- 20+20 órás akkreditált tanfolyam vagy iskolarendszerű képzés

*c*) kísérlet és projekt megtervezése:

- felsőfokú végzettség (élettudományi és rokon mesterfokú diploma) és
- 40+40 órás akkreditált tanfolyam vagy iskolarendszerű képzés és
- fajszerkesztés szaktudással is rendelkezni kell

*d*) állat leölése:

- bármelyik az előző háromból (Korm. rendelet 35. §)

### **Jogkövetkezmények, szankciók**

Az Állatvédelmi törvény a 33. §-ban ismerteti az állatkísérlet végzésével, a tenyésztők, beszállítók, felhasználók működésével kapcsolatos intézkedéseket és jogkövetkezményeket, röviden szankciókat:

33. § (1) Az állatvédelmi hatóság az állatkísérletek végzéséről szóló jogszabályok vagy az engedélyben foglaltak megsértése esetén

- a*) a kísérletet folytató személyt vagy felhasználó létesítményt határidő megállapítása mellett kötelezi a hiányosság megszüntetésére, valamint a kísérlet végzését a hiányosság megszüntetéséig felfüggesztheti, vagy
- b*) a kísérletre vonatkozó engedélyt visszavonhatja, ha a hiányosság előírt módon és mértékben való megszüntetésére határidőben nem került sor.

(2) Az állatvédelmi hatóság az állatkísérletek végzéséről szóló jogszabályok vagy az engedély előírásainak két éven belül történő ismételt megsértése esetén a kísérletre vonatkozó engedély visszavonásával egyidejűleg a kísérletet folytató személyt, valamint a felhasználó létesítményt – a szabályszegés mértékére és súlyára figyelemmel – a további kísérletek végzésétől határozott időre, de legalább hat hónapra és legfeljebb három évre eltilthatja.

(3) Az állatvédelmi hatóság a kísérleti állatok tartásának körülményeiről szóló jogszabályok, valamint a tartási, tenyésztési, beszállítói engedélyben foglaltak megsértése esetén a jogsértés súlyától, a jogsértő állapot időtartamától, ismétlődésétől, valamint az állatnak okozott sérelem jellegétől függően

- a*) az állattartót, a tenyésztőt, a beszállítót, valamint a tenyésztő és tartó létesítményt kötelezi az észlelt hiányosság megszüntetésére, és a tevékenység végzését, valamint a létesítmény működését a hiányosság pótlásáig felfüggesztheti, vagy

b) súlyos jogszabálysértés esetén a tartási, tenyésztési, beszállítói engedélyt, valamint a létesítmény engedélyét visszavonhatja.

(4) Az (1)–(3) bekezdés szerinti jogkövetkezmény alkalmazása nem járhat az állatok jólétére nézve hátrányos következményekkel.

(5) Az állatvédelmi hatóság az állatkísérlet végzésére vonatkozó, valamint a tartási, tenyésztési, beszállítói engedély felfüggesztése vagy visszavonása esetén kötelezi az engedélyest az állatállomány megfelelő elhelyezésére. Az elhelyezés eredménytelensége esetén az állat életét az e törvényben megengedett módon ki lehet oltani.

### 3. Az állatkísérletek engedélyezése

#### Állatkísérletek kérelmezésének folyamata, az ehhez szükséges dokumentumok

A felhasználó vagy a projektért felelős személy köteles projektengedély iránti kérelmet benyújtani az élelmiszerlánc-biztonsági és állategészségügyi hatósághoz, közvetlenül vagy a Munkahelyi Állatjóléti Bizottságon keresztül (3.1. ábra). A kérelmet az állatkísérletekről szóló 40/2013. (II. 14) Korm. rendelet 2. melléklete szerint kell benyújtani.

*A projekt engedélyezése iránti kérelem tartalmi elemei (a 40/2013. Kormányrendelet 2. számú melléklete alapján):*

- azonosító adatok (kérelmező adatai, a felhasználó intézmény adatai, engedélyszáma)
- projekt ismertetése:
  - megnevezése
  - tudományos indokoltság, állatkísérlet szükségessége (irodalomjegyzék)
  - alkalmazott módszertan tudományos megalapozottsága (irodalomjegyzék)
  - 3R elvének követése: helyettesítés és csökkentés
- az összes kísérlet részletes ismertetése
  - összes kísérlet számozott felsorolása és ismertetése
  - a kísérletben alkalmazott módszerek, kitérve az állaton végzett beavatkozásokra; amennyiben végeznek műtetet a kísérletben, ismertetni kell az alkalmazott érzéstelenítési, gyógyszeres és fájdalomcsillapítási eljárásokat
  - a kísérlet időtartamának megadása (maximum 5 év), valamint meg kell adni, hogy egy állat meddig vesz részt a kísérletben
  - a kísérletben felhasznált állatok faja és fejlődési állapota, jelezni és indokolni kell az állatok ismételt felhasználásának előfordulását
  - a kísérleti állatok számának csökkentése érdekében alkalmazott kísérleti vagy statisztikai módszertan; meg kell adni a tervezett mintaelemszámot, azaz egy kísérleti csoportban mennyi állat szerepel
  - a felhasznált kísérleti állatok fájdalmának, szenvedésének, kínjának csökkentése

kentése érdekében alkalmazott kísérleti, megfigyelési vagy mérés technikai módszerek, kitérve a kíméletes végpontok alkalmazására

- állatok sorsa a kísérlet végeztével
- súlyossági besorolásra javaslat
- állatfajok és számok megadása
- állattartási körülmények:
  - állatház engedélyének a száma
  - az állattartás körülményeinek részletes leírása fajonként
  - az állattartó helyiség paramétereinek ismertetése: hőmérséklet, páratartalom, légcseres, fotoperiódus ismertetése
  - környezetgazdagítási módszerek
  - részletes tápösszetétel
  - egyedsűrűség (állatok száma / m<sup>2</sup>)
- állatház engedélyének a száma, valamint befogadó nyilatkozat (amennyiben nem az adott intézet állatházában történik a kísérleti állatok tartása)
- személyi feltételek ismertetése: a kísérletben részt vevők végzettsége, labor-állat-tudományi tanfolyam kategóriája, MÁB tanúsítvány száma és kiállítója
- mentességi kérelmek
- nem szakmai összefoglaló kötelező tartalmi elemei:
  - a projekt céljának rövid ismertetése
  - a felhasználni kívánt állatfaj/ állatfajok feltüntetése
  - a felhasználni kívánt kísérleti állatok száma, összesen
  - az alkalmazott 3R: helyettesítés, csökkentés, tökéletesítés
  - az állatokat ért ártalom ismertetése
  - ártalom/haszon elemzés

A kérelem csak akkor nyújtható be, ha a meghatározott időtartamra szóló projektben szereplő kísérleteket ezt megelőzően a Munkahelyi Állatjóléti Bizottság (MÁB) jóváhagyta. A hatóság, azaz a Megyei Kormányhivatal Élelmiszerlánc-biztonsági és Állategészségügyi Osztálya a hiánytalan és formailag megfelelő kérelmet projektértékelés céljából továbbítja az Állatkísérleti Tudományos Etikai Tanács (ÁTET) részére. A hatóság az engedélyezésről szóló határozatot az ÁTET szakértői véleményének figyelembevételével hozza meg. A kérelem engedélyezhető, feltételekkel engedélyezhető vagy hiánypótlásra kötelezhető, vagy nem adható meg az engedély, amennyiben az ÁTET a szakértői véleményben nem javasolja az állatkísérlet engedélyezését. A határozatban kiadott engedély legfeljebb 5 évre adható.



3.1. ábra: A projektkérelem engedélyezésének folyamata

A felhasználó kérelmezheti a projektengedély módosítását az eredeti engedély egy vagy több feltételének megváltoztatása céljából. A módosítási kérelemben meg kell jelölni a módosítandó engedély számát, a módosítás tárgyát és indokát, valamint az erre vonatkozó MÁB jóváhagyást. Szükség esetén a projekt megfelelően módosított nem szakmai jellegű összefoglalóját is mellékelni kell. Amennyiben az engedélyben meghatározott feltételekben bekövetkezett változás mértéke nem indokolja új engedély kiadását, az élelmiszerlánc-biztonsági és állategészségügyi hatóság a projektengedélyt módosíthatja. Az engedély módosítása nem változtatja meg az engedély hatályának lejártát. A projektengedély módosítására egy újabb projektértékelés kedvező eredménye esetén kerül sor.

Az engedély meghosszabbítását kell kérelmezni, amennyiben az abban meghatározott feltételekben nem következik be változás, de az engedély hatályának meghosszabbítása szükséges. A kérelmet legkésőbb az engedély hatályának lejártá előtt 60 nappal kell benyújtani. A kérelemben meg kell jelölni a meghosszabbítani kívánt engedély számát. 10 évnél régebbi keltezésű engedélyt és visszamenőleges értékelésre kijelölt projekt engedélyét meghosszabbítani nem lehet.

#### *Felhasználó intézmények*

Projekt engedélyezése iránti kérelmet csak olyan felhasználó intézmény nyújthat be, amelyet a 40/2013. (II. 14.) Korm. rendelet 1. melléklete szerint benyújtott kérelme alapján az élelmiszerlánc-biztonsági és állategészségügyi hatóság nyilvántartásba vett, és a felhasználó és annak létesítménye megfelel az Állatvédelmi törvény és rendelet előírásainak. Az élelmiszerlánc-biztonsági és állategészségügyi hatóság legfeljebb 10 évre engedélyezi a felhasználó működését. A kérelmező

csak olyan személy lehet, aki megfelel a jogszabályban előírt követelményeknek: rendelkezik a tevékenység folytatásához szükséges, elfogadott felsőfokú képesítéssel, valamint sikeresen elvégezte az ÁTET által elismert tanfolyamot (80 óras, EU-B, FELASA-C).

#### *A Munkahelyi Állatjóléti Bizottság (MÁB)*

A 40/2013. (II. 14.) Korm. rendelet határozza meg a MÁB-ok felállítását és tevékenységének körét: a tenyésztő, a beszállító és a felhasználó köteles MÁB-ot felállítani és működési feltételeit biztosítani. A MÁB tagjait az intézmény vezetője bízza meg. A MÁB ügyrendjét maga állapítja meg. A MÁB tagjai közül elnököt kell kijelölni.

A MÁB feladatai a rendeletben kerülnek meghatározásra (39. § (1)): így az intézmény állatkísérleti szabályzatának elkészítése és végrehajtásának ellenőrzése; az intézmény kísérleteinek állatjóléti felügyelete, beleértve azon elemek meghatározását, amelyek révén tovább fokozható a helyettesítés, csökkentés és tökéletesítés követelményének való megfelelés.

A MÁB feladata az intézményben a kísérlet vezetésére és végzésére, az állatok gondozására jogosult személyek oktatásának, képzésének szervezése; az ÁTET által akkreditált tanfolyamok és vizsgák lebonyolítása. Tanácsadás állatjóléti kérdésekben a személyzet számára a következő témákban: az állatok beszerzését, elhelyezését, gondozását és felhasználását érintő állatjóléti kérdések; a helyettesítés, csökkentés és tökéletesítés követelményének alkalmazására vonatkozó technikai és tudományos fejlemények; az állatok újbóli kihelyezését elősegítő rendszerekkel kapcsolatban, beleértve a kihelyezendő állatnak a közösségbe való megfelelő visszailleszkedését is. A Munkahelyi Állatjóléti Bizottság végzi a projektengedély iránti kérelmek előzetes jóváhagyását is.

A Debreceni Egyetemen már 1999-től működik a Munkahelyi Állatjóléti Bizottság (DE MÁB), 2013-ig Munkahelyi Állatkísérleti Bizottság néven. Az elnöki tisztséget a DE MÁB megalapítása óta Prof. dr. Furka István tölti be.

A DE MÁB a Kormányrendeletben előírt feladatokon túl jelentős adminisztratív tevékenységet is folytat: regisztrálja (regisztrációs számmal látja el) a beérkezett kérelmeket, majd a támogató elbírálás után továbbítja a Megyei Kormányhivatal felé. A Megyei Kormányhivatal határozatát a DE MÁB fogadja, iktatja, archiválja és továbbítja a kérelmező felé. A Bizottság tartja nyilván a felhasználó és tenyésztő létesítményeket, valamint évente fogadja és összegzi a kísérleti célból felhasznált állatok számát tartalmazó statisztikai jelentéseket, majd továbbítja a területi illetékes hatóság felé.

#### *A Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal (NÉBIH)*

A Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal 2012. március 15-én alakult meg. A hivatal az Agrárminisztérium háttérintézményeként végzi tevékenységét. A NÉBIH Állategészségügyi és Állatvédelmi Ellenőrzési Osztálya felügyeli az állatvédelmi jogszabályok betartását. A Megyei Kormányhivatalok fogadják a MÁB által támogatott projekt engedélyezése iránti kérelmet és a hiánytalan és formailag megfelelő kérelmet projektértékelés céljából továbbítják az ÁTET-nek. Projektértékelés után a Megyei Kormányhivatal az ÁTET szakértők véleményezése alapján hozza meg döntését, és azt határozatban tudatja a kérelmezővel, valamint az eljárásban közreműködő MÁB elnökével.

Az élelmiszerlánc-biztonsági és állategészségügyi hatóság a tenyésztőket, beszállítókat, felhasználókat és ezek létesítményeit rendszeresen ellenőrzi.

#### *Az Állatkísérleti Tudományos Etikai Tanács (ÁTET)*

Az ÁTET az Átv. 32. § (4) bekezdése szerinti szakértői testület. Az ÁTET-et a NÉBIH működteti. Az ÁTET feladata a Kormányrendelet szerinti projektértékelés végrehajtása, továbbá tanácsot ad a miniszternek az állatkísérletekre vonatkozó jogi szabályozás tekintetében, valamint tanácsot ad a NÉBIH-nek, az élelmiszerlánc-biztonsági és állategészségügyi hatóságnak és a MÁB-oknak a kísérleti állatok beszerzésével, tenyésztésével, elhelyezésével, gondozásával és felhasználásával kapcsolatos kérdésekben. Ajánlásokat, irányelveket dolgoz ki és elősegíti a legjobb gyakorlatok megosztását; továbbá nemzetközi kapcsolatokat épít, tapasztalatot cserél az Európai Unió országainak hasonló testületeivel.

Az ÁTET feladata vizsgálni és értékelni a 35. § szerinti tanfolyamok képzési programjainak az oktatási és képzési minimumkövetelményeknek történő megfelelését. A NÉBIH az ÁTET működéséről évente összefoglalót tesz közzé a honlapján (50. § (1)).

## 4. Az állatkísérletek tervezésének fő szempontjai

Állatkísérletet csak alapos indokkal és megfelelő tervezés után lehet végezni, amelyek jogi és etikai vonatkozásait a korábbi fejezetek részletezik. Jelen fejezetben szakaszokra bontva kerülnek összefoglalásra a legfontosabb tudnivalók, amelyek az alapos kísérlettervezés és kivitelezés részét kell, hogy képezzék.

### 4.1. Előkészületek, szakirodalom tanulmányozása

A hipotézis megfogalmazását ideális esetben megelőzi a vonatkozó, meglévő információ tanulmányozása, ennek az információnak elemzése és osztályozása. Ezen az információn alapszik az általános hipotézisek kifejtése. A kísérleteket arra használják, hogy a kiválasztott hipotézis érvényességét (mellette vagy ellene) teszteljék.

Ha a kérdésselvetés jó, a hipotézis megfogalmazása helytálló, a kísérleti tervezés és kivitelezés adekvát és korrekt, úgy a helyesen, kellő kritikával értelmezett eredmények választ adhatnak a kérdésre.

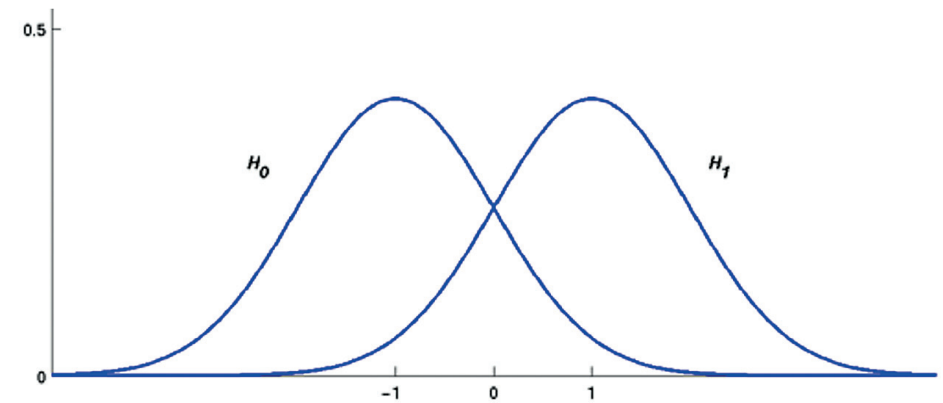
„A tudományos módszer lényege, hogy a problémákat mint problémákat kezeli, így keresi a legjobb megoldást, előítéletek és sovinizmus nélkül. Nem azt kérdezzük, hogy kinek van igaza, hanem azt, hogy mi az igazság.” – Szent-Györgyi Albert (1893–1986)

### 4.2. Hipotézisvizsgálat

A hipotézisvizsgálat egy statisztikai következtetési eljárás annak eldöntésére, hogy egy feltételezés (hipotézis) az adatok alapján elfogadandó vagy elvetendő-e. Azaz egy, a sokaságra/sokaságokra vonatkozó feltételezés vizsgálata minta/minták alapján. Ezért rendszerint két, egymással szembenálló feltételezést kell megfogalmazni: nullhipotézist és alternatív hipotézist. Ezt követi a próbastatisztika definiálása, amely eldönti, hogy a nullhipotézis elvetendő vagy elfogadandó-e.

Egyszerűen megfogalmazva, a hipotézis egy elképzelés a valóságról, amiben azt várjuk, hogy a minta (adatok) is ezt mutatja. Ehhez össze kell hasonlítani a minta és az elképzelés eltérését.

Lássunk egy példát! A 4.1. ábra két adathalmaz eloszlását mutatja (az eloszlásfüggvények csúcspontjai:  $\mu_A$  és  $\mu_B$ ). Feltételezzük azt, hogy ezek egymással azonosak, hasonlóak. Ez a nullhipotézis, azaz  $H_0 : \mu_A = \mu_B$ . Az alternatív hipotézis ennek ellenkezője, azaz  $H_a : \mu_A \neq \mu_B$ .



4.1. ábra: Egymástól különböző két adathalmaz eloszlásfüggvénye

A statisztikai elemzéssel kerül összehasonlításra a két adathalmaz eloszlása az elfogadási és kritikus tartomány értelmében. A nullhipotézis elfogadása egyúttal az alternatív hipotézis elvetését jelenti. A fenti példa esetében  $H_0$  a valóságban nem igaz.

A döntés során elkövethető hibák formái az elsőfajú és a másodfajú hiba. Elsőfajú hiba esete azt jelenti, hogy a nullhipotézis a valóságban bár helyes, a próba-függvény mintán felvett értéke mégis a kritikus tartományba esik, azaz az elfogadási tartományon kívülre, ezért elvetésre kerül. Az elsőfajú hiba elkövetésének valószínűségét  $\alpha$ -val jelölik.

Ha a nullhipotézis nem felel meg a valóságnak, de a próbafüggvényben felvett értéke mégis az elfogadási tartományba esik, azért mégis elvetésre kerül. Ez a másodfajú hiba, elkövetésének valószínűségét  $\beta$ -val jelölik.

Értelemszerűen a valóságban helyes nullhipotézis elfogadásának valószínűsége  $1-\alpha$ , a valóságban helytelen nullhipotézis elvetésének valószínűsége  $1-\beta$ .

4.1. táblázat. A döntés során elkövethető hibák

Valóság		döntés	
		H <sub>0</sub> elvetése	H <sub>0</sub> elfogadása
	H <sub>0</sub> igaz	elsőfajú hiba (α)	korrekt döntés (1-α)
H <sub>0</sub> hamis	korrekt döntés (1-β)	másodfajú hiba (β)	

Az elsőfajú hiba valószínűsége összefügg a döntés megbízhatóságának (hiba) rögzítésével, rendszerint 5%-nál vagy 1%-nál (szignifikanciaszint  $p < 0,05$  vagy  $p < 0,01$ ).

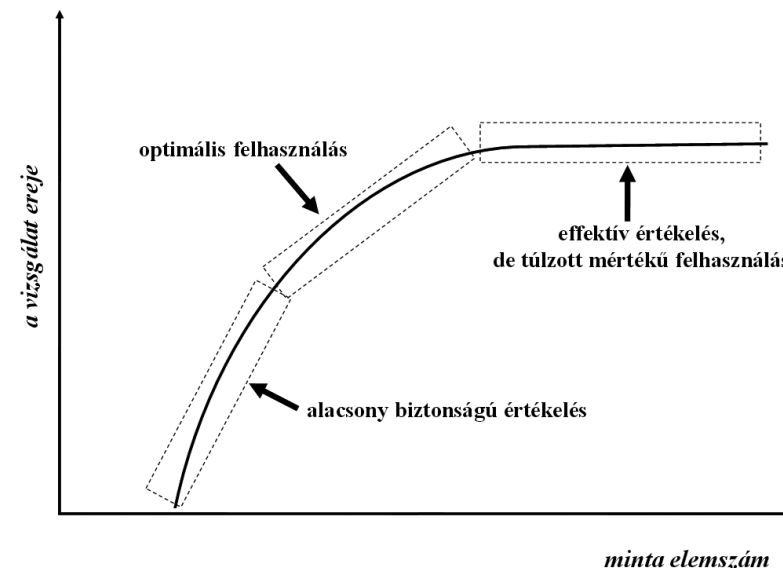
Az  $1-\beta$  jelenti a próba erejét (power). A próba ereje annak valószínűsége, hogy egy különbséget adott mintanagyság és szignifikanciaszint mellett egy statisztikai próba kimutat. Legalább 80% az elvart.

#### 4.3. A szükséges esetszám becslése

Az állatkísérletek tervezésének fontos szempontja a szükséges elemszám, esetszám becslése. Ez a csökkentés (reduction) elve szerint értelmezhető. Fontos azt mérlegelni, hogy mennyi az a minimálisan szükséges esetszám, ami megfelelő statisztikai erejű eredményt tud adni a kérdés eldöntéséhez. Ha túl sok állat kerül felhasználásra, akkor az a hiba követhető el, hogy feleslegesen használunk fel a kellenél több állatot, mert egy adott esetszám felett már nem lesz statisztikailag erősebb az eredmény. Azaz a statisztikai próba ereje az esetszám növelésével nem lineárisan nő (4.2. ábra). Ez azt is jelenti, hogy ha túl kevés az esetszám, akkor nem kaphatunk tudományosan megbízható eredményt, így szintén feleslegesen használtuk az állatokat. Mindezek igen súlyos etikai szempontok is.

Az elemszám becslésére több módszer ismert (pl. Cohen, Piantadosi, Mead), attól függően, hogy milyen előzetes adatokkal rendelkezünk az adott paraméterekről.

Ha korábbi kísérletekből, adatbázisokból ismertek lehetnek adott paraméter (pl. testtömeg, vérnyomás stb.) átlagos értékei és standard deviációja, akkor két csoport várt különbségének feltételezett mértékével kiszámolható a szükséges elemszám.



4.2. ábra: A statisztikai próba ereje és az esetszám (minta elemszám) összefüggése

$$n = \frac{2\sigma^2(Z_\beta + Z_{\alpha/2})^2}{d^2}$$

$n$  = esetszám csoportonként (egyenlő elosztásban)

$\sigma$  = standard deviáció (korábbi adatokból vagy előkísérletből)

$Z_\beta$  = a vizsgálat elvart ereje (tipikusan 0,84 a 80%-os erőhöz;  $1-\beta = 0,8$ )

$Z_{\alpha/2}$  = a statisztikai szignifikanciaszintje szerint (tipikus érték 1,96 az 5%-os szintnél;  $p = 0,05$ )

$d$  = a várt különbség (a két csoport várt átlaga közti különbség, *effect size*)

#### Egyszerűbb módszerek

Esetszám becslése egyszerű, kétcsoportos összehasonlításhoz:

Ha a cél annak megbecslése, hogy egy változás vagy egy betegség bekövetkezik a kolóniában, a szükséges vizsgálatok számát az alábbi esetszámbeccsléssel lehet elvégezni:

$$n = \frac{\log \beta}{\log p}$$

ahol az  $1-\beta$  a vizsgálat ereje (általában 0,1 vagy 0,05),  $p$  a kolóniában a nem fertőzött állatok aránya.

Ha például a fertőzés prevalenciája 30%, és 95%-os valószínűséggel szeretnénk detektálni a fertőzés tényét, az állatok 30%-a fertőzött, a random tesztvizsgálatra kijelölt állatok száma:  $n = \log_{0,05}/\log_{0,7} = 8,4$ , azaz 9 állat vizsgálata elegendő lehet. Ha a betegség prevalenciája 10%, több állat vizsgálatára lesz szükség:  $n = \log_{0,05}/\log_{0,9} = 28,4$ , azaz 29-30 állatot kell tesztelni.

#### *Esetszám becslése folyamatos változók összehasonlításához:*

Ha folyamatos változót (pl. koncentráció, vérnyomás stb.) szeretnénk mérni, sokszor az eltérések nem mindig látványosak, nehéz a csoportok között statisztikai különbséget kimutatni. Az esetszámbecléshez ilyenkor az alábbi formula javasolt:

$$n = 1 + 2C \left(\frac{s}{d}\right)^2$$

ahol a C konstans függ a kiválasztott szignifikanciaszinttől ( $\alpha$ ) és a vizsgálat erejétől ( $1-\beta$ ) (4.2. táblázat), az  $s$  jelöli a szórás (pl. adatbázisok, korábbi mérések alapján), a  $d$  a várható különbséget (pl. hipotézis szerint).

4.2. táblázat. A C konstans értékei különböző szignifikanciaszint ( $\alpha$ ) és erő ( $1-\beta$ ) esetén

		$\alpha$	
		0,05	0,01
1- $\beta$	0,8	C = 7,85	C = 11,68
	0,9	C = 10,51	C = 14,88

Ha például testsúlyban bekövetkező változást kívánunk vizsgálni, és tudjuk adatbázisokból vagy korábbi mérési eredményekből, hogy az adott törzs testsúlyadatainak szórása 35 g, és feltételezzük, hogy valamilyen kezelés hatására 30 g különbség lehet kimutatható a kezelt és a kontrollcsoport között 5% szignifikanciaszint és 80% vizsgálati erő mellett, akkor a képletbe behelyettesítve az értékeket, az alábbiakat kapjuk:  $n = 1 + 15,7 (35/30)^2 = 22,37$ , azaz a vizsgálatához csoportonként 23 állat, összesen tehát 46 állat szükséges.

Az interneten több, esetszámbeclésre alkalmazható kalkulátor érhető el, például:

<https://www.calculator.net/sample-size-calculator.html>

<http://www.raosoft.com/samplesize.html>

#### *Mead egyenlete*

A Mead-féle „kisegítő egyenlet” akkor hasznos, amikor nincs elképzelés a várható különbségekről, sem az S.D.-ről, nincs korábbi adat a becléshez. Állatkísérleteknél ez leggyakrabban így van.

$$E = N - B - T$$

E: a hiba komponens szabadságfoka, a varianciaanalízis (ANOVA) szabadságfoka. Értéke 10 és 20 között elfogadható

N: a teljes (tervezett) esetszám mínusz 1

B: befolyásoló tényezők, hatások (blocking component)

T: csoportok száma, beleértve a kontrollt is (treatment component)

Ha egy kísérletben például 4 csoportot terveznek ( $T = 3$ ), 8 állat/csoport elosztásban ( $N = 31$ ), jelentősebb befolyásoló hatás nélkül ( $B = 0$ ), akkor  $E = 28$ . Az állatszám csoportonként tehát csökkenthető 5-re ( $E = 16$ ) vagy 6-ra ( $E = 20$ ).

#### *Még egyszerűbben („resource equation”):*

$$E = \text{tervezett teljes állatszám} - \text{tervezett csoportok száma}$$

Ha az E értéke kevesebb mint 10, több állatra van szükség csoportonként. Ha E értéke 20 fölött van, az esetszám már nem fogja növelni a szignifikáns különbséget adó eredmények esélyét.

#### 4.4. A modellválasztás és az állatfaj-megválasztás jelentősége

##### *A kísérlet fő elemei*

- a kísérleti modell
- a kísérlet alanya
- módszerek
- a kísérleti elrendezés
- kísérleti csoportok
- a kísérleti protokoll és kivitelezés

#### 4.4.1. A kísérleti modell

A kísérletes modellek fajtái

- *In vitro* modellek
  - Egy részük: *ex vivo*
    - egész szerv perfúziója
    - szövet szuperfúzió
    - primer sejttenyészetek
    - immortalizált sejtvonalak vizsgálata
    - szubcelluláris vizsgálatok
    - molekuláris vizsgálatok
  - „*In silico*” modellek (adatbázisok, szimulációk, molekulatervezés, big data analízis)
- *In vivo* modellek
  - akut modellek
  - krónikus modellek

Állatmodellek fajtái

- spontán modellek: hasonló vagy teljesen azonos mechanizmusok emberben és állatban
- indukált modellek: valamilyen beavatkozásra van szükség
- negatív modellek: valamilyen tulajdonság adott fajban hiányzik
- „árva” modellek: olyan jellegzetesség, amely fontos biológiai jelentőséggel bírhat – mutáció indukció

#### 4.4.2. A kísérlet alanya

*Kísérleti állat:* bármely gerinces állatfaj egyede, amelyet állatkísérletre felhasználnak, vagy felhasználni szándékoznak.

*Laboratóriumi állat:* valamely állatfajnak az egyede, amelyet engedélyezett és nyilvántartott helyen, kísérlet céljára tenyésztnek.

A leggyakrabban használt laboratóriumi állatfajok

- Egér (*Mus musculus*)
- Patkány (*Rattus norvegicus*)
- Tengerimalac (*Cavia porcellus*)
- Aranyhórcsög (*Mesocricetus auratus*)
- Házinyúl (*Oryctolagus cuniculus*)
- Kutya (*Canis familiaris*)

- Macska (*Felis catus*)
- Nem emberszabású főemlősök
- Madarak
- Halak

A laboratóriumi állatok közül a rágcsálókat használják a leggyakrabban: a laboratóriumi gerinces állatok 80%-a rágcsáló. Anatómiai, élettani jellegzetességeiket a 7. fejezetben tárgyaljuk.

#### 4.3. táblázat. Kis és nagy laboratóriumi állatmodellek általános jellegzetességei

Kis laboratóriumi állatmodell	Nagy laboratóriumi állatmodell
– Nagyobb esetszámú kísérlet	– Kisebb esetszámú kísérlet
– Genetikai specialitások: genetikai szabványosítás	– Jellemzően kitenyésztett (outbred) állományok
– Mikrobiológiai szabványosítás jól alkalmazható	– Leginkább konvencionális mikrobiológiai státusz biztosítható
– Rövid tenyészidő	– Hosszú tenyészidő
– Ha operatív beavatkozás szükséges, speciális technikák, mikrosebészeti eljárások szükségesek	– Ha operatív beavatkozás szükséges, a hagyományos műtéti technikák adaptálhatóak
– Korlátozott monitorozási lehetőség, szűkebb körű instrumentáció	– Széles körű instrumentáció (pl. haemodinamikai vizsgálatok)
– Specifikus mintavételi szempontok	– Szélesebb körű mintavételi lehetőség
– Specifikus reagensek széles köre	– Specifikus reagensek szűkebb köre
– Humán kompatibilitás kétséges lehet	– Humán kompatibilitás nagyobb
– Fajlagos költségek kisebbek (általában)	– Fajlagos költségek magasabbak (általában)

#### 4.4.3. Módszerek

A vizsgáló- és laboratóriumi módszerek megválasztása, függően a kísérlet céljától, a szükséges paraméterektől és a mérési, mintavételi lehetőségektől.

#### 4.4.4. A kísérleti elrendezés

A méréseket végző műszerek és alkalmazott módszerek összehangolt gyűjteménye:

- a beavatkozás instrumentációja
- a kísérleti állapot fenntartásához és monitorozásához szükséges eszközök (altatógép, respirátor, infúziós pumpa, pulzoximéter stb.)
- az alkalmazott műszerek, mérőeszközök összessége és elrendezése
- az alkalmazott fiziológiai, biokémiai, szövettani stb. módszerek összessége

#### 4.4.5. Kísérleti csoportok

A kontroll (értékek és csoport) jelentősége:

- önkontroll (alapértékekhez való viszonyítás)
- kontrollcsoport (negatív kontroll, pozitív kontroll)

Példák kísérleti protokollokra:

- két mérés összehasonlítása (előtte-utána)
- két csoport összehasonlítása egy mintavétel alapján
- kettőnél több csoport összehasonlítása egy mintavétel alapján
- többször ismételt mérések egy csoporton belül
- többször ismételt mérések kettőnél több csoport esetén

#### 4.4.6. A kísérleti protokoll

A kísérlet szakaszainak egymást szigorú időrendben követő sorozata, amely általában a kontroll, az intervenció és a megfigyelés periódusaiból áll.

## 5. Az állatkísérletek kivitelezésének fő szempontjai

A kísérletek kivitelezésénél kiemelten fontos szempont a standard körülmények biztosítása. Ez nemcsak az állatfaj egyedeinek tulajdonságait (pl. nem, életkor, testtömeg), hanem a tartási körülmények, a módszerek, a kísérleti protokoll, a mintavételek, mérések minden szempontból való standardizálását jelenti. A kísérletek eredményét ugyanis számos tényező befolyásolja (5.1. táblázat).

5.1. táblázat. Az állatkísérletek eredményét befolyásoló tényezők (L.F.M. van Zutphen, V. Baumans, A.C. Beynen (eds) (2001): *Principles of Laboratory Animal Science*. Elsevier, 13. fejezete alapján)

Tényező	Faktor
<b>Biológiai állapot</b>	faj/fajta, tenyésztési rendszer (genetikai szabványosítás), nem, kor, testtömeg, esetleges betegség
<b>Egészségi állapot</b>	minőségi tenyésztő/ellátó, higiéniai korlátok, mikrobiológia
<b>Táplálás</b>	minőségi ellátó, minőségbiztosítás, állandó, kontrollálható összetétel, minőségi ivóvíz
<b>Tartási körülmények</b>	ketrec (típus, méret szabványok), almozás, fajspecifikus tartási normák (állatszám/ketrec, környezetgazdagítás elemei), állatházi tér (szellőzés, zsilipek, hőmérséklet, relatív páratartalom, világítás, zajszint, más állatok)
<b>Szállítás</b>	szállítóeszköz, ketrec, táp és vízellátás, akklimatizációs idő
<b>Gondozás</b>	állatgondozó/állatfelügyelő végzettsége, ismerete, hozzáállása
<b>Kísérleti módszerek</b>	szakemberek végzettsége, módszerek standardizációja, beavatkozások invazivitása, kísérlet ideje és időtartama, mintavételek körülményei, mintamennyiség stb.

Fontos kérdés az élettartam-viszonyítás is. Közismert, hogy a kísérletekben (nem zoológiai vizsgálatok során) felhasznált fajok mindegyikénél az élettartam rövidebb az emberénél. Következésképpen egy-egy utánkövetéses kísérletben az eredmények extrapolációjánál ezeket figyelembe kell venni. Ez nem csupán az adott faj és az ember közötti várható élettartamadatok arányosított összevetését jelenti, hanem számolni kell az életkorfüggő anyagcsere-sajátosságokkal is, nem is beszélve a különböző adaptációs mechanizmusokról és körülményekről.

Az 5.2. táblázat néhány, kísérletekbe vont állatfaj élettartamát és viszonyítását mutatja be.

5.2. táblázat. Élettartam viszonyítási adatok az egyes fajoknál

Faj	Átlagos várható élettartam (év)	Az ember várható élettartamához (~80–90 év) viszonyított arány
Egér	1,5–3	~26
Patkány	2,5–3,5	~23
Nyúl	5–6	~13
Tengerimalac	4–5	~16
Macska	16	~5
Kutya	12	~7

5.3. táblázat. Patkányok életkor szerinti viszonyítási adatai az emberhez való összehasonlításban (Sengupta P., Int. J. Prev. Med. 2013/4: 624–630. alapján)

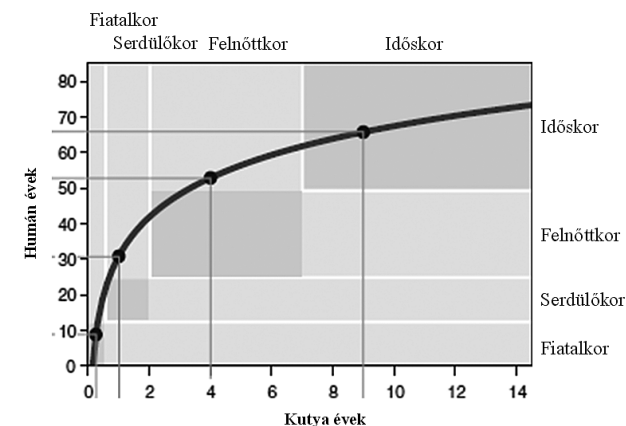
Patkányok különböző életkori adatai humán élettartamban való összehasonlításban	
Teljes élettartam	13,2 nap = 1 emberi év
Elválasztási periódus	42,4 nap
Pre-pubertás periódus	3,3 nap
Serdülő periódus	10,5 nap
Felnőttkor	11,8 nap
Időskor	17,1 nap
Átlag	16,4 nap

Patkány életkor versus humán életkor	
Patkány életkor	Humán életkor (év)
6 hónapos (0,5 éves)	18
12 hónapos (1 éves)	30
18 hónapos (1,5 éves)	45
24 hónapos (2 éves)	60
30 hónapos (2,5 éves)	75
36 hónapos (3 éves)	90
42 hónapos (3,5 éves)	105
45 hónapos (3,75 éves)	113
48 hónapos (4 éves)	120

Életkor szerinti összehasonlításban is érdemes foglalkozni ezzel a kérdéssel, hiszen nem mindegy, hogy egy fiatal vagy egy idősebb állaton vizsgálunk egy kérdést. Az 5.3. táblázat patkányok esetében mutatja be a viszonyítási alapokat.

Az adott állatfaj életkorának összefüggése a humán életkorral azonban nem minden esetben tekinthető lineárisnak. Sokáig élt az a nézet, hogy például kutyák életkorát ha héttel megszorozzuk, megkapjuk a viszonyított humán életkort. Az anyagcsereindex, az öregedés folyamatának s legújabbban DNS metylomok arányának összehasonlítása pontosabb képet adhat (5.1. ábra): humán életkor =  $16 \times \ln(\text{kutya életkor}) + 31$ .



5.1. ábra: A kutya és az ember életkorának viszonyítása (Wang T. és mtsai, Cell Syst. 2020;S2405-4712(20):30203–30209.)

Az egyes állatfajoknál különbözik a nemi érettség ideje, valamint nőstényeknél az ivarzási (oestrus) ciklus. Nemcsak a ciklus ideje, sűrűsége, hanem annak szakaszai is különbözőek. Néhány kísérleti/laboratóriumi állatfajra vonatkozóan az 5.4. táblázat mutat be összehasonlító adatokat.

### Jegyzőkönyvvezetés, dokumentáció

Minden eseményt, körülményt röviden, érthetően, de hitelesen fel kell jegyezni az adott kísérlettel, adott kísérleti állattal kapcsolatban, hiába van pl. előre elkészített protokoll. Az altatási lap, műtéti jegyzőkönyv, kezelési lap, mintavételi feljegyzések, boncolási jegyzőkönyv, laboratóriumi mintajegyzék, készített anyagok, mérési jegyzőkönyvek kötelező és döntő jelentőségű dokumentumok. Évtizedek múlva is értelmezhetőek kell, hogy legyenek a kísérletvezetőnek és mások számára is.

5.4. táblázat. Az oestrus ciklus jellegzetességei az egyes fajoknál  
(Souba W.W., Wilmore D.W.: Surgical Research. Academic Press 2001, 358.)

Faj	Ivarérettség	Ciklus típusa	Ciklus hossza
Egér	28–49 nap	ivarzás egész évben, polyoestrus (metoestrus, dioestrus, proestrus, oestrus)	4–5 nap
Patkány	37–67 nap	polyoestrus, egész évben	4–5 nap
Nyúl	5–9 hónap	indukált ovuláció, nem szezonális	nem szabályos
Tengerimalac	55–70 nap	polyoestrus, egész évben	16,5 nap
Macska	4–12 hónap	indukált ovuláció, szezonális polyoestrus	14–21 nap
Kutya	5–24 hónap	mono-oestrus, nem szezonális	3,5–13 hónap

### Kísérlet közbeni teendők

*Általános érzéstelenítés:* fenntartó dózisú anesztetikum adása, meghatározott időközönként, vagy szükség szerint (ébredés jelei: pislogás, izomfeszítés, szívfrekvencia emelkedése).

*Monitorozás:* minimálisan a testhőmérséklet, a légzés, a keringés fő paraméterei.

*Folyadékháztartás* fenntartása, infúzió vagy más eljárás révén.

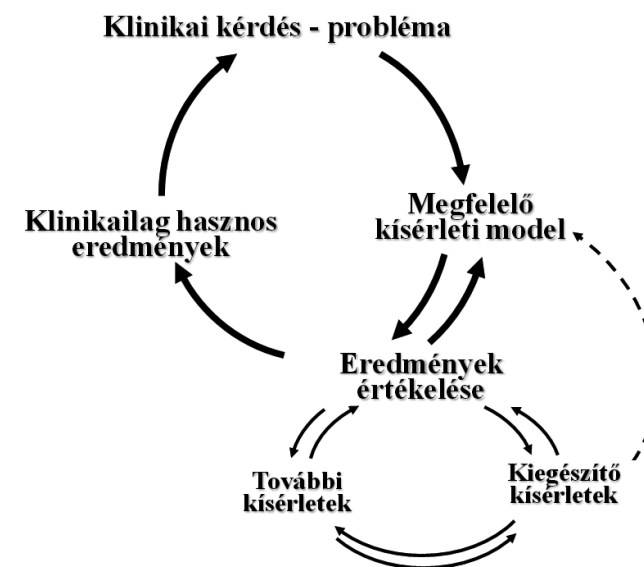
*Folyamatos felügyelet!* Elfogadhatatlan, ha a kísérleti állat magára marad a kísérlet közben. Mivel mindig csapatmunkáról van szó (egy példa az 5.2. ábrán), nem lehet rá indok!



5.2. ábra: Az állatkísérlet kivitelezése mindig összehangolt csapatmunkát igényel  
(a Sebészeti Műtéttani Tanszék fotóanyaga)

### Az extrapoláció lényegi kérdései

A klinikai problémára, adott kérdés(ek)re választ adó kísérlet megtervezése mindig összetett folyamat (5.3. ábra). Sokszor szükséges a modell további finomítása, s jellemző a menet közben felmerülő újabb kérdések megválaszolására irányuló további vizsgálatok megtervezése és kivitelezése.



5.3. ábra: Az extrapoláció kérdései és a kísérleti eredmények értékelése

Az állatkísérletek során nyert eredmények humán viszonylattal való teljes mértékű összehasonlíthatóságának (extrapolációjának) feltétele ideális esetben a teljes egybeesés a kérdéses tulajdonság szempontjából. Ez, mint látni fogjuk a következő fejezetekben, nem minden vonatkozásban lehet teljes mértékű. Figyelembe kell venni az adott faj anatómiai, élettani, biokémiai, genetikai jellegzetességeit a hamis extrapoláció veszélyének elkerülése érdekében! Mennyiségi extrapolációnál az anyagcsere-testtömeg átszámítás ajánlott.

### Az eredményekből készülő tudományos közlés fő elemei:

1. A kérdéskör definiálása, háttér
2. Megválaszolendő kérdések, a hipotézis
3. Anyag és módszer részletes leírása

4. Adatok feldolgozása, statisztikai elemzése
5. Eredmények értelmezése, megjelenítése
6. Eredmények kritikus értékelése, irodalmi adatokkal való összevetése
7. Felmerült kérdések diszkussziója

„A helyesen értelmezett tudomány kigyógyítja az embert a büszkeségéből, mert megmutatja határait.” – Albert Schweitzer (1875–1965)

## 6. A genetikai szabványosítás alapfogalmai

Az élőlények külső megjelenése, azaz fenotípusa az öröklött tulajdonságok (genotípus) és a környezeti hatások eredőjeként jön létre. A külső tényezők modifikáló hatása lehet rendszertelenül ismétlődő (pl. élőhely hőmérséklete, páratartalom, oxigéntartalom, légnyomás változása, elérhető táplálék mennyisége és minősége, fertőzések), rendszeresen ismétlődő (pl. évszaki hatások) vagy maradandó (pl. fiatalkori alultápláltság miatti sorvadás, vagy az öregedés).

Az állatkísérletek eredményei szóródásának egyik fő oka az állatok genetikai eltérése. Ezért vált szükségessé a genetikai háttér szabványosítása speciális tenyésztési programok, biotechnológiai beavatkozások alkalmazásával. Ezek eredményeként szabványosított genetikai változékonyságú állatpopulációk váltak elérhetővé:

*Egyöntetű (izogén) genotípusú tenyészetek*

Monozigóta állatok

Beltenyésztett (inbred) törzsek

F1-hibrid

Koizogén és kongén törzsek

Rekombináns beltenyésztett és rekombináns kongén törzsek

Transzgenikus állatok

*Változatos (anizogén) genotípusú tenyészetek*

Kültenyésztett (outbred) állományok

A fejezet adta keretek miatt a genetikai alapfogalmak tekintetében utalunk a biológiai, genetikai tanulmányokra.

### I. Egyöntetű (izogén) genotípusú tenyészetek

#### 1. Monozigóta állatok

*Természetes*

Kilencöves tatu (*Dasyus novemcinctus*): alomtestvérei genetikailag identikusak

Mesterséges  
Állati klónok  
„Embrió darabolás”

A genetikai egyöntetűség (uniformitás) nem azt jelenti, hogy az állatok fenotípusa egyforma, és hogy ugyanarra a beavatkozásra azonosan reagálnak.

## 2. Beltenyésztett (inbred) törzsek

A tenyésztési programok során elérhető genetikai egyöntetűség megértéséhez ismerni kell a *beltenyésztési vagy beltenyésztettségi koefficiens* (inbreeding coefficient – Sewell Wright, 1922) fogalmát. A beltenyésztettségi együttható (F [%]) azt fejezi ki, hogy az eredetileg heterozigóta állapotban lévő allélok hány százaléka rögzül homozigóta állapotban populációs szinten. Egyed szintjén annak valószínűsége, hogy egy adott gén lokusz két allélja származásilag azonos:

$$F = \Sigma[(0,5^{n+n'+1}) \times (1 + F_A)]$$

$F$ : az adott állat beltenyésztettségi koefficiense

$n$  és  $n'$ : a beltenyésztett utód és a közös ős közötti nemzedékek száma az apai és az anyai oldalon

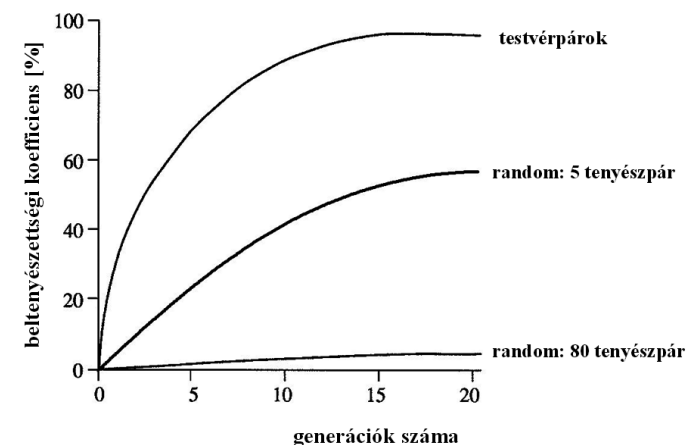
$F_A$ : a közös ős beltenyésztettségi koefficiense.

Minél közelebbi rokonsági fokú tenyészpárok kerülnek szaporításra, a generációk számának növelésével a beltenyésztettségi együttható nő (6.1. ábra).

Mindezek tükrében a *beltenyésztett (inbred) törzsek* definíciója az alábbiakban fogalmazható meg. Önmagában, közeli rokonok (édestestvér, szülő-utód) tervszerű párosításával legalább 20 nemzedéken át kialakított, majd fenntartott olyan kis létszámú tenyészet, amelyben az egyedek genetikailag igen hasonlóak (azonosak). Ezt csak a mutációk föllépte és a genetikai kontamináció torzítja. A génlokuszok legalább 98,4%-án az *allélek homozigóta formában rögzültek* (azaz  $F = 98,4\%$ ).

Több mint 1200 egér és körülbelül 450 patkány inbred törzs ismert. Elnevezésük: 1–4 nagybetű. Példa: A, DBA, WAG, de régi törzsek megtarthatták nevüket: C3H, C57BL, 129 (Committee on Standardised Nomenclature for Inbred Strains of Mice).

A tenyésztési program sikerességének feltétele a szigorú törzskönyvezés és genetikai monitorozás az óhatatlan szelekció és mutáció azonosításával.



6.1. ábra: A beltenyésztettségi koefficiens növekedése a generációk számának függvényében testvérpárok vagy random tenyészpárok szaporítása során (Van Zutphen és mtsai, 2007)

### 2.1. Inbred altörzsek

A beltenyésztett törzsek kettő vagy több altörzsre oszthatóak. Altörzsről beszélünk, ha a beltenyésztett törzsek párhuzamos vonalai között különbséget találunk, vagy ha egy ágat elkülönítenek és másik laboratóriumban tartják fenn. Példa: C57BL/6J, C57BL/10ScSn, BALB/c.

### 2.2. F1-hibrid

Két beltenyésztett törzs keresztezéséből származik. Minden F1-hibrid genetikailag egyöntetű és heterozigóta mindazon génekre nézve, amelyben a két szülői törzs különbözik (6.2. ábra). A kezelésekre az F1-hibridek válasza egyöntetűbb, mint az apai és anyai törzseké, azzal magyarázható, hogy az F1-hibridekben nagyszámú allél van jelen.

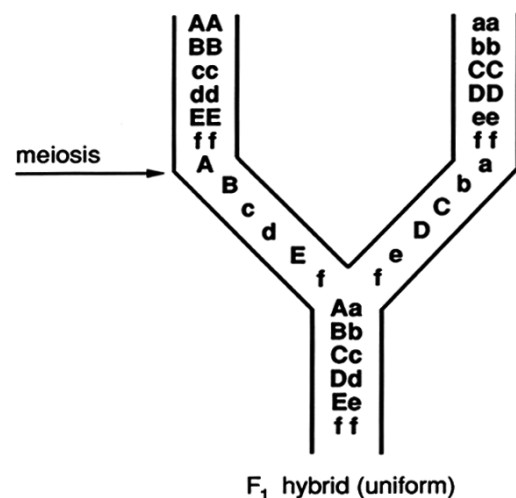
Megfigyelték, hogy az F1-hibridek alkalmazkodóképessége jobb a szülőpárokénál (*Tyron-effektus*; Tyron, 1940).

Csak inbred törzsek egyedei keresztezhetőek egymással. A nevezéktanban előre írják a nőtény, majd a hím törzs jelét. Balb/c (C) nőtény és CBA hím hibrid utód (filius, F) jelölése ilyenkor: CBBA F1.

### 2.3. Koizogén törzsek

Esetenként a genetikailag stabil beltenyésztett törzs egyedei között mutációk lépnek föl. Ha a mutáns egyed(ek) alkalmas(ak) emberi betegség modellezésére, vagy

ha a mutáció általános érdeklődésre számot tartó gént érint, a kérdéses állatokat továbbtenyésztik. Ez az alvonal az izogén inbred törzstől egy allél eltérésben mutat különbséget. Példa: csupaszág allélját tartalmazó BALB/c törzs = BALB/cRij-nu.



6.2. ábra: Az F1-hibrid értelmezése  
(Van Zutphen és mtsai, 2007)

#### 2.4. Kongén törzsek

Egy genetikai tulajdonság ismételt visszakeresztezéssel kerül a beltenyésztett törzsbe. Azaz nem mutáció révén, hanem szisztematikus tenyésztési programmal kerül be egy, a kutatás szempontjából fontos tulajdonságot hordozó gén.

#### 2.5. Rekombináns törzsek

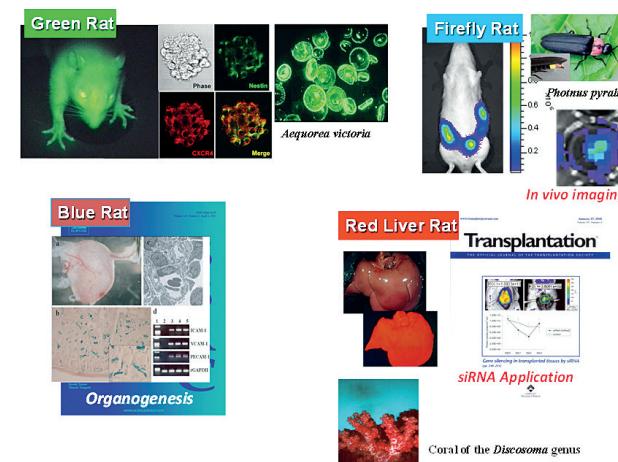
Olyan F2-nemzedékbeli egyedek testvér párosítása (b × s) révén jönnek létre, amelyek két, egymással nem rokon beltenyésztett törzs (progenitor strains) keresztezéséből származnak.

Ezek a törzsek igen értékesek a genetikai kutatásokban, különösen a kapcsolódáselemzés (linkage analysis), valamint a komplex genetikai tulajdonságok azonosítása és genetikai analízise során.

#### 2.6. Transzgen állatok

A transzgenikus törzseket idegen gének (más fajból) egy genetikailag stabil beltenyésztett törzs állatainak csírasedjébe való bevitelével (beillesztés, insert) hozzák létre (6.3. ábra). A klónozott DNS-t vagy a módosított retrovírust biotechnológiai eljárással, mikroinjektálással a zigóta pronucleusába lehet juttatni.

A tenyésztési program ezt követően arra irányul, hogy a módosított gének homozigóta állapotban maradjanak a törzsben.



6.3. ábra: Példák transzgen patkánytörzsekre

(Forrás: Prof. Eiji Kobayashi jóvoltából, Jichi Medical School, Japán)

## II. Változatos (anizogén) genotípusú tenyészetek

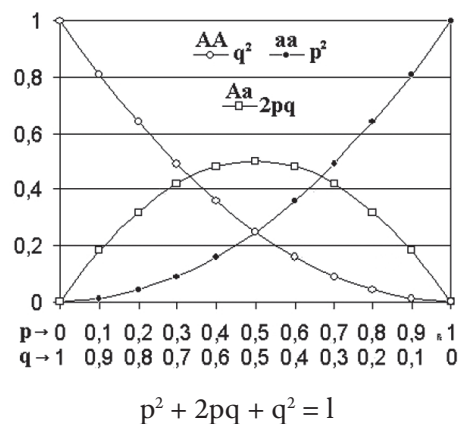
A tenyésztett egyedek több allél tekintetében heterozigóták. Itt érdemes felidézni a Hardy–Weinberg-egyensúly fogalmát, mely szerint egy ideális populáción belül nemzedékről nemzedékre a relatív allélgyakoriság evolúciós hatás híján állandó (6.4. ábra). Az ideális populáció: végtelenül nagy, nincs benne mutáció, nincs benne szelekció, nincs benne migráció, benne a szaporodás véletlenszerű (pánmixis).

### Kültenyésztett (outbred) törzsek

A genetikai változatosság megőrzése érdekében önmagában, egymással nem rokon állatok tervszerű párosításával fenntartott, véges létszámú természetes állomány, amelybe nincs bevándorlás (immigráció), de előfordul mutáció, szelekció, genetikai sodródás, emigráció.

A kültenyésztett törzsek fenntartása irányított szaporítással történik (párosítási terv, távoli rokonok párosítása), legalább 4 nemzedéken keresztül, *legfeljebb 15%-os beltenyésztési együttható* engedhető meg.

A beltenyésztettség fokozódása ~1%-os lehet nemzedékenként. Példa: Charles Rivers Laboratories Gold Standard Programja, Robertson Maximum Avoidance of Inbreeding rendszere.



6.4. ábra: A Hardy–Weinberg-egyensúly értelmezése ideális populációban

A leggyakoribb tenyésztési módszerek:

- *random tenyésztés*: a párosodó egyedek szabad párválasztása. A tenyésztési program tekintetében nagy a bizonytalansági tényező;
- *rotációs tenyésztési módszer*: egyedi jelölés, szigorú folytonossággal történik (mindig a következő nőstényhez helyezik a hímet). A tenyészállat elpusztulása vagy a fertilitás hiánya a rendszer felborulását eredményezheti;
- *csoportos rotációs módszer*: nem egy-egy tenyészállat, hanem csoportok alkotják a rotációs tenyésztési program alapját. Az egyszerű rotációs módszer fentebb jelzett gondjai jobban elkerülhetőek;
- *Falconer–Robertson-féle Maximum Avoidance of Inbreeding (MAI)*: a beltenyésztés maximális elkerülésére irányul. A tenyészcsoportok száma mindig 2 vagy annak páros kitevőjű hatványa;
- *zárt tenyészet*: csak 4 generációig tartható, utána a beltenyésztettségi együtt-ható jelentősen emelkedik.
- *nyílt tenyésztés*: új tenyészállatok rendszeres bevitele a tenyészetbe.

Az outbred törzsek elnevezésének formája a tenyésztő vagy tartó rövidítése és az állomány neve kettősponttal elválasztva. Példa: Crl:CD<sup>R</sup>BR (Sprague-Dawley patkány), Crl:NMRI BR egér.

## 7. A mikrobiológiai szabványosítás alapfogalmai (higiéniai szintek és kategóriák)

A témában Magyarországon meghatározó jelentőségű volt Prof. dr. Kállai László (1927–2007) munkássága, akinek nagyon sokat köszönhet a magyar laborállattudomány. Az általa jegyzett „*Laborállat könyv*” (Kallé-K Kft., Budapest, 2003) a mai napig ez egyik legfontosabb tankönyv a laboratóriumi állatok tartása, tenyésztése és az alapvető kísérleti technikák vonatkozásában.

A mikrobiológiai szabványosítás különböző higiéniai szinteket és kategóriákat foglal magában.

*Higiéniai szintek (tartási rendszerek)*

- Izolátorban tartott
- Barrier (zsilip) mögött tartott
- Konvencionálisan tartott (konvencionális termekben, de mikroizolációs ketrecekben tartott)

*Higiéniai kategóriák*

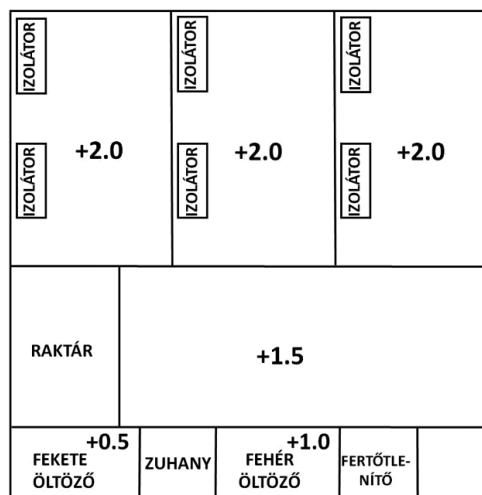
- GF (*germ free*, mikrobamentes, csíramentes)
- SPF (*specific pathogen free*, meghatározott kórokozótól mentes)
- VAf (*virus antibody free*, vírus ellenanyagtól mentes)
- MD (*minimal disease*, kevés betegséggel terhelt)
- CV (*conventional*, hagyományos)

Anatómiai és élettani különbségek azonban mutatkozhatnak ugyanazon törzs eltérő mikrobiológiai/higiéniai szinten tartott egyedei között. A GF és CV állatok összehasonlításában ez az emésztőrendszerben a leginkább szembetűnő. GF állatokban a normál bélflóra nem alakul ki, ezért a vakbelük jelentősen megnagyobbodott, a tartalma híg, a bélfal vékonyabb. A bélflóra pótlására ismert, különböző hatékonyságú módszerek: *E. coli*, *S. faecalis*, *Lactobacillus*ok adása, Schaedler flóra (főleg anaerob bélbaktériumok), mCRF bélflóra (egér eredetű).

### Csíramentes (GF-„germ free”, higiéniai szint „A”)

A csíramentes laboratóriumi állatok mikroba- és parazitamentesek, és egy erre a célra kialakított izolátorban tartják őket. Az izolátorok lehetnek: szilárd (műanyag vagy fém), lágy vagy kombinált falúak. Az izolátor lehet túlnyomásos (pozitív) (7.1. ábra) vagy depressziós (negatív) szellőztetésű. Az állatok megfelelő mikrobiológiai tanúsítvánnyal kell hogy rendelkezzenek, vagy hiszterekatómia/hiszterotómia (rederiválás) útján kerülnek a rendszerbe. A zárt, steril térbe csak steril anyag, eszköz kerülhet be. Az állatházi személyzet: dolgozók, kutatók, állatorvosok csak a steril téren kívül tartózkodhatnak.

A csíramentes állatok egy alcsoportja a gnotobiota állatok. Ezek olyan csíramentes állatok, amelyeket egy vagy több ismert baktériumtörzssel fertőztek meg. A gnotobiota állatok lehetnek monoasszociált egyféle törzssel fertőzött, diasszociált két törzssel fertőzött, oligoasszociált három vagy kevés törzs esetén, valamint lehetnek poliasszociáltak, amennyiben több ismert baktériummal fertőzöttek.



7.1. ábra: A csíramentes állatházakban alkalmazott lépcsőzetes túlnyomásos szellőztetés

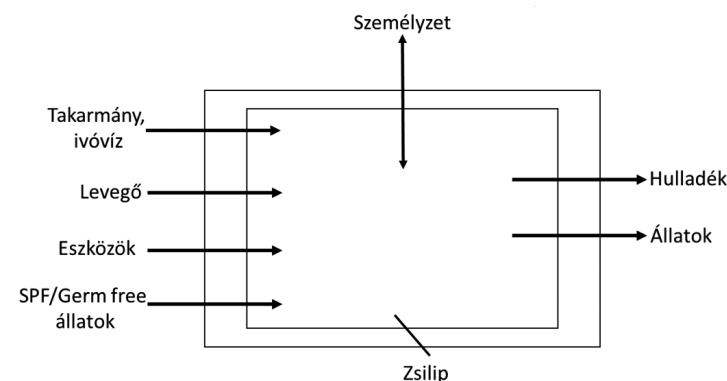
### Ismert kórokozótól mentes

#### (SPF-Specific Pathogen Free, higiéniai szint „B”)

Az SPF állatházak célja az állatkísérletek egységesítése, standardizálása, a kísérleteket károsan befolyásoló környezeti tényezők, így a mikroorganizmusok számának a csökkentése. Ennek érdekében az állatokat zárt építészeti rendszerű állatházban helyezik el, amelyben zsiliprendszer működik. Az SPF rendszerben

az ember (bejárás csak állatgondozóknak, kutatók nem léphetnek be) is beléphet a zsilip mögé átöltözés, zuhanyzás, fertőtlenítő kézmosás és védőfelszerelések felvétele után (7.2. ábra).

Az SPF állatok esetében az állategészségügyi jelentésben, az ún. health reportban, ismertetik, hogy melyek azok a kórokozók, amelyek jelenlétét nem tudták kimutatni. Az SPF szobákba az anyagok, eszközök sterilizálás, fertőtlenítés után kerülhetnek be. A levegő többszörösen szűrt (előszűrők, HEPA-filterek segítségével) és kondicionált, átlagban 15–20× légcserre valósul meg óránként. Az SPF állatházak tereiben túlnyomásos levegőt alkalmaznak a fertőzések megelőzése érdekében.



7.2. ábra: Az SPF elgondolás (módosítva Bleby, 1972 után)

### Konvencionális (higiéniai szint „C”)

Az állatok mikrobiológiai státusza nem ismert. A konvencionális állattartást nyílt építészeti rendszer jellemzi. Ezekben az intézményekben nem használnak kifejezett zsiliprendszert. A levegő szűrése fakultatív, hasonlóan az alom és a táp kezeléséhez. A légcserre óránként 15–20×, és az alkalmazott levegő túlnyomásos. Az állatgondozók mellett a kutatók is szabadon bejárhatnak. Az állatházban az átöltözés során hagyományos vagy eldobható köpenyt, állatházi cipőt vagy cipővédőt, maszkot, sapkát és kesztyűt, szükség esetén védőszemüveget is használnak. Hagyományos tisztítás, fertőtlenítés, fertőtlenítőszerrel való felmosás, az állattartó dobozok, ketrecek háromfázisú mosogatása ajánlott.

### MD (Minimal Disease)

A konvencionális állatház javított higiéniai változata. A megnevezés jelzi, hogy hosszabb ideig sikerül megóvni az állatállományt a fertőző betegségektől. Másik elnevezése a „Clean conventional”, vagyis tiszta konvencionális.

### Higiéniiai státusz monitorozása

Szállításkor az állatokat minőségi bizonylat (státuszigazolás) kell kísérje, amely részletesen tartalmazza az elvégzett mikrobiológiai: bakteriológiai, virológiai és parazitológiai vizsgálatok eredményét.

### Karantén

„18. § (3) A létesítményekben biztosítani kell az újonnan érkező állatok elkülönítését egészségi állapotuk felméréséig és a már beszoktatott állatokra jelentett lehetséges egészségügyi kockázatok értékeléséig és minimalizálásáig.” (40/2013. Kormányrendelet)

Az állatok karanténba helyezésének a célja az újonnan érkező állatok elkülönítése az állatházban korábban elhelyezett állatoktól, a mikrobiológiai státusz megállapításáig. A karantén idejének a hossza: kis laboratóriumi állatoknál kb. 1 hét, nagy laborállatoknál (kutya, macska, majom) 6 hét. Karantén nem lehet az SPF-állatház területén. A karantén helyiségben negatív nyomás kell legyen.

### Monitorozás

Az állatházak higiéniai státuszának monitorozási kötelezettségét a Kormányrendelet ismerteti: „A létesítményeknek stratégiával kell rendelkezniük az állatok jólétét és a tudományos követelmények teljesülését biztosító egészségmegőrzés érdekében. E stratégia részeként rendszeres egészségügyi nyomon követést kell végezni, mikrobiológiai felügyeleti programot és a betegségek kezelésére vonatkozó tervet kell kidolgozni, valamint meg kell határozni az újonnan érkező állatok befogadásával kapcsolatos egészségügyi paramétereket és eljárásokat 25. § (1)”.

A higiéniai állapot nyomon követése a kísérletre szánt laboratóriumi állatok mellett kiterjedhet a berendezésekre, a műszerekre, a személyzetre, a szállítási és tartási körülményekre, a zsilipekre (amennyiben vannak). A vizsgálatokhoz szükséges minták származhatnak közvetlenül az élő állatból: orr- és garatváladékból vagy vérből. Az állat leölése után szerv-, szövetmintákból, kórszövetteni és molekuláris biológiai vizsgálatokat lehet végezni. Közvetetten a bélsárból vagy a légcserre berendezések szűrőiből tenyésztethők ki a kórokozók. Közvetett módszer az úgynevezett sentinel állatok monitorozása is.

### Sentinel állatok

A sentinel („órszem”) állatokkal szembeni követelmények a következők: a sentinel állat egészséges, fiatal (általában 3-4 hetes), lehetőleg azonos fajú, fajtájú/törzsű, lehetőleg nőstény vagy kasztrált hím kell legyen. Amennyiben nem lehetséges az azonos törzsből származó állat sentinelként való használata, akkor egerek eseté-

ben C57BL/6, CD1, Balb/c, patkányok esetében a Wistar vagy Sprague-Dawley törzseket szoktak bevonni. Az állatokat engedélyezett, megbízható szállítóktól vagy létesítményektől kell beszerezni, amelyek képesek bizonyítani a minőségbiztosítási teszteléseket. A sentinel állatokat (2–5 állat) indirekt módon fertőzik: a tesztketrecben a vizsgálni kívánt 6–12 hetes állatoktól származó alomra helyezik, használt táppal etetik, ivóvízzel itatják. Az állatot 12–14 hétig kell a sentinel ketrecben tartani.

A sentinel direkt módon is kapcsolatot létesíthet a vizsgálat tárgyát képező állatokkal, ilyenkor ugyanabba a ketrecbe helyezik el az órszem állatokat.

### Az állatok tartására (elhelyezésére és gondozására)

#### vonatkozó követelmények

A kísérleti állatok tartását, elhelyezését és gondozását számos nemzetközi és hazai jogszabály, így direktíva, törvény, kormányrendelet, intézményi állatkísérleti vagy állatjóléti szabályzat, ajánlás, etikai kódex, valamint az adott állatház működési rendje határozza meg. A 40/2013. Kormányrendelet a 24–29. §-ban írja le a követelményeket.

24. § (1) Az állatnak az egészségi és jóléti állapotának megfelelő elhelyezést, élőhelyet, táplálékot, vizet és gondozást kell biztosítani.

(2) Az állat élettani és viselkedései szükségleteinek kielégítését csak minimális mértékben lehet korlátozni.

(3) Szükség szerint, de legalább napi rendszerességgel ellenőrizni kell az állatok tenyésztésének, tartásának és felhasználásának környezeti viszonyait.

(4) Megfelelő intézkedésekkel kell felkészülni az esetlegesen feltárt hiányosságok, valamint az elkerülhető fájdalom, szenvedés, kín vagy maradandó egészségkárosodás mielőbbi felszámolására.

25. § (2) Az állatokat legalább napi rendszerességgel hozzáértő személynek kell megvizsgálnia. Ezen vizsgálatoknak biztosítaniuk kell, hogy a beteg vagy sérült állatokat azonosítsák, és megfelelő intézkedéseket tegyenek.

26. § (2) Az állatok tartására szolgáló hely nem készülhet olyan anyagból, amely káros az állat egészségére. Úgy kell kialakítani és felépíteni, hogy az állatnak ne okozhasson sérülést. Amennyiben nem egyszer használatos, olyan anyagokból kell készülnie, amelyek ellenállnak a tisztításnak és a fertőtlenítésnek. Az állat tartására szolgáló helyek padlózatát az állat fájának és életkorának megfelelően kell kialakítani, és lehetővé kell tenni az ürülék gyors eltávolítását.

(4) Az állatok tartására szolgáló helyen az adott faj szükségleteinek megfelelően minden állat számára szilárd és kényelmes pihenőhelyet kell biztosítani. Minden alvóhelyet tisztán és szárazon kell tartani.

(5) Az akváriumokban és medencékben élő halak, kételtűek és hüllők szükségleteinek és egyedi tűréshatárainak megfelelő vízellátásról kell gondoskodni.

29. § (1) Az állatokat a 3. mellékletben foglalt elhelyezési és gondozási előírások szerint kell tartani.

#### *Ivóvíz*

27. § (5) Az állatokat folyamatosan el kell látni szennyeződésmentes ivóvízzel.

(6) Automatikus itatórendszer használatakor annak működését a balesetek elkerülése érdekében rendszeres időközönként ellenőrizni kell, valamint azt karban kell tartani és át kell öblíteni. Zárt padlózatú ketrec használata esetén ügyelni kell az elárasztás kockázatának minimalizálására.

#### *Élelem, táp*

27. § (1) A táplálék formája, az étrend és az etetés módja feleljen meg az állatok táplálkozási és etológiai igényeinek. (2) Az állatok táplálékának az egyes fajok élettani igényeinek megfelelőnek és szennyeződéstől mentesnek kell lennie. A nyersanyagok megválasztásakor, valamint a táplálék elkészítésekor és kihelezésekor a létesítményeknek intézkedéseket kell tenniük a vegyi, fizikai vagy mikrobiológiai szennyeződés minimalizálása érdekében. (3) A táplálék a csomagolás, szállítás és tárolás folyamán szintén nem szennyeződhet, romolhat meg vagy károsodhat. Az etetőket, itatókat és a táplálásra használt egyéb eszközöket rendszeresen tisztítani, és szükség esetén fertőtleníteni kell. (4) A táplálkozáshoz minden állatnak elegendő helyet kell biztosítani, hogy versengés nélkül hozzá tudjanak férni a táplálékhoz.

#### *Alom*

26. § (3) Gondoskodni kell a különböző fajok szükségleteinek megfelelő alomról, alvóhelyről, beleértve a fészeképítéshez vagy az utódneveléshez szükséges anyagokat és építményeket.

A laborállattartásban kétféle almozási eljárás létezik: a közvetett alom, ami a rácsfenekű ketrecek alá kerül és csupán az áthulló ürülék felfogására szolgál, közvetlen alom, amit a zártfenekű ketrecbe helyeznek, az állatok azon járnak, pihennek. Közvetett alomanyagok: tőzegkorpa, zeolit, bentonit, faforgács, paradara, papír stb. A közvetlen alomanyag lehet: rostált faforgács (nyár, nyír, éger, hárs), pamut, cellulóz, lignocel, lignocellulóz, kukoricacsutka őrlemény. Fontos, hogy az alom puha, jó nedvszívóképességű, por- és parazitamentes legyen.

#### *Környezetgazdagítás*

26. § (1) Minden állatnak megfelelő nagyságú és kellően ingergazdag életteret kell biztosítani, ahol természetes viselkedésmintáinak széles skáláját gyakorolhatja. Az állatoknak bizonyos fokú cselekvési szabadsággal és kontrollal kell rendelkezniük környezetük felett a stresszhelyzeti megnyilvánulások mérséklése érdekében. A létesítményekben az ingergazdag környezet kialakításához megfelelő technikákat kell alkalmazni, hogy az állat többféle tevékenységet is végezhesen és a fajára jellemző testmozgással, gyűjtögetéssel, manipulatív vagy kognitív tevékenységekkel növelje alkalmazkodóképességét. A tartásra szolgáló hely környezetét az adott állatfajra jellemzően és az egyed egyéni szükségleteinek megfelelően kell gazdagítani. A környezetgazdagítási stratégiát a létesítményeknek rendszeres időközönként felül kell vizsgálniuk és szükség szerint módosítaniuk.

#### *A környezet és szabályozása*

A környezeti tényezőket és azok szabályozását az Európai Bizottság 2007/526/EK sz. ajánlása és a 40/2013. Kormányrendelet ismerteti részletesen.

#### *Levegő*

Az állatok elhelyezésére szolgáló helyiségekben és az állatok tartási helyén megfelelő szellőztetésről kell gondoskodni, amely megfelel az ott elhelyezett állatok igényeinek. A szellőztetés célja elegendő és megfelelő minőségű friss levegőt biztosítani, és csökkenteni a szagok, mérgező gázok, a por, valamint bármiféle kórokozó terjedését. A szellőztetés eltávolítja a felesleges hőt és párát is. A helyiség levegőjét lehetőleg rendszeres időközönként cserélni kell. Az óránként tizenöt–húsz alkalommal történő levegőcseré rendszerint megfelelő.

#### *Hőmérséklet*

Az egyes fajoknak különböző hőmérsékleti tartományokat kell tartani. Az ajánlások által megadott értékek csak felnőtt, egészséges állatok esetében érvényesek. Újszülött és fiatal, hiányos szőrzetű, frissen mütött, beteg vagy sérült állatok gyakorta sokkal magasabb hőmérsékletet igényelnek. A helyiségek hőmérsékletét az állatok hőszabályozásában fellépő azon lehetséges változásoknak megfelelően kell beállítani, amelyeket speciális élettani állapotok vagy az eljárás hatásai válthatnak ki.

Az alábbiakban a kísérletekben gyakrabban alkalmazott állatfajok hőmérsékleti igényeit ismertetjük: rágcsálók 20–24 °C, házi nyulakat, macskákat, kutyákat 15–21 °C, vadászgörényeket 15–24 °C, selyemmajmokat és az oroszlánmajmokat 23–28 °C, mókusmajmokat 22–26 °C, rhesusmajmokat, cercófímajmokat 16–25 °C, közönséges makákókat 21–28 °C, páviánokat 16–28 °C, fűrjet, galambot, háziási-

tott kacsát, libát, tyúkot és pulykát 15–25 °C közötti hőmérsékleti tartományban kell tartani.

A nagytestű haszonállatok (sertések, juhok, kecskék, szarvasmarhák) hőmérsékletileg semleges zónái jelentősen eltérőek, az állatok szoktatási feltételeitől függően. A szabadban élő haszonállatok a téli hónapokban vastag szőrt/gyapjúréteget növesztenek az alacsony hőmérséklet elviselésére (Európai Bizottság 2007/526/EK sz. ajánlása).

### *Páratartalom*

Egyes állatfajok – mint az egerek, hörcsögök, tengerimalacok, patkányok (45–65%) és a futóegerek (35–55%) – esetében az egészségügyi és állatjóléti problémák lehetőségének a lehető legkisebbre csökkentése érdekében a relatív páratartalmat is viszonylag szűk tartományban kell szabályozni. Más állatfajok – például a macskák, kutyák, vadászgörények – a páratartalom nagy változásait is jól elviselik. A nem emberszabású főemlősöknek a 40–70% közötti relatív páratartalom a kényelmes. Természetes körülmények között a haszonállatok széles relatív páratartalom tartományoknak vannak kitéve, és azokat jól viselik. Szabályozott környezetben kerülni kell a páratartalom szélsőséges és hirtelen ingadozásait, mivel a magas és az alacsony páratartalom is fogékonyra teszi az állatokat a betegségekre.

### *Világítás*

A megvilágításhoz napi 12 óra világos – 12 óra sötét (tenyészállomány esetén 14 óra világos – 10 óra sötét) fényciklust kell fenntartani. A rágcsálók ketreceinek szintjén 325 Lux lehet.

### *Zaj*

A zaj zavaró tényező lehet az állatok számára. A magas zajsztint és a hirtelen zajok stresszt okozhatnak, ami az állatok jóllétére gyakorolt hatáson túlmenően a kísérleti eredményeket is befolyásolhatja. Az állatok számára hallható tartományon belül (ideértve egyes esetekben az ultrahangot, azaz az ember által hallható tartományon felüli hangot is, aminek hagyományosan a 20 kHz feletti hangot tekintik) a zajt a lehető legkisebbre kell csökkenteni, különösen a pihenési szakaszban. A riasztóberendezések hangjának kívül kell esnie az állatok hallótartományán, amennyiben ez nem akadályozza az ember általi hallhatóságot. A helyiségek és folyosók elrendezése az akusztikus környezetet befolyásoló fontos tényező lehet, és ezt tervezéskor figyelembe kell venni. Az állatok tartására szolgáló helyiségeket megfelelő hangszigetelő és hangelnyelő anyagokkal kell ellátni.

## **A konvencionális állatház részei**

### *Állattartó helyiségek/szobák:*

- tenyésztő szobák (magasabb higiéniai követelmények)
- kísérleti állatok tartására szolgáló szobák, boxok/kennelek, ólak, kifutók stb.
- karantén helyiség

### *Kiszolgáló helyiségek:*

- az állattartó ketrecek tisztítására – mosogató és fertőtlenítő – szolgáló helyiségek
- raktárak: alomanyag, takarmány, ketrecaljok, ketrecfedelek, környezetgazdagító eszközök, tisztítószer, kommunális hulladék, veszélyes hulladék tárolására szánt helyiségek
- személyzeti: öltöző, pihenő, zuhany, mellékhelyiség
- műszaki: klímagépház, fűtés
- egyéb: műtő, kezelő, labor, boncterem, iroda

## **Az állatház működésének személyi feltételei**

### *Állatházvezető*

Az állatház működésének irányításáért, a működési rend és a munkautasítások betartásáért, betartatásáért, ellenőrzéséért felelős személy.

### *Állatorvos*

A kísérleti állatok állatorvosi felügyelete kötelező, törvény írja elő. Betegség, sérülés vagy egyéb esemény esetén az állatorvos utasítása szerint kell eljárni (pl. elkülönítés, kezelés, eutanázia stb.).

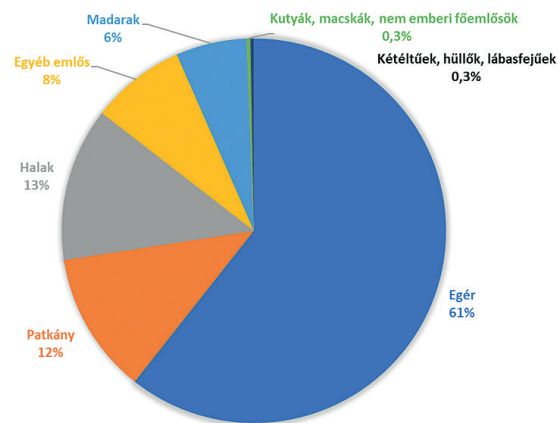
### *Állatfelügyelők*

Az állatfelügyelők (korábbi elnevezés: állatgondozók) felelősek a kísérleti állatok szakszerű ellátásáért, gondozásáért, az állattartó eszközök és az állattartó helyiségek higiéniai rendjéért, a kísérletekhez szükséges állatoknak az előkészítéséért, az elhullott vagy az eutanázián átesett állatok szakszerű tárolásáért azok elszállításáért, az előírt dokumentációk vezetéséért.

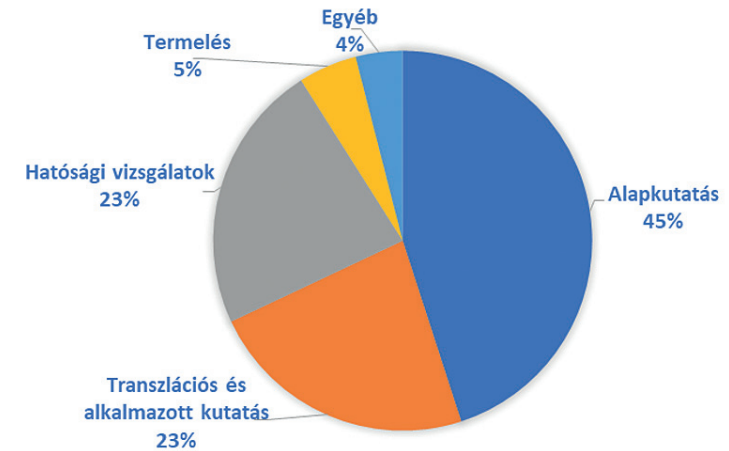
## 8. A kísérleti/laboratóriumi állatok főbb anatómiai és élettani jellemzői

A leggyakrabban használt laboratóriumi állatfajok az egér (*Mus musculus*), a patkány (*Rattus norvegicus*), a tengerimalac (*Cavia porcellus*), az aranyhörcsög (*Mesocricetus auratus*), a nyúl (*Oryctolagus cuniculus*), a kutya (*Canis familiaris*), a macska (*Felis catus*), ritkábban más emlősök, bizonyos főemlősök (óvilági és újvilági majmok), néhány madár, hüllő, kétéltű és halfaj.

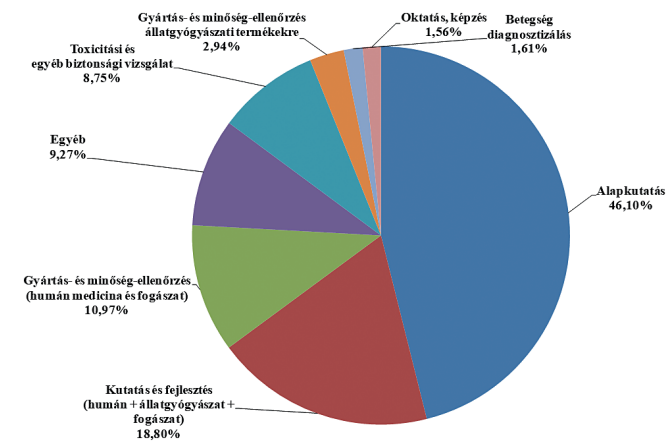
A laboratóriumi gerinces állatok mintegy 80%-a rágcsáló (8.1. ábra), ezért e fejezet is ennek megfelelően részletezi ez egyes fajokat. Kísérleti célok szerint a legtöbb állatkísérletet alapkutatás és orvosbiológiai kutatásfejlesztés céljából végzik (8.2., 8.3. és 8.4. ábrák).



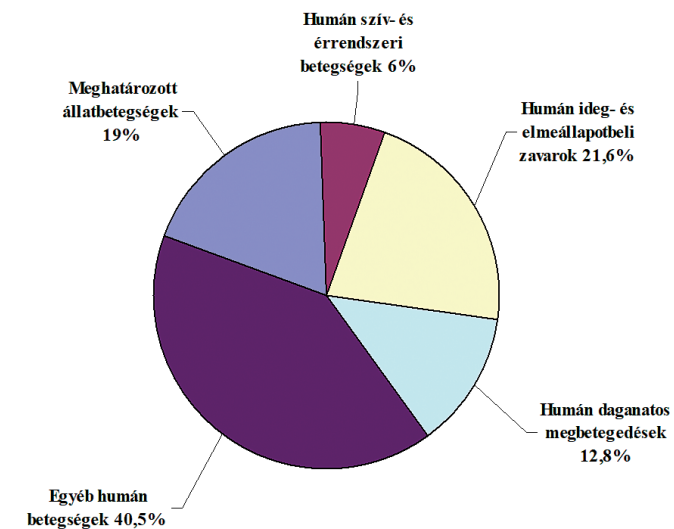
8.1. ábra: A kísérleti célokra használt állatok százalékos megoszlása, jelentés az Európai Unió tagállamaiban kísérleti és egyéb tudományos célra használt állatok számára vonatkozó statisztikából (Brüsszel, 2020)



8.2. ábra: A kísérleti célok szerint felhasznált állatok százalékos megoszlása (Brüsszel, 2020)



8.3. ábra: A kísérleti célok szerint felhasznált állatok százalékos megoszlása (EU, 2011)



8.4. ábra: Betegségek vizsgálatára felhasznált állatok aránya (EU 2007)

### 8.1. A laboratóriumi egér

Az orvosi biológiai kutatások legáltalánosabb állata az egér (*Mus musculus*).

- Rend: Rágcsálók (*Rodentia*)  
 Alrend: Egéralkatúak (*Myomorpha*)  
 Öregcsalád: *Muroidea*  
 Család: Egérfélék (*Muridae*)  
 Alcsalád: Egérformák (*Murinae*)  
 Nem: *Mus*  
 Alnem: *Mus*  
 Faj: *Mus musculus*

Közel 1200 genetikailag eltérő inbred törzs, amelyek anatómiai és élettani tulajdonságaikban különböznek.

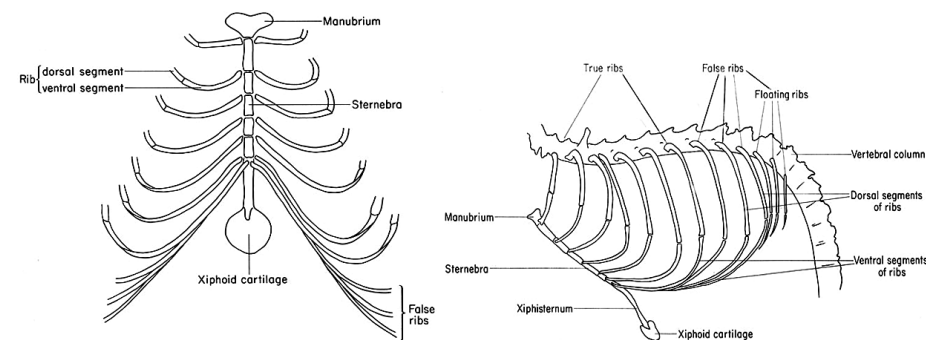
*M. m. musculus* alfaj:

A/J, AEJ/Gn, AU/SsJ, BALB/cJ, BDP/J, BXSb/MpJ, CBA/J, CE/J, C3H/HeJ, C57BL/6J, DA/HuSn, DBA/2J, HRS/J, HTG/Go, I/Ln, LP/J, NZB/BlN, NZW/Lac, P/J, RIIS/J, SB/Le, SEA/Gn, SEC/1ReJ, SF/Cam, SK/Cam, SM/J, WB/ReJ, WC/ReJ, YBR/Ei, 129/J. \par

*M. m. domesticus* alfaj:

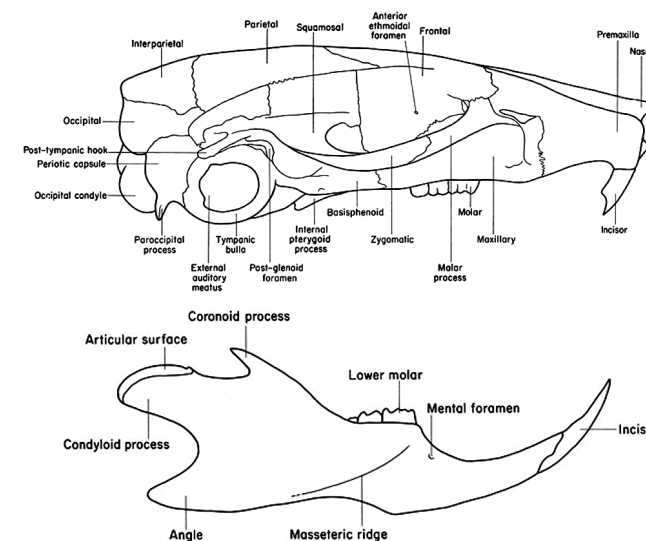
AKR/J, BUB/J, MA/MyJ, PL/J, RF/J, SJL/J, ST/bJ, SWR/J, SWV. \par  
 Az egér főleg a rákkutatás, a gyógyszerkutatás, a vakcina és monoklonális ellenanyaggyártás, valamint a toxikológiai vizsgálatok kísérleti állata.

Nyakcsigolyáinak száma, mint a legtöbb állatfajban, 7. A hátszigolyáinak száma 13 (8.5. ábra), a lumbális csigolyáké 6, a sacralisoké 4. A valódi rágcsálóknak 1 metsző (incisivus) és 3 őrlő (molaris) foga van, a szemfogak és az előzáfogak hiányoznak, foghíjas részt (diastema) hozva létre (8.6. ábra). A metszőfogak folyamatosan nőnek élete során, a rágás koptatja őket. A metszőfogak ajaki felületét vastag zománcreteg borítja (8.7. ábra).



8.5. ábra: 13 thoracalis csigolya, 13 pár borda: ebből 7 valódi, 6 álborda (közülük 3 lengőborda)

Forrás: *The Anatomy of the Laboratory Mouse*, Margaret J. Cook, 1965  
<http://www.informatics.jax.org/cookbook>

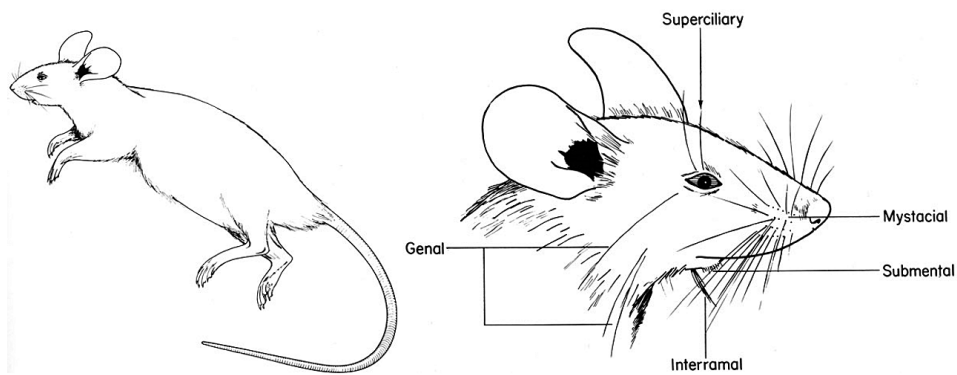


8.6. ábra



8.7. ábra: A metszőfogakat borító zománcréteg

Testarányait illetően általánosságban elmondható, hogy a fej és a test hossza megegyezik, vagy valamivel kisebb, mint a farkok hossza. A fejen lévő érzékelőszőrök: superciliaris, mystacialis, submentalis, genalis (8.8. ábra).

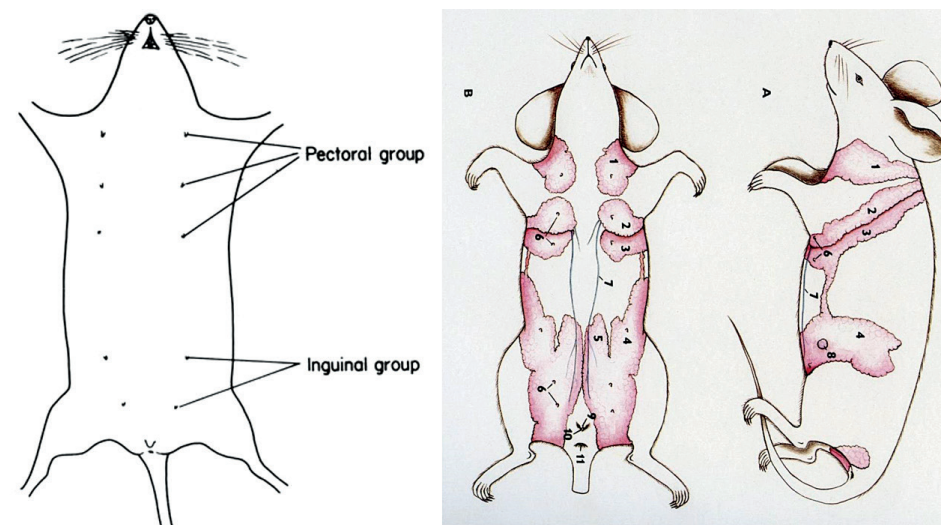


8.8. ábra

Forrás: *The Anatomy of the Laboratory Mouse*, Margaret J. Cook, 1965  
<http://www.informatics.jax.org/cookbook/>

Az emlőmirigyek a nyak, a mellkas, a hasfal és a lágyéki (inguinalis) régió bőre alatt húzódnak, az emlőbimbók pectoralis (3) és inguinalis (2) csoportokban helyezkednek el oldalanként (8.9. ábra).

Ahogy valamennyi rágcsálóban, az egérben is a felső ajkak között ajakhasadék (phyltrum) látszik. A felső ajkak, mint panniculus intraoralis, befordul a szájüregbe, hasonlóan a patkányhoz és a tengerimalachoz. Ez nyúlban inflexium pellitum.



8.9. ábra

Forrás: *The Anatomy of the Laboratory Mouse*, Margaret J. Cook, 1965  
<http://www.informatics.jax.org/cookbook>

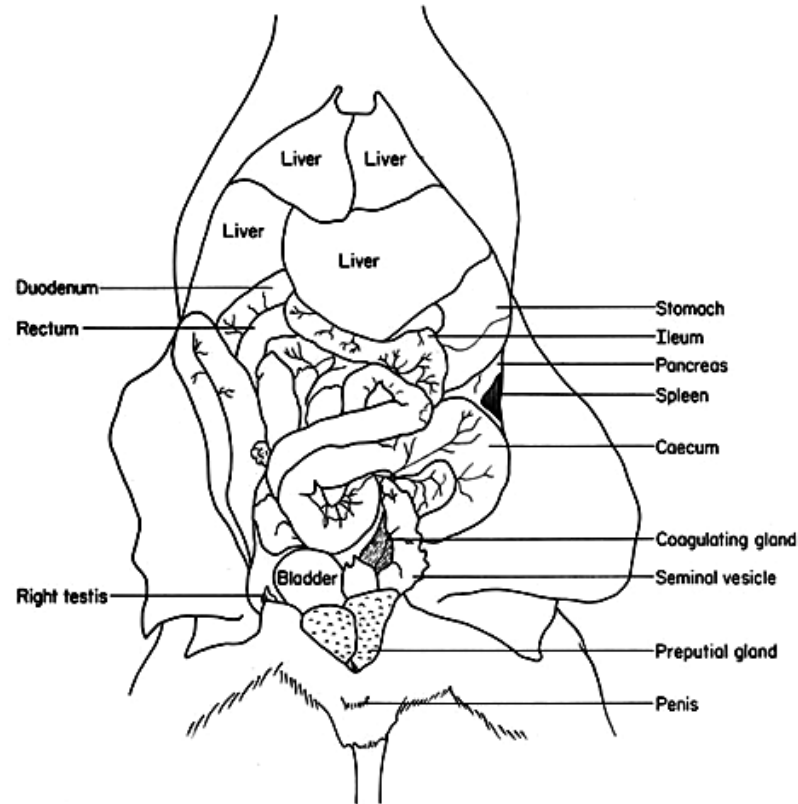
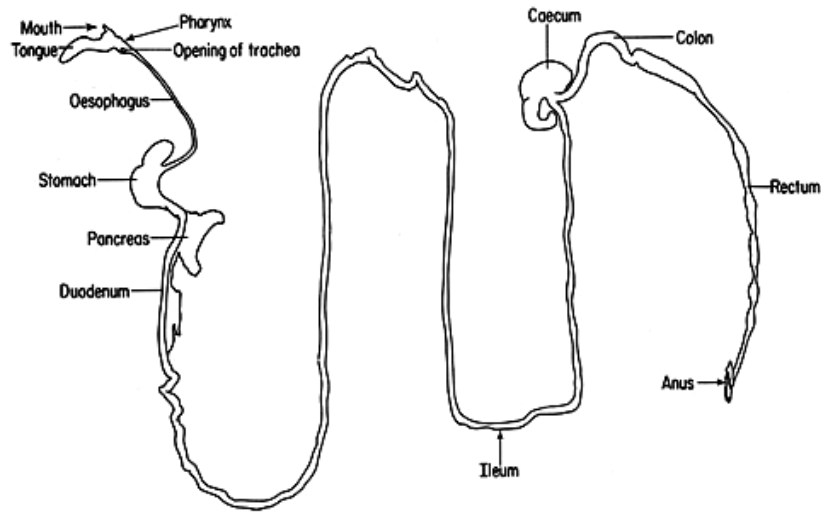
Nagyobb nyálmirigyek a glandula parotis, glandula mandibularis és a glandula sublingualis. Ezek viszonylag nagy méretűek, hiszen nagy mennyiségű nyálra van szükségük a magvak, száraz táplálék fogyasztásához.

Nagy mennyiségű rostot kell megemésztetniük, a gyomruk ezért kissé nagyobb, de nem tagolt. A vakbelük is megnagyobbodott, de sima, ostium ileocaecocolicummal bír, hasonlóan a patkányhoz. A nyelőcső (oesophagus) kb. 4 cm, a vékonybél (duodenum-jejunum-ileum): 35 cm, a vastagbél (colon-rectum) mintegy 14 cm (8.10. ábra).

A máj tagolt: jobb és bal oldalon medialis és lateralis lobusok, valamint lobus quadratus, lobus caudatus figyelhető meg. A patkánnyal ellentétben van epehólyagja. A pancreas a duodenum fodrában, a ligamentum gastrolienaleban és az omentum maiusban elszórt szigetekként terül el.

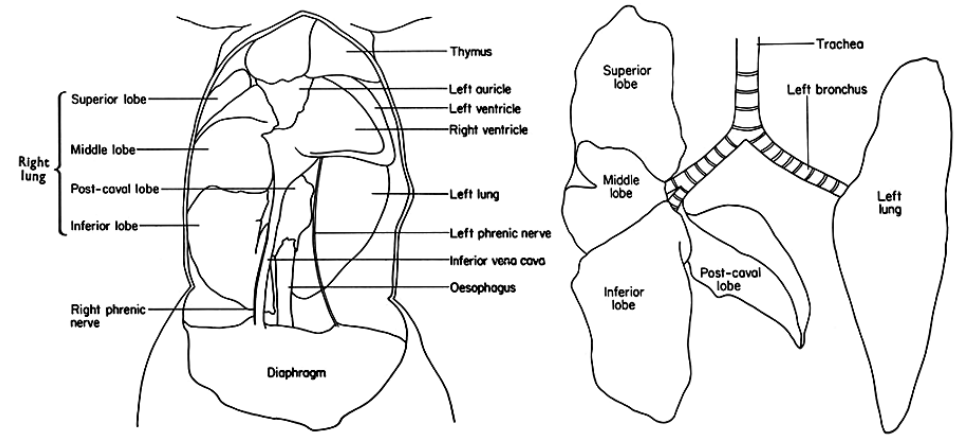
A tüdő (hasonlóan a patkányhoz és a hörcsöghöz) jobb oldalon cranialis, középső és caudalis lebenyekből áll, míg bal oldalon egységes lebenyt alkot (8.11. ábra).

Testméretükhöz képest nagy szívük van. A vérvételek szempontjából fontosabb ereket a 8.12–17. ábrák mutatják be.



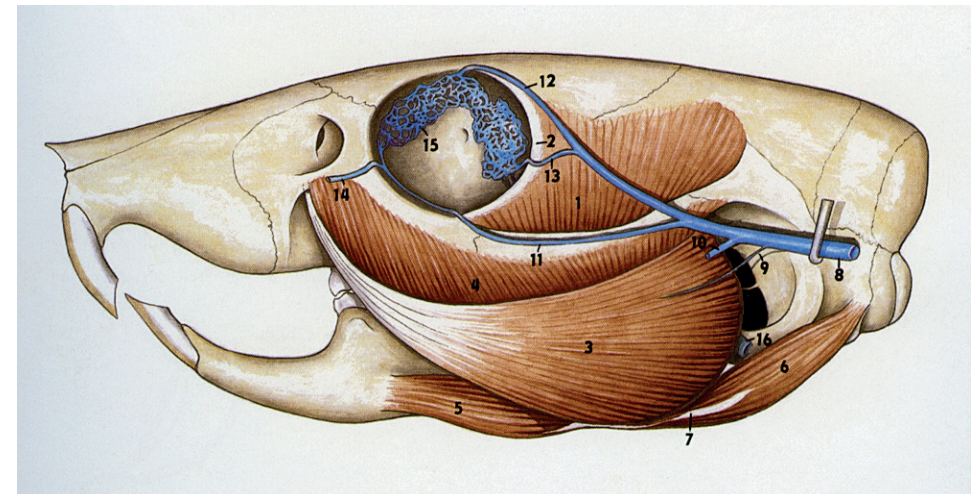
8.10. ábra

Forrás: The Anatomy of the Laboratory Mouse, Margaret J. Cook, 1965  
<http://www.informatics.jax.org/cookbook>

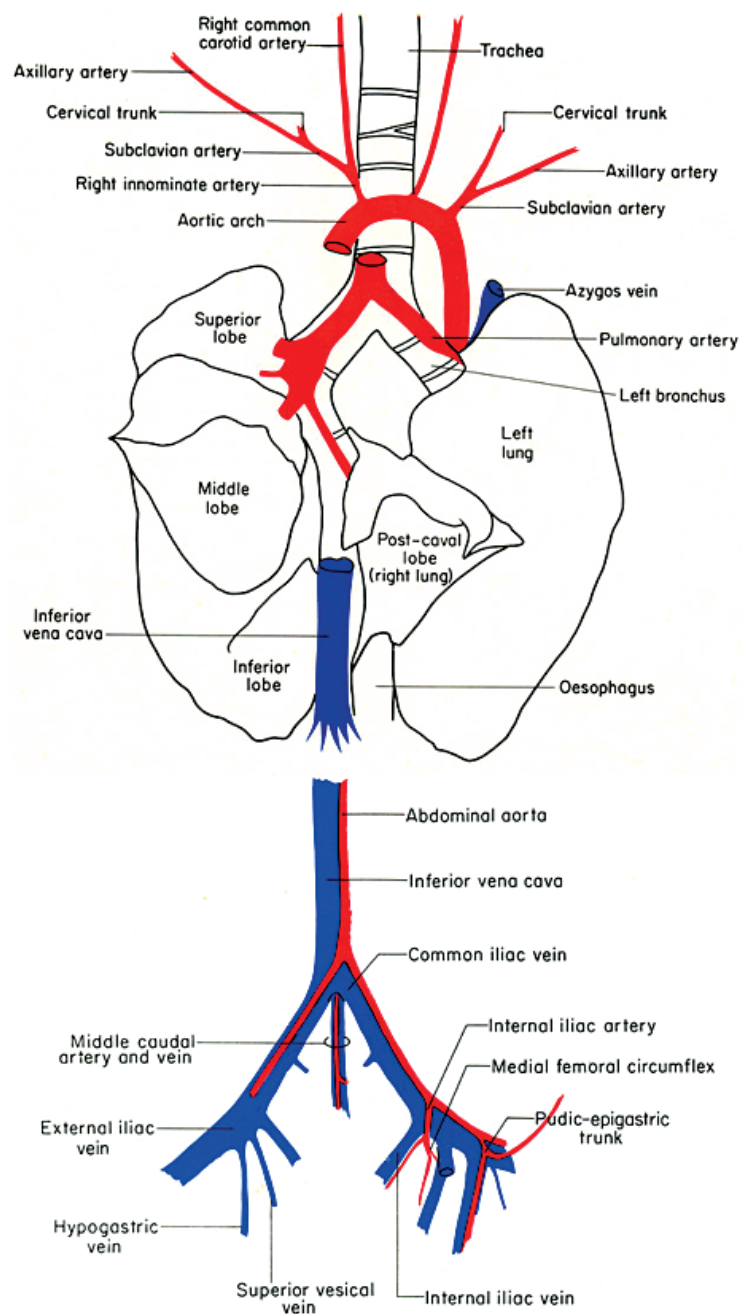


8.11. ábra

Forrás: The Anatomy of the Laboratory Mouse, Margaret J. Cook, 1965  
<http://www.informatics.jax.org/cookbook>

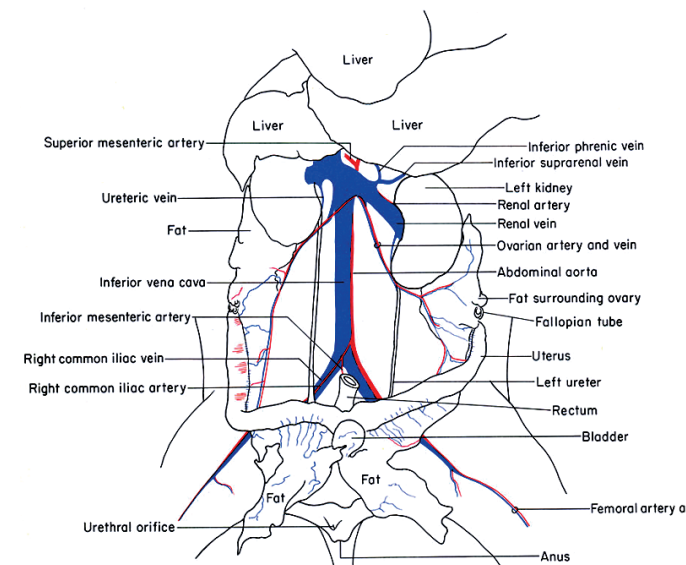


8.12. ábra

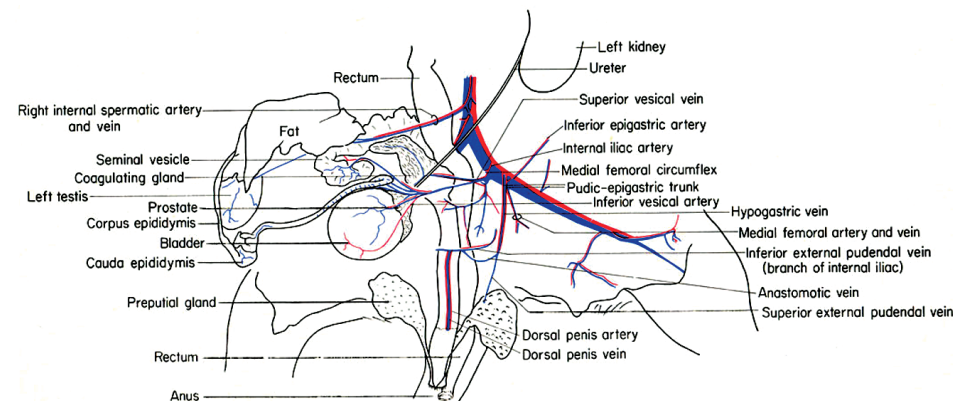


8.13. ábra

Forrás: The Anatomy of the Laboratory Mouse, Margaret J. Cook, 1965  
<http://www.informatics.jax.org/cookbook>

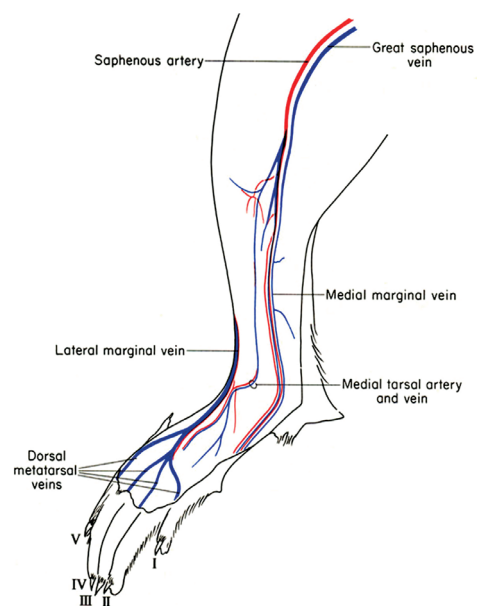


8.14. ábra

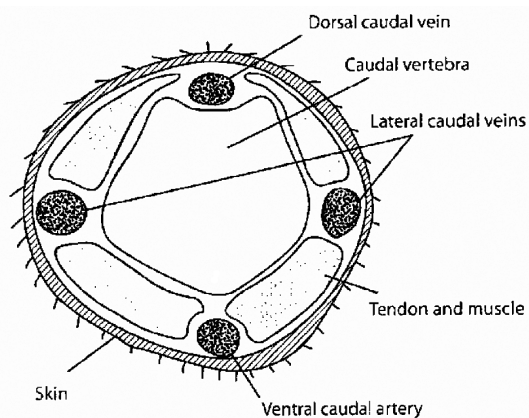


8.15. ábra

Forrás: The Anatomy of the Laboratory Mouse, Margaret J. Cook, 1965  
<http://www.informatics.jax.org/cookbook>



8.16. ábra

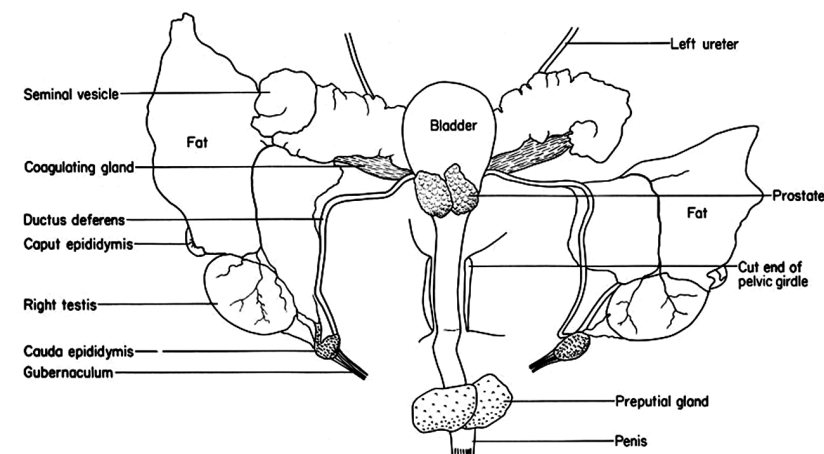


8.17. ábra

Forrás: *The Anatomy of the Laboratory Mouse*, Margaret J. Cook, 1965  
<http://www.informatics.jax.org/cookbook/>

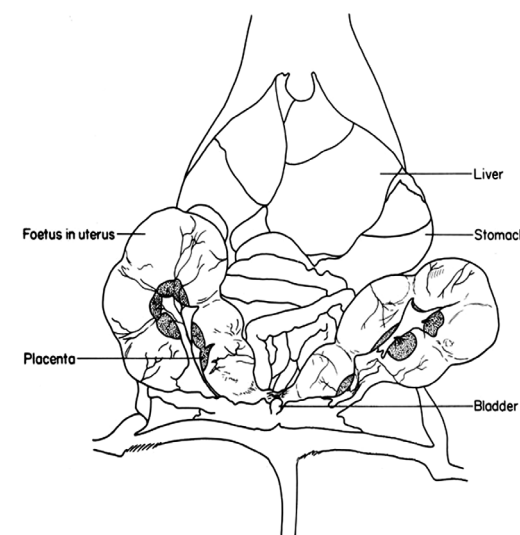
A rágcsálóknak papillás veséjük van. Testtömegükhöz képest nagy heréik vannak, amelyeket jelentős zsírpárna vesz körül (termoreguláció). Rágcsálókban négy járulékos nemi mirigy található: ondóhólyag (glandula vesicularis), dülmirigy (prostata), glandula bulbourethralis (Cowper-mirigy), preputialis mirigyek (8.18. ábra). Egérben, patkányban, tengerimalacban coagulációs mirigy is van.

A kétoldali Müller-csövek fejlődésének eredményeképpen a nőtényekben vagina simplex, cervix simplex vagy duplex, és uterus duplex, bicornis alakul ki. A petefészek viszonylag nagy méretű, a petevezető szorosan kapcsolódik, rozettaszerű (8.19. ábra).



8.18. ábra

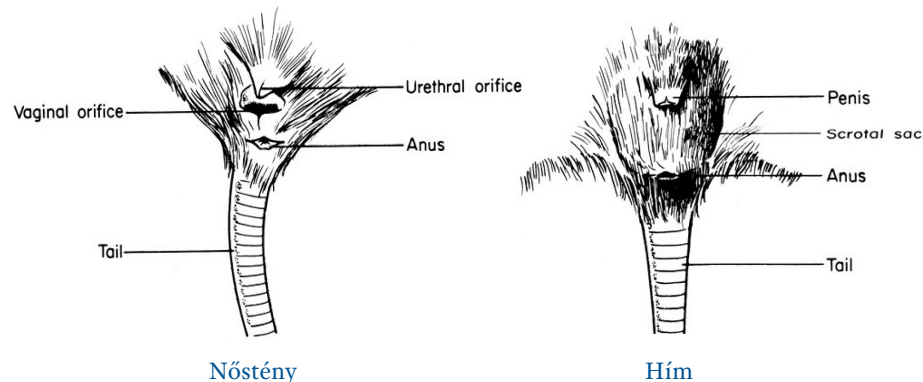
Forrás: *The Anatomy of the Laboratory Mouse*, Margaret J. Cook, 1965  
<http://www.informatics.jax.org/cookbook>



8.19. ábra

Forrás: *The Anatomy of the Laboratory Mouse*, Margaret J. Cook, 1965  
<http://www.informatics.jax.org/cookbook>

Fiatal állatokban még nehéz a hím és a nőstény megkülönböztetése. A végbél és az ivarnyílás közötti távolság hímeknél nagyobb (8.20. ábra).



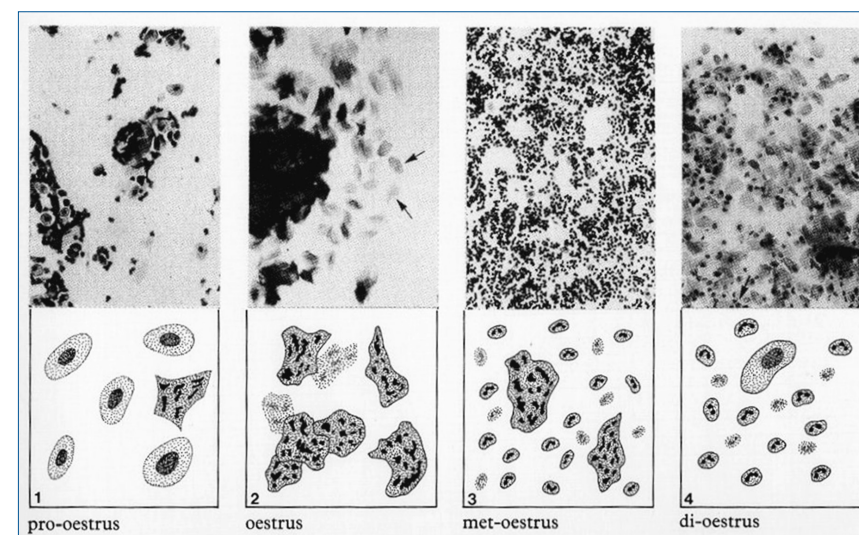
8.20. ábra

Forrás: L.F.M. Van Zutphen, V. Bauman és A.C. Beynen: A laborállat-tudomány alapelvei – Válogatott fejezetek, Laborállat-tudományi Társaság, 2007, 3. fejezet, és The Anatomy of the Laboratory Mouse, Margaret J. Cook, 1965 <http://www.informatics.jax.org/cookbook/>

Az egerek polyoestrusos állatok, hímeik jelenlétében a ciklusok egész évben zajlanak és alkalmanként négy szakaszra oszthatóak: pro-oestrus, oestrus, met-oestrus és di-oestrus. Az egerek ciklusa általában 4-5, néha 7 nap. Giemsa-festett

hüvelykenetből jó bizonyossággal megállapítható, hogy az állat melyik fázisban van (8.21. ábra):

- pro-oestrus: sokmagvas, kevés elszarusodott hámsejt
- oestrus: sok elszarusodott hámsejt
- met-oestrus: sok elszarusodott hámsejt és fehérvérsejtek
- di-oestrus: sok fehérvérsejt jelenléte



8.21. ábra: Hüvelykenet (Giemsa-festés) mikroszkópos képe az ivari ciklus különböző szakaszaiban

Forrás: L.F.M. Van Zutphen, V. Bauman és A.C. Beynen: A laborállat-tudomány alapelvei – Válogatott fejezetek, Laborállat-tudományi Társaság, 2007, 3. fejezet

Ha az állományban nincsenek hímeik, vagy onnan elkerülnek, a feromonok hiányában egy idő után a nőstényekben a ciklus leáll, anoestrus következik be. Ez az úgynevezett *Lee-Boot*-hatás. Ha megjelenik egy hím az állományban, újra beindul a ciklus (*Whitten*-hatás). Ugyancsak a hím feromon hatására a nőstény egerek pubertása felgyorsul (*Vandenbergh*-hatás). Érdekes megfigyelés az is, hogy ha párzás után egy másik hím is megjelenik, akkor a beágyazódás akadályt szenved (*Bruce*-hatás).

Életmódját tekintve az egér éjszaka aktívabb. A főbb élettani és tartási paramétereket a 8.1. táblázat foglalja össze.

Megragadásuknál agresszívek, harapnak, ezért óvatos, körültekintő módon kell megragadni a nyak-hátbőrénél (8.22. ábra), cérnakesztyű használata mindenképpen ajánlott.



8.22. ábra

A laboratóriumi egér szakszerű megragadása

## 8.2. A laboratóriumi patkány

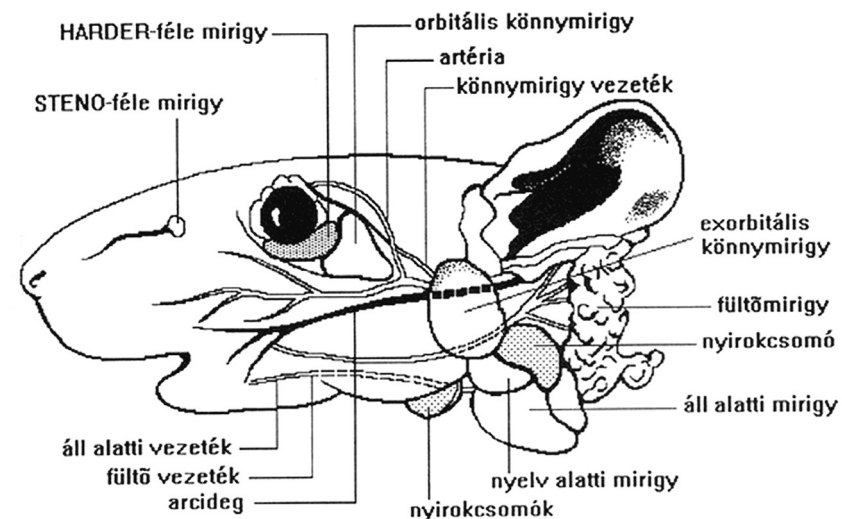
Rend:	Rágcsálók ( <i>Rodentia</i> )
Alrend:	Egéralkatúak ( <i>Myomorpha</i> )
Öregcsalád:	<i>Muroidea</i>
Család:	Egérfélék ( <i>Muridae</i> )
Alcsalád:	Egérformák ( <i>Murinae</i> )
Nem:	Patkány ( <i>Rattus</i> )
Faj:	<i>Rattus norvegicus</i>

A vándorpatkány (*Rattus norvegicus*) leszármazottai. Az első fehér patkányokat 1877-ben Németországban tenyésztették. Igazi elterjedésük H. H. Donaldson nevéhez és a philadelphiai Wistar Intézethez kötődik 1906-tól. Napjainkra közel 450 genetikailag eltérő inbred és közel 50 outbred törzs ismert. A patkány élet-tana és anatómiája hasonlít az egéréhez. A főbb élettani és tartási paramétereket a 8.1. táblázat foglalja össze.

A vesekéregben a nephronok a felszínhez közel helyezkednek, így könnyű a hozzáférhetőségük. A mellékvesék a nagyerektől távol találhatóak. Ellentétben az egérrel, a patkánynak nincs epehólyagja.

A szemüregben fekszik a Harder-mirigy, amely barnásvörös, porfirin tartal-mú váladékot termel (8.23. ábra). A váladékot az állat a tisztálkodással távolítja el, és a szemek, valamint az orr körüli vöröses foltok csökkent komfortérzetet

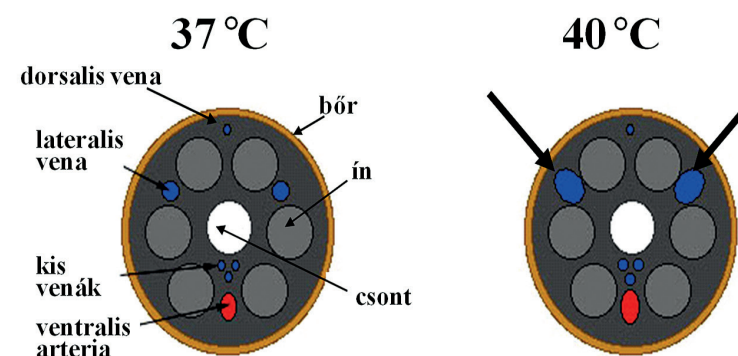
jeleznek (a tisztálkodás mérsékelt vagy a váladéktermelés fokozott a felső légutak fertőződése miatt). A szem és fültő között egy mellék könnyimirigy foglal helyet.



8.23. ábra

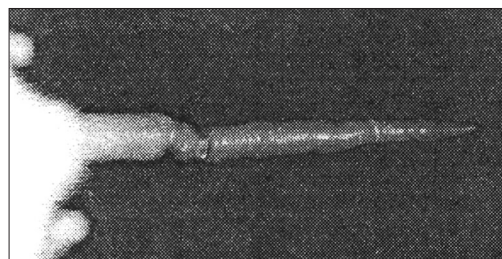
Forrás: Kállai L.: Laborállat Könyv, Kallé-K Kft., Budapest 2003

A lateralis farokvénák a termoregulációban is szerepet játszanak, magasabb hőmérsékletnél jelentősen dilatálnak (8.24. ábra).



8.24. ábra

Ha a relatív páratartalom tartósan 45% alá kerül, farokgyűrűsödés fejlődhet ki, főleg fiatal állatokon (8.25. ábra).



8.25. ábra

Forrás: Kállai L.: Laborállat Könyv, Kallé-K Kft., Budapest 2003

A végbél és az ivarnyílás közötti távolság hímeknél itt is nagyobb (8.26. ábra). Az egereknél leírt, polyoestrus ciklus szakaszokra vonatkozó jellegzetességek (hüvelykenet képek, Lee–Boot-, Whitten-, Vandenbergh- és Bruce-hatások) patkányok esetében is megfigyelhetők.



8.26. ábra

Forrás: P.E. Sharp, M.C. La Regina, The Laboratory Rat CRC Press, Boca Raton, Boston, London, 1998

A patkány szakszerű megragadásának helye a mellkas vagy a mellkas és a nyak területén történik háti (dorsalis) irányból, a faroktő rögzítésével (8.27. ábra).



8.27. ábra

A laboratóriumi patkány szakszerű megragadása

### 8.3. A hörcsög

Rend:	Rágcsálók ( <i>Rodentia</i> )
Alrend:	Egéralkatúak ( <i>Myomorpha</i> )
Öregcsalád:	<i>Muroidea</i>
Család:	Hörcsögfélék ( <i>Cricetidae</i> )
Alcsalád:	Hörcsögformák ( <i>Cricetinae</i> )
Nem:	<i>Mesocricetus Cricetulus</i>
Faj:	Szíriai aranyhörcsög ( <i>Mesocricetus auratus</i> ) Kínai hörcsög ( <i>Cricetulus griseus</i> )

Szíriai vagy aranyhörcsögöt (*Mesocricetus auratus*) és a kínai hörcsögöt (*Cricetulus griseus*) a tudományos kutatások kevesebb mint 1%-a használja napjainkban. Elsősorban a szaporodás és a fejlődési rendellenességek tanulmányozásában, továbbá a daganat és a vérkeringés kutatásának modellállata.

A hibernáció (téli álom) okán a hypothermia vizsgálatában is szerepel. Nem fogékony az általános fertőző megbetegedésekre, de igen érzékeny a kísérletes úton kiváltott leptospira-, influenza- és szopornyicafertőződésre. A kínai hörcsög citogenetikai és a diabetes mellitus modellezésében használatos.

Amikor a környezeti hőmérséklet 5-6 °C alá süllyed és a nappalok megrövidülnek, a világos órák száma 8 óránál kevesebb, az aranyhörcsög téli álmot alszik. Ennek során a testhőmérséklet, a szívverés- és a légvételszám jelentősen csökken. Álmából (például simogatással) felébreszthető.

A téli álomban 2-3 napos alvási és hozzávetőlegesen 12 órás ébrenléti időszakok váltogatják egymást. Ébrenlétkor az élettani paraméterek normalizálódnak. A téli álom idején is gondoskodni kell ételről és ivóvízről.

Az állatok horpasz tájékán egy sötéten pigmentált folt figyelhető meg, amely felett a szőr durvább. Az itt található faggyúmirigyek – az ivarérett hímekben jól fejlettek – feromontermelése a terület megjelölésre szolgál. A pofazacskók túguleknyak, a pofától egészen a lapockáig nyúlnak. Élelem, és időnként a kölykök szállítására szolgál.

A hörcsögnél a glandula parotis, glandula mandibularis (járulékos glandula retrolingualis), glandula sublingualis is megtalálható. A gyomor hatalmas, fala vékony, osztott, az elő- és a valódi gyomor közötti redő olyan nagy, hogy a gyomrot szinte két üregre osztja, az előgyomor elszarusodó laphámmal bélelt. A passzázss lassú. Fogképlete: M3P1C0I1/M3P1C0I1.

A mellékvese a hímeknél nagyobb. A vizelet pH-ja 8, kinézete gyakran zavaros, tejszerű.

Összehasonlítva a legtöbb rágcsálóval, a hörcsög kevésbé érzékeny a morfinra és jobban viseli a pentobarbitált. A hisztamin csökkent reakciót vált ki, ezért anaphylaxiás sokk nem könnyen alakul ki. Ugyanakkor a kortikoszteroidok iránt fokozottan érzékeny.

Néhány antibiotikum (penicillin, erythromycin és tetracyclinek) közvetetten toxikus, mert az eméztőrendszer dysbacteriosisát váltják ki – a *Gram*-pozitív baktériumok száma csökken, a *Gram*-negatívoké pedig nő, és ezzel lethális endotoxaemiát okoznak. Más antibiotikumok a *Clostridiumok* elszaporodását serkentik, aminek következménye a bélfal komoly gyulladása, toxaemia és az állat elpusztulása.

A hörcsög magányos, éjszakai állat. Igen harcias. A napközben, a pihenésében megzavart hörcsög támad, harap.

8.1. táblázat. Az egér, a patkány és az aranyhörcsög környezeti igénye és néhány élettani tulajdonsága

Környezeti igény	EGÉR	PATKÁNY	ARANYHÖRCSÖG
Hőmérséklet (°C)	20–24	20–24	20–24
Relatív páratartalom (%)	50–60	60	50–60
Szellőzés (légcseré/perc)	15	10–15	10–15
Megvilágítás/sötétség (óra)	14/10	12–14/12–10	12–14/12–10
Min. ketrecméret (cm <sup>2</sup> )			
egyedi elhelyezés, felnőtt	180	350	180
tenyészállat a fiókákkal	200	800	650
csoportos tartás/felnőtt	80	250	N
Min. ketrecmagasság (cm)	12	14	12
<b>Általános élettan</b>			
Élő súly, felnőtt (g)			
hím	20–40	300–500	120–140
nőstény	25–40	250–300	140–160
Élettartam (év)	1–2	2–3	2–3
Szívverés (szám/min)	300–800	300–500	250–500
Légzés (szám/min)	100–200	70–110	40–120
Testhőmérséklet (°C)	36,5–38	37,5–38,5	37–38
Kromoszómaszám (2n)	40	42	44
Testfelület (cm <sup>2</sup> )	20 g: 36	50 g: 130 200 g: 325	125 g: 260
Vízfelvétel [ml/100 g/nap]	15	10–12	8–10

8.1. táblázat folytatása

Környezeti igény	EGÉR	PATKÁNY	ARANYHÖRCSÖG
Ivarérettség [hét]			
nőstény	5	6–8	4–6
hím			7–9
Tenyészérettség [hét]			
nőstény	8–10	12–16	6–8
hím	8–10	12–16	10–12
Ivari ciklus [nap]	4 (2–9)	4–5	4
Ivarzás hossza [óra]	14	14	2–24
Vemhességi idő [nap]	19 (18–21)	21–23	15–17
Alomnagyság	6–12	6–12	6–8
Születési súly [g]	0,5–1,5	5	2–3
Választási súly [g]	10	40–50	30–40
Választás ideje [nap]	21–28	21	20–22
<b>Vérparaméterek</b>			
Vértérfogat [ml/ttkg]	76–80	60	80
Haemoglobin [g/dl]	10–17	14–20	10–18
Haematocrit [%]	39–49	36–48	36–60
Fehérvérsejt szám [x10 <sup>3</sup> /μl]	5–12	6–17	3–11

Forrás: L.F.M. Van Zutphen, V. Bauman és A.C. Beynen: A laborállat-tudomány alapelvei – Válogatott fejezetek, Laborállat-tudományi Társaság, 2007, 3. fejezet

#### 8.4. A gerbil

Rend: Rágcsálók (*Rodentia*)  
 Alrend: Egéralkatúak (*Myomorpha*)  
 Öregcsalád: *Muroidea*  
 Család: Egérfélék (*Muridae*)  
 Alcsalád: Versenyegérformák (*Gerbillinae*)  
 Nem: *Meriones*  
 Faj: *Meriones unguiculatus*

A gerbil vagy mongol futóegér (*Meriones unguiculatus*) fogságban jól szaporodik, és viszonylag kevés a természetes betegsége. Ezen kedvező tulajdonságai miatt szerepel az orvosbiológiai kutatásokban.

A gerbilnél az epilepszia genetikai hátterű, ezért az idegrendszeri kutatásokban a humán ismeretlen eredetű epilepszia modellállata. Még kevés nyerszsír etetése mellett is a vérszérumban és a májban magas a koleszterinkoncentráció. Ezért a koleszterin-anyagcsere- és az atherosclerosis kutatások modellállata is.

A természetben a gerbil monogám, párban él a saját maga építette alagutakban. Az aktív és a pihenő időszakok váltakoznak mind nappal, mind éjjel, bár éjszaka a legaktívabbak.

A sivatagi élethez alkalmazkodva veséi naponta csak néhány csepp vizeletet választanak ki. Ivóvíz nélkül hetekig is kibírja. A környezeti hőmérséklet ingadozását 0 és 35 °C között minden kényelmetlenség nélkül elviseli. 50% relatív páratartalom fölött az állatok szőre durva, zsíros.

A legtöbb rágcsálóval szemben a gerbil füle és talppárnái szőrösök. A fark bőre laza, nem alapos megfogáskor lemeztelenedik. A köldöktájékon hatalmas faggyúmirigy húzódik. Fogképlete: M3P1C0I1/M3P1C0I1.

### 8.5. A tengerimalac

Rend:	Rágcsálók ( <i>Rodentia</i> )
Alrend:	Sülalkatúak ( <i>Hystricomorpha</i> )
Alrendág:	<i>Hystricognathi</i>
Részalrend:	<i>Caviomorpha</i>
Öregcsalád:	<i>Cavioidea</i>
Család:	Tengerimalacfélék ( <i>Caviidae</i> )
Alcsalád:	Tengerimalacformák ( <i>Caviinae</i> )
Nem:	<i>Cavia</i>
Faj:	<i>Cavia porcellus</i>

A tengerimalac (*Cavia porcellus*) a laboratóriumi állatok ~ 2-3%-a. A fő felhasználási terület a szérum-, vakcina- és más biológiai termékek gyártása és ellenőrzése. A tengerimalac könnyen immunizálható. A fertőző betegségek (pl. TBC, diftéria, leptospirozis, brucellózis) iránti nagyfokú érzékenysége miatt a diagnosztikában fontos szerepet játszik/játszott. A tengerimalac a magas vérplazma-komplementaktivitás okán az immunológia, a középfül kedvező anatómiai föl-építése miatt a fülészet, a takarmányozás területén pedig a C-vitamin-, a folsav-, a tiamin-, az arginin- és a kalciumforgalom tanulmányozásának modellállata.

Többnyire outbred állomány használatos a kutatásokban (1926-ban kitenyésztett *Dunkin-Hartley*-vonal).

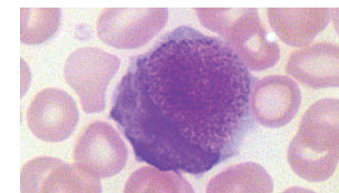
A tengerimalac szigorúan növényevő, harántul lejtő zápfogakkal és az állkapcsa előre-hátra mozog. Fogképlete:  $2 \times (M3P1C0I1/M3P1C0I1) = 20$ .

A metsző- és a zápfogak folyamatosan nőnek. Az állatok nagyjából 20 órát aktívak. A napi ritmus nem válik ketté, az ébrenlétet rövid, ~ 10 perces alvási szakaszok törik meg. A tengerimalac saját lágy bélsarát közvetlenül a végbélből, az elhízott, illetve a vemhes állat a padozatról veszi föl (*caecotrophia*). Az újszülöttek anyjuk ürülékét szedik föl, ezzel alakítva ki a felnőtt állatokra jellemző bélmikroflórát.

A hímek megkülönböztethetők a hímvessző előbuktatásával, amelyhez az ivarnyílás előtt a hasfalat enyhén meg kell nyomni.

A hatalmas, gurdélyos vakbél a hasüreg jelentős részét kitölti.

Nagyszámú, egy ovális testet magában foglaló mononukleáris fehérvérsejt, az ún. *Foa-Kurloff*-féle sejt kering a vérben (8.28. ábra). Főleg a vemhes nőstényekben jelennek meg. Vélhetően a magzatot védik a különféle anyai antigénekkal szemben.



8.28. ábra: A Foa-Kurloff-sejt

A tengerimalac a hörcsögnél is érzékenyebb a perorális antibiotikumokra. Különösen a Gram-negatív baktériumok ellen adott penicillin, erythromycin és chlortetracyclin halálos. A kortikoszteroidok gyakorlatilag hatástalanok. Másrészt a hisztaminkoncentráció a hörgők simaizomzatában a lethális szintet is elérheti. C-vitamint a tengerimalac szervezetében nem képes előállítani az L-gulonolakton-oxidáz hiánya miatt, hasonlóan az emberhez, emberszabású majmokhoz és egyes madarakhoz.

A tengerimalacot a fölemeléshez óvatosan, de határozottan megfogjuk a váll és a mellkas körül, míg a másik kezünkkel a hátat és a hátulsó lábakat támasztjuk alá (8.29. ábra). A törzs és a has megszorítása sokkot vagy a máj és a tüdő sérülését okozhatja!



8.29. ábra

Forrás: L.F.M. Van Zutphen, V. Bauman és A.C. Beynen:  
A laborállat-tudomány alapelvei –  
Válogatott fejezetek, Laborállat-tudományi Társaság, 2007, 3. fejezet

## 8.6. A nyúl

Rend: Nyúlalakúak (*Lagomorpha*)  
Család: Nyúlfélék (*Leporidae*)  
Alcsalád: Valódi nyulak (*Leporinae*)  
Nem: *Oryctolagus*  
Faj: *Oryctolagus cuniculus*  
Alfaj: *Oryctolagus cuniculus var. domestica*

A házinyúl az üregi nyúl (*Oryctolagus cuniculus*) leszármazottja. Laboratóriumi állatként a holland fajta – 2 kg-nál könnyebb – és az új-zélandi fehér – súlya 2–5 kg – a leggyakoribbak. Használatos a Pannon fehér és a Debreceni fehér nyúl is. A beltenyésztett törzsek száma elenyésző. Az egérrel és a patkánnyal szemben az orvosbiológiai kutatásokban kevés (~ 2%) nyulat használnak fel.

A házinyúl alkalmazásának területei: toxikológia (teratológia), pirogén-teszt, antiszérum-termelés, biológiailag aktív anyagok hitelesítése, bakteriológia, szem- és bőrérzékenységi vizsgálatok, sebészeti technikák, rheumatoid arthritis, valamint atherosclerosis.

8.2. táblázat. A nyúl kétféle bélsárának jellemzői (Fekete és Bokori, 1984)

	Valódi bélsár	Lágy bélsár
<b>Forma</b>	kemény, bogyós	5–10 bogyó fürtben, nyálkaburok
<b>Száranyag (%)</b>	50–55	30–40
<b>Nyersfehérje (%)</b>	15–16	25–30
<b>Nyersrost (%)</b>	30	15–18
<b>B-vitamin</b>	kevés	sok

A házi nyúl növényevő. Kétféle, lágy (éjszakai) és kemény (nappali) bélsarat termel (8.2. táblázat). Az éjszaka második felében és hajnalban a vakbél tartalom gyakorlatilag változatlanul, nyálkaburokkal körülvett apró, gömbölyű részecskék formájában kerül a remesébe és a végbélbe. Ezt a viszonylag alacsony nyersrost-tartalmú, ugyanakkor fehérjében, valamint B- és K-vitaminokban gazdag lágybélsarat a nyúl a végbélnyílásból közvetlenül veszi fel (*caecotrophia*).

A mezei és az üregi (házi) nyúl, amelyek a *Lagomorpha* (Nyúlalakúak) rendbe tartoznak, felső fogsorában a nagy metszőfogak mögött egy pár kisebb húzódik (8.30. ábra). Fogképlete:  $2 \times (M3P3C0I2/M3P2C0I1) = 28$ .



8.30. ábra: A nyúl fogzatának röntgenképe

(Forrás: L.F.M. Van Zutphen, V. Bauman és A.C. Beynen:  
A laborállat-tudomány alapelvei –  
Válogatott fejezetek, Laborállat-tudományi Társaság, 2007, 3. fejezet)

A nyúl gyomra együregű és összetett, azaz van egy mirigymentes és egy mirigyes része is. A pylorust egy patkó alakú záróizom és a torus pylori zárják le. A csipőbél a vakbélbe történő beszájadásánál kitágul (*sacculus rotundus*), és fala lymphoid szövetekben gazdag (*tonsilla ileocaecalis*). A hatalmas vakbél spirál-szerűen föltekeredett, vak vége (*appendix caeci*) szintén sok lymphoid szövetet tartalmaz.

A nőtény nyúl (anya) méhe kettős (*uterus duplex*). A hím nyúl (bak) – többek között – a pénisz előbuktatásával különböztethető meg a nőténytől. A pihenő

nyúl hasi légzést folytat. A neutrophil fehérvérsejtek citoplazmájában számos eosinophil szemcse található (pseudo-eosinophil fehérvérsejtek). A nyulak ~30%-a az atropinra nem reagál, mert a vér atropin-eszteráz enzime lebontja azt.

A nyúlvizet színe változó, a zavaros sárgától a vöröses barnáig terjed a takarmány összetételétől függően. Az áll alatti és a végbélnyílás körüli (*fossa perinealis*) faggyúmirigyek szagos váladékát (feromonok) a területük kijelölésére használják.

A ketrecből való kivételhez a nyulat az egyik kezünkkel szorosan ragadjuk meg a nyak és a hát bőrénél fogva, a másik kézzel a hasát, és a hátulsó lábát pedig támasszuk alá. Szállításnál a megfogást végző személy szorítsa a nyúl fejét a karja és a teste közé. Így az állat nyugodtan fekszik a kézben. A hadakozó nyúl háta megroppanhat! Ilyenkor a sérült állat azonnali eutanáziája szükséges!

8.3. táblázat. A gerbil, a tengerimalac és a házi nyúl környezeti igénye és néhány élettani tulajdonsága

Környezeti igény	GERBIL	TENGERIMALAC	HÁZI NYÚL
Hőmérséklet (°C)	20–24	20–24	15–21
Relatív páratartalom (%)	35–45	50	50–60
Szellőzés (légcseré / perc)	15–20	10–15	5–15
Megvilágítás/sötétség (óra)	12/12	14/10	12/12
Min. ketrecméret (cm <sup>2</sup> ) egyedi elhelyezés, felnőtt	230	600	1 kg: 1400 2 kg: 2000 3 kg: 2500 4 kg: 3000 5 kg: 3600
tenyészállat az alommal	1300 (pár)	1200	1 kg: 3000 3 kg: 4000 5 kg: 5000
csoportos tartás/felnőtt		1000	
Min. ketrecmagasság (cm)	15	18	1–2 kg: 30 3 kg: 35 4–5 kg: 40
<b>Általános élettan</b>			
Testsúly, felnőtt (g)			
hím	80–110	900–1000	2–5 (kg)
nőstény	70–100	700–900	2–6 (kg)
Élettartam (év)	3–4	5–6	5–6
Szívverés (szám/min)	360	230–380	130–325
Légzés (szám/min)	90	42–104	30–60

8.3. táblázat folytatása

Környezeti igény	GERBIL	TENGERIMALAC	HÁZI NYÚL
Testhőmérséklet (°C)	38,1–38,4	38–40	38,5–39,5
Kromoszómaszám (2n)	44	64	44
Testfelület (cm <sup>2</sup> )	190 g: 205	400 g: 565 800 g: 720	2–5 kg: 1270 4–8 kg: 3040
Vízfelvétel [ml/100 g/nap]	4–7	10	6
Ivarérettség [hét]			
nőstény	9–12	4–5	16
hím	9–12	8–10	20
Tenyészérettség [hét]			
nőstény	9–12	9–10	20–36
hím	9–12	9–10	24–40
Ivari ciklus [nap]	4–6	14–18	N
Ivarzás hossza [óra]	–	1–18	N
Vemhességi idő [nap]	25–26	68 (59–72)	30 (28–35)
Alommagyság	4–6	1–6	4–10
Születési súly [g]	2,5–3,0	70–100	30–100
Választási súly [g]	–	180–240	–
Választás ideje [nap]	20–30	15–28	35–56

Forrás: L.F.M. Van Zutphen, V. Bauman és A.C. Beynen: A laborállat-tudomány alapelvei – Válogatott fejezetek, Laborállat-tudományi Társaság, 2007, 3. fejezet

## 8.7. A kutya

Rend: Ragadozók (*Carnivora*)  
 Alrend: Kutyaalkatúak (*Caniformia*)  
 Család: Kutyafélék (*Canidae*)  
 Alcsalád: Valódi kutyaformák (*Caninae*)  
 Nemzetség: Kutya (*Canini*)  
 Nem: *Canis*  
 Faj: *Canis lupus*  
 Alfaj: *Canis lupus familiaris*

Kutya (*Canis familiaris*) keverék fajták mellett a beagle (10–12 kg) a leggyakoribb laboratóriumi állat. A beagle-t fölöttébb alkalmassá teszi tanulékonyága, továbbá,

hogycsoportban és egyedileg is tartható. A kutya húsevő, a kereskedelmi kutyatápok megfelelőek a táplálásukhoz. Fogképlete:  $2 \times (2M4P1C3I/3M4P1C3I) = 42$ . Évente kétszer (egy esetben háromszor) ivarzanak (tüzelnek), a teljes ivari ciklus hossza 6 hónap, a tüzelés rendszerint 21 napig tart. A kutyák szaglása (a szaglóhámja negyvenszer nagyobb, mint az emberé) és hallása az emberénél sokkal fejlettebb. Látása elsősorban a sötétben jobb (*tapetum lucidum* réteg), azonban színlátása gyenge.

A kísérleti célokra felhasznált kutyák száma az elmúlt tíz évben egyre csökkent. A kutyákat elsősorban a vakcinák és gyógyszerek kipróbálására, sebészeti technikák kifejlesztésére, valamint a szív- és érrendszeri megbetegedések kutatására veszik igénybe.

### 8.8. A macska

Rend:	Ragadozók ( <i>Carnivora</i> )
Alrend:	Macskaalkatúak ( <i>Feliformia</i> )
Család:	Macskafélék ( <i>Felidae</i> )
Alcsalád:	Macskaformák ( <i>Felinae</i> )
Nem:	<i>Felis</i>
Faj:	Vadmacska ( <i>Felis silvestris</i> )
Alfaj:	<i>Felis silvestris catus</i>

A házi macska (*Felis catus*) ragadozó, húsevő állat, ezért kimondottan macskák-nak előállított táppal kell etetni (a táp-nak taurint kell tartalmaznia). Fogképlete:  $2 \times (1M3P1C3I/1M2P1C3) = 30$ . Kiváló látással (sötétben jobb az emberénél is, tapetum lucidum jelenléte) és hallással bír, valamint fejlett szaglással (Jacobson-szerv vagy más néven vomeronazális szervvel) és tapintással rendelkezik.

Territoriális állatok, területüket vizeletspricceléssel és a felületek feromonokkal történő bekenésével jelölik meg. A szaporító szervrendszerhez a hímeknél a pénisz és a herezacskóban található herék tartoznak. A nőstény macskák szezonálisan polyostrusosak, de kisebb hányaduk folyamatosan pározhat. Poligámiában is jól szaporíthatók.

Az ivarzás felismerése a viselkedésben történő látványos változások észlelését jelenti (erőteljes hanghatások). Az ovuláció indukált (a párzás váltja ki a tüszőrepedést). A nőstények petefészké az altesti üregükben található, méhük Y alakú.

Az utóbbi évtizedben a kísérleti macskák száma erősen lecsökkent. A macska a gyógyszerfejlesztések, a különösen rövid ideig tartó általános érzéstelenítés, a neurológiai, valamint a szív- és érrendszeri megbetegedések modellállata. Anatómiai és élettani adatok a 8.4. táblázatban.

### 8.9. A sertés

Rend:	Párosujjú patások ( <i>Artiodactyla</i> )
Alrend:	Disznóalakúak ( <i>Suina</i> )
Család:	Disznófélék ( <i>Suidae</i> )
Alcsalád:	<i>Suinae</i>
Nemzetség:	<i>Suini</i>
Nem:	<i>Sus</i>
Faj:	<i>Sus scrofa</i>

Az európai vaddisznó (*Sus scrofa*) valószínűleg az ázsiai sertés (*Sus vitatus*) leszármazottja. Számos változata, fajtája fejlődött ki. Az orvosbiológiai kutatásokban a közönséges fajták, úgymint a landrace, a yorkshire, a törpesertések közül a német göttingeni, az amerikai pittmoore, minnesota és yucatan változatok szerepelnek. Még kisebb fajták (ún. mikrosertés) is elérhetőek.

A sertés mindenevő, orrkorongjával keresi fel, majd fogaival és nyelvvel veszi fel a takarmányt. Ajkai rövidek, kevésbé mozgékonyak, szőrzetük gyér. A felső ajak az orrnyílások tájékával együtt orrkorongot, rostrumot, képez. Fogképlete:  $2 \times (3M4P1C3I/3M4P1C3I) = 44$ .

A vakcinafejlesztés és táplálkozástudomány során igénybe vett sertések száma igen korlátozott (1% alatt) az összes laborállathoz viszonyítva. A sertés az ember modellállata, a bőr, a csontváz-, az emésztő- és a keringési rendszer, valamint a hasnyálmirigy és a vese nagyfokú hasonlósága miatt.

Alkalmazási területe ezért széles körű: szív- és érrendszeri kutatások, bőrpermeabilitás, szájon át adott gyógyszerek és táplálékok, újszülöttkori vesebetegségek, immunológia, fogászati kutatások, sebészeti beavatkozások módszertana (mellkasebészet, idegsebészet, szívsebészet, érsebészet, emésztőrendszer sebészete, parenchymás szervek sebészete, minimálisan invazív technikák oktatása), szívbillentyűk, bioprotézisek, transzplantációs kutatások. A sertésmodellek fő előnyei: nagy anatómiai és élettani hasonlóság az emberhez, jó alkalmazkodóképesség, alacsonyabb költségek.

8.4. táblázat. A kutya, a macska, a sertés, a juh és a kecske környezeti igénye és néhány élettani tulajdonsága

Környezeti igény	KUTYA	MACSKA	SERTÉS	JUH/KECSKE
Hőmérséklet (°C)	15–21	15–21	17–24	10–24
Relatív páratartalom (%)	40–60	40–60	40–60	40–60
Szellőzés (m <sup>3</sup> /h/állat)	20–80	20–50	100–180	100–150
Megvilágítás/sötétség (óra)	–	–	–	–
Min. ketrecméret (cm <sup>2</sup> )				
egyedi elhelyezés, felnőtt	0,75–1,75	0,2–0,6	0,35–0,8	1,4/1,6
tenyészállat a kicsivel	–	2	–	–
csoportos tartás/felnőtt	1–4	0,2–0,6	0,2–2,5	0,7 / 0,8
Min. ketrecmagasság (cm)	60–180	50	50–80	1200–2000
<b>Általános élettan</b>				
Testsúly, felnőtt (kg)				
hím	10–80	3–7	200–300	50–70
nőstény	10–60	3–4	150–220	50–60
Élettartam (év)	10–15	10–17	14–18	10–15
Szívverés (szám/min)	80–150	100–120	60–90	70–80
Légzés (szám/min)	20–30	20–40	8–18	12–25
Testhőmérséklet (°C)	38–39	38–39,5	38–40	38,5–40
Kromoszómaszám (2n)	78	38	38	–
Vízfelvétel [ml/100 g/nap]	–	0,03–0,25	2–6	–
Ivarérettség [hó]				
nőstény	8–14	6–8	5–7	6–10
hím	7–8	6,5–7	5–7	6–10
Tenyészérettség [hó]				
nőstény	>12	10–12	>7	>10
hím	9–14	>12	>7	>10
Ivari ciklus [nap]	4–8 (hó)	15–18	18–24	14–20/15–24
Vemhességi idő [nap]	63–67	60–65	110–118	144–155
Alomnagyság	3–6	3–5	11–16	1–2
Születési súly [g]	200–500	90–130	900–1600	–
Választási súly [kg]	1,5–4	0,6–0,8	6–8	–
Választás ideje [hét]	6–7	7	4–7	4–8
Vérparaméterek				
Vértérfogat [ml/kg]	72–74	65–75	74	80/60–70

8.4. táblázat folytatása

Környezeti igény	KUTYA	MACSKA	SERTÉS	JUH/KECSKE
Haemoglobin [g/100 ml]	12–17	11–14	11–13	11–13/8–12
Haematocrit [%]	37–55	24–55	41	32/34
Fehérvérsejtszám [x1000/mm <sup>3</sup> ]	7–17	9–20	8–16	15–20/8–12
Vércukorszint [mg/100 ml]*	60–80	75–110	60–90	30–60

\*: a testsúlytól és/vagy a testmagasságtól függően

Forrás: L.F.M. Van Zutphen, V. Bauman és A.C. Beynen: A laborállat-tudomány alapelvei – Válogatott fejezetek, Laborállat-tudományi Társaság, 2007, 3. fejezet

## 8.10. Kérődző állatok (juh, kecske)

Rend: Párosujjú patások (*Artiodactyla*)  
 Alrend: Kérődzők (*Ruminantia*)  
 Alrendág: *Pecora*  
 Család: Tülkösszarvúak (*Bovidae*)  
 Alcsalád: Kecskeformák (*Caprinae*)  
 Nem: Vadjuh (*Ovis*) *Capra*  
 Faj: Juh (*Ovis aries*) Kecske (*Capra aegagrus*)  
 Alfaj: *Ovis aries aries*, *Capra aegagrus hircus*

A juh (*Ovis aries*) és a kecske (*Capra hircus*) felhasználása az orvosbiológiai kutatásokban korlátozott számú, a gerincesek kevesebb mint 0,2%-a. Kérődző állatok a valódi gyomruk (oltógyomor) mellett 3 előgyomoruk van: bendő, recés, százzrétű. Fogképletük: 2 × (3M3P0C0I/3M3P0C4I) = 32. A mikrobiológiai táptalajok vérdonorjai, az ellenanyag-termelés, sebészeti beavatkozások és számos más kutatási téma modellállatai. A vemhes juh a perinatalis kutatásokban is igénybe vehető.

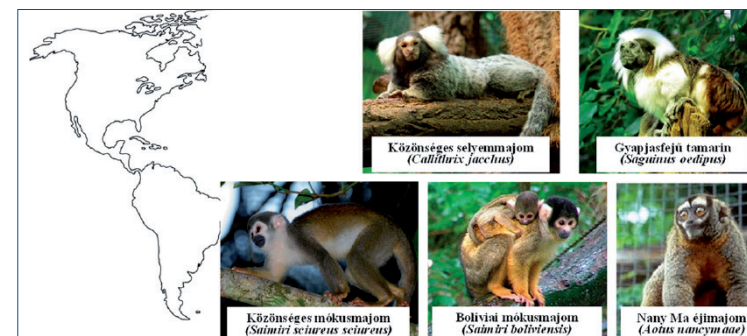
## 8.11. Ritka laboratóriumi/kísérleti állatok

## 8.11.1. Főemlősök

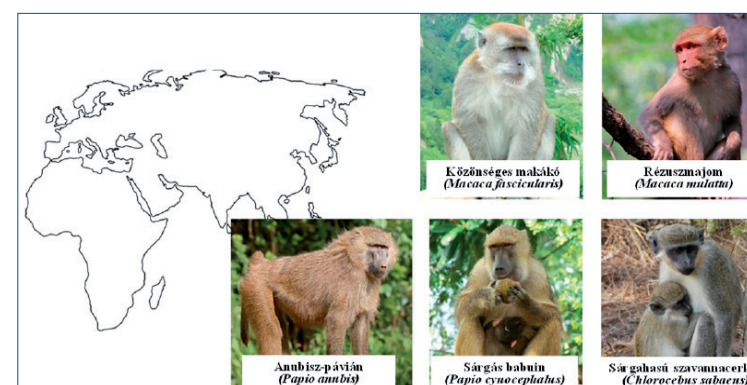
	Közönséges selyemmajom	Gyapjasfejű tamarin	Közönséges mókusmajom	Bolíviai mókusmajom	Rövidszőrű bagolymajom
Rend	Főemlősök ( <i>Primates</i> )				
Alrend	Orrtükör nélküliek ( <i>Strepsirrhini</i> )				
Alrendág	Szélesorrú majmok ( <i>Platyrrhini</i> )				Majomalkatúak ( <i>Simiiformes</i> )
Család	Csuklyásmajomfélék ( <i>Cebidae</i> )				Éjjimajomfélék ( <i>Aotidae</i> )
Alcsalád	Karmosmajomformák ( <i>Callitrichinae</i> )		Mókusmajomformák ( <i>Saimirinae</i> )		<i>Aotinae</i>
Nem	<i>Callithrix</i>	<i>Saguinus</i>	<i>Saimiri</i>		<i>Aotus</i>
Faj	<i>Callithrix jacchus</i>	<i>Saguinus oedipus</i>	<i>Saimiri sciureus</i>	<i>Saimiri boliviensis</i>	<i>Aotus nancymae</i>

	Rhesusmajom	Közönséges makákó	Anubisz-pávián	Sárgás babuin	Sárgahasú szavannacerkóf
Rend	Főemlősök ( <i>Primates</i> )				
Alrend	Orrtükör nélküliek ( <i>Haplorrhini</i> )				
Alrendág	Majomalkatúak ( <i>Simiiformes</i> )				
Család	Cerkóffélék ( <i>Cercopithecidae</i> )				
Alcsalád	Cerkófmajomformák ( <i>Cercopithecinae</i> )				
Nem	<i>Macaca</i>		Pávián ( <i>Papio</i> )		<i>Chlorocebus</i>
Faj	<i>Macaca mulatta</i>	<i>Macaca fascicularis</i>	<i>Papio anubis</i>	<i>Papio cynocephalus</i>	<i>Chlorocebus sabaeus</i>

A nem ember szabású főemlősök (non-human primates, NHPs) (8.31. és 8.32. ábrák) kutatásokban való alkalmazása: toxikológiai tesztek, neurológiai kutatások, endokrinológia, viselkedés- és tanulmányvizsgálatok, szaporodásbiológia, kardiológia, genetikai kutatások, xenotransplantatio. Az újvilági majmok fogképlete:  $2 \times (M3P3C1I2/M3P3C1I2) = 36$  vagy  $2 \times (M2P3C1I2/M2P3C1I2) = 34$ , míg az óvilági majmoké:  $2 \times (M3P2C1I2/M3P2C1I2) = 32$  szerint alakul.



8.31. ábra: Kísérletekbe vont újvilági majomfajták



8.32. ábra: Kísérletekbe vont óvilági majomfajták

## 8.11.2. A kilencöves tatu

Rend: Páncélos vendégízületesek (*Cingulata*)  
 Család: Övesállatok (*Dasypodidae*)  
 Alcsalád: *Dasypodinae*  
 Nem: *Dasypus*  
 Faj: *Dasypus novemcinctus*

A kilencöves tatu (*Dasypus novemcinctus*) egy petesejtjéből négyes ikrek (azonos neműek) születnek: monozigóta testvérek. Gyenge immunrendszer, alacsony testhőmérséklet (32–35 °C) jellemzi. Fogképlete:  $2 \times (M3P4C1I1/M3P4C1I2) = 34$ . Kutatási terület: tesztállat a leprakutatásokban, tífusz, többes ikrek, szervátültetés, születési rendellenességek, immunológia, kemoterápia, epidemiológia. Szerepe a leprakutatásban: erőteljes tünetek, rövidebb lappangási idő, antitest termelődik.

## 8.11.3. A vadászgörény

Rend:	Ragadozók ( <i>Carnivora</i> )
Alrend:	Kutyaalkatúak ( <i>Caniformia</i> )
Család:	Menyétfélék ( <i>Mustelidae</i> )
Alcsalád:	Menyétformák ( <i>Mustelinae</i> )
Nem:	<i>Mustela</i>
Alnem:	<i>Putorius</i>
Faj:	<i>Mustela putorius furo</i>

A vadászgörényt (*Mustela putorius furo*) közel 30 féle színmutáció jellemzi. Valódi húsevő. Fogképlete:  $2 \times \text{M1P3C1I3/M2P3C1I3} = 34$ . A vadászgörénynek 5 pár nyálmirigye van: gl. parotis (fültőmirigy), gl. mandibularis (áll alatti nyálmirigy), gl. sublingualis (nyelv alatti nyálmirigy), gl. zygomaticus (járom alatti nyálmirigy), gl. molaris (záfogi nyálmirigy). A gyomra együregű, zsákszerű, tágulékony. A vékonybél rövid és tagolatlan, nincs vakbele és féregnyúlványa. A bélfóra nem számottevő, nincs rostemésztés. A hasnyálmirigyük kétlebenyű, a májuk relatíve nagy. Nincs prosztatája, a végbélmirigy páros, kevés a verejtékmirigy. Viszonylag magas a haematocrit, a lépben sok a megakaryocita. Kutatási terület: víruskutatás (influenza, rubeola, kanyaró), gyógyszerkutatás, toxikológia, szaporodásbiológia, cerebrovascularis kutatások (macska alternatívája).

## 8.11.4. Madarak

Bőrük nem tartalmaz izzadság- és faggyúmirigyeket. A madarakban hiányzik a rekeszizom, a tüdő a bordákhoz kapcsolódik, kifejlődött náluk a légzőrendszer. A hasüreg kicsi, magában foglalja a zúzógyomor hátulsó részét, a beleket, a lépet és a petefészkeket a petevezetővel vagy a heréket és az ondóvezetékét. A madaraknak húgyhólyagjuk sincs, a vizeletet a húgyvezeték szállítja, ami majd a cloaca-ban nyílik. A vörösvérsejtek ovális alakúak és magvasak. Hiányoznak a thrombocyták, helyettük magvas vérlemezkék vannak. A tojó madár heterogamétás (két különböző ivari kromoszóma, ZW), a hím pedig homogamétás (ZZ).

A magevőkben a táplálék az amiláztartalmú nyállal keveredik a szájüregben, majd bekerül a begybe, ahol előemésztődik. Az emésztés a pepszint és sósavat tartalmazó gyomornedv hatására az előgyomorban (mirigyes gyomor) folytatódik tovább. A magvak, a takarmány megőrlésének színhelye a zúzógyomor.

	Házityúk	Fürj	Házigalamb	Kacagó gerle
<b>Rend</b>	Tyúkalakúak ( <i>Galliformes</i> )		Galambalakúak ( <i>Columbiformes</i> )	
<b>Család</b>	Fácánfélék ( <i>Phasianidae</i> )		Galambfélék ( <i>Columbidae</i> )	
<b>Alcsalád</b>	Fácánformák ( <i>Phasianinae</i> )	Tyúkformák ( <i>Gallinae</i> )	Galambformák ( <i>Columbinae</i> )	
<b>Nem</b>	<i>Gallus</i>	<i>Coturnix</i>	<i>Columba</i>	<i>Streptopelia</i>
<b>Faj</b>	<i>Gallus gallus</i>	<i>Coturnix coturnix</i>	<i>Columba livia</i>	<i>Streptopelia risoria</i>
<b>Alfaj</b>	<i>Gallus gallus domesticus</i>	–	<i>Columba livia domestica</i>	–

A házityúk (*Gallus gallus*) embriói: virológia, fejlődéstan, toxikológia.

Házigalamb (*Columba livia*), kacagó gerle (*Streptopelia risoria*), fürj (*Coturnix coturnix*): embriológia, farmakológia, toxikológia.

## 8.11.5. Hüllők

A hüllők – teknősök, kígyók és gyíkok – szerepe a kutatásokban nagyon korlátozott. A főbb területek, ahol igénybe veszik őket: a zoológia, immunológia és az endokrinológia.

## 8.11.6. Kétéltűek

	Afrikai karmosbéka	Nyugati karmosbéka	Gyepi béka	Északi leopárdbéka	Axolotl
<b>Rend</b>	Békák ( <i>Anura</i> )				Farkos kétéltűek ( <i>Caudata</i> )
<b>Család</b>	Pipabékafélék ( <i>Pipidae</i> )		Valódi békafélék ( <i>Ranidae</i> )		Harántfogú gőtefélék ( <i>Ambystomatidae</i> )
<b>Nem</b>	<i>Xenopus</i>		<i>Rana</i>		<i>Ambystoma</i>
<b>Faj</b>	<i>Xenopus laevis</i>	<i>Xenopus tropicalis</i>	<i>Rana temporaria</i>	<i>Rana pipiens</i>	<i>Ambystoma mexicanum</i>

Az afrikai karmosbéka (*Xenopus laevis*), nyugati karmosbéka (*Xenopus tropicalis*), gyepi béka (*Rana temporaria*), északi leopárdbéka (*Rana pipiens*), valamint az axolotl vagy mexikói szalamandra (*Ambystoma mexicanum*) tudományos célra a leggyakrabban használt kétéltű. Mindegyik faj nagyszámú petét rak a vízbe, amelyek alkalmasak az organogenesis tanulmányozására. Oktatásban, gyógyszerkutatások során, elektrofiziológiai kutatásokban, a petesejtben

a membráncsatornák működését vizsgálják, régebben terhességi tesztek elvégzésére alkalmazták (*Xenopus laevis*). Gáztranszport, iontranszport, regenerációs képesség tanulmányozása a mexikói szalamandrakon történik.

#### 8.11.7. Halak

A kísérleti gerincesek ~6–10%-a hal. A halak sajátos felhasználási területe a (környezet) toxikológiai kutatás, ivóvíz-ellenőrzés, genetika, fejlődésgenetika. A legfőbb fajok a guppi (*Poecilia reticulata*), a zebradánió (*Brachydanio rerio*), a pisztráng (*Salmo trutta*) és a pontyfélék családjának tagjai.

	Guppi	Zebradánió	Pisztráng
<b>Rend</b>	Fogaspontyalakúak ( <i>Cyprinodontiformes</i> )	Pontyalakúak ( <i>Cypriniformes</i> )	Lazacalakúak ( <i>Salmoniformes</i> )
<b>Család</b>	Áleleveníztető fogaspontyfélék ( <i>Poeciliidae</i> )	Pontyfélék ( <i>Cyprinidae</i> )	Lazacfélék ( <i>Salmonidae</i> )
<b>Alcsalád</b>	<i>Poeciliinae</i>	<i>Danioninae</i>	Lazacformák ( <i>Salmoninae</i> )
<b>Nem</b>	<i>Poecilia</i>	Dánió ( <i>Danio</i> )	<i>Salmo</i>
<b>Faj</b>	<i>Poecilia reticulata</i>	<i>Danio rerio</i>	<i>Salmo trutta</i>

#### 8.11.8. Egyéb fajok

Csak említés szintjén soroljuk fel a kutatásokban alkalmazott további kísérletbe vonható állatokat, a teljesség igénye nélkül. Így az ízeltlábúak közül a vízibolha (*Daphnia pulex*), konyhai csótány (*Blatta orientalis*), a korábban genetikai kutatásokban sokat használt közönséges muslica (*Drosophila melanogaster*), valamint a lisztkukac (*Tenebrio molitor*) számos kutatás alanyai voltak. A férgek közül a *Nippostrongylus brasiliensis* és *Caenorhabditis elegans*, a puhatestűek közül a spanyol meztelen csiga (*Arion lusitanicus*) és a fejlábúak (*Cephalopodes*): polip, csigáspolip, tintahal említésre méltóak. Az emlősök osztályából a csupasz turkáló vagy csupasz földikutya (*Heterocephalus glaber*) a kötőszövet- és rákkutatás alanya.

## 9. Kísérleti állatok anesztéziája

### A fájdalom

A fájdalom meghatározása az International Association for the Study of Pain (IASP, 2019) szerint: a fájdalom „A tényleges vagy potenciális szövetkárosodással összefüggő, vagy ahhoz hasonlóan megjelenő kellemetlen érzékszervi és érzelmi tapasztalat”. A fájdalomnak negatív következményei vannak (stresszválasz), számos élettani funkció is zavart szenved, torzulnak a kísérleti adatok. A fájdalmat, szenvedést mind erkölcsi, mind tudományos okokból minimálisra kell csökkenteni. A 3R elv teljesülésének szempontjából különösen fontos a fájdalomcsillapítás, mind a műtét előtti, alatti és utáni időszakban.

A 40/2013. (II. 14.) Kormányrendelet az állatkísérletekről a következőképp rendelkezik a kísérletekben esetlegesen fellépő fájdalom csillapításáról, az általános és helyi érzéstelenítésről:

10. § (1) A kísérletet indokolt esetben általános vagy helyi érzéstelenítéssel kell végezni, vagy fájdalomcsillapítással, vagy egyéb megfelelő módszerrel a lehető legkisebbre kell csökkenteni a fájdalom, szenvedés és kín mértékét. A rendkívüli fájdalmat okozni képes, súlyos sérüléssel járó kísérlet kizárólag érzéstelenítéssel végezhető.

(2) Az érzéstelenítés alkalmazásának indokoltságára vonatkozó döntés meghozatalakor figyelembe kell venni, hogy:

a) az érzéstelenítés nem okoz-e előreláthatólag nagyobb traumát az állatnak, mint maga a kísérlet; és

b) az érzéstelenítés nem összeegyeztethetetlen-e a kísérlet céljával.

(3) Az állat csak a megfelelő szintű érzéstelenítés vagy fájdalomcsillapítás alkalmazása mellett kaphat bármilyen gyógyszert, amely megakadályozza vagy korlátozza fájdalma kimutatásában. Az ilyen kezelés szükségességét tudományosan meg kell indokolni, részletesen ismertetve az alkalmazott érzéstelenítés vagy fájdalomcsillapítás módját.

## Műtét előtti teendők

A táplálék megvonása: bizonyos fajoknál (macska, kutya, sertés, nem ember-szabású főemlősök) akár 12–24 órás koplaltatás is ajánlott, más fajoknál (egér, patkány, hörcsög, nyúl) nem szükséges, sőt ellenjavallott. A műtét napján súlymérés szükséges, a gyógyszerek pontos adagolásához. A műtét területét elő kell készíteni: így szőrteleníteni, izolálni, fertőtleníteni.

## Az altatás gyógyszeres előkészítése, premedikáció

Célja az állat nyugtatása, az altatószer adagjának és ezáltal az ébredési idő csökkentése, fájdalomcsillapítás, a nemkívánatos vegetatív hatások kiiktatása, első-sorban paraszimpatikus tünetek, így a nyálzás, hörgőváladék fokozódása, hányás megakadályozása.

### *Acepromazin*

Az acepromazin jellemzői: nyugtató, neuromuszkuláris relaxáció, hányáscsillapító és görcsoldó hatás. Az anesztetikumok hatását elnyújtja, a bevezetéshez használt barbiturátok mennyiségét csökkenti, általános anesztézia esetén megnyújthatja az utóalvást. Mellékhatások: testhőmérséklet-csökkenés, vérnyomáscsökkenés, leukopenia, antihisztamin hatás. Célállatfajok: ló, kutya, macska. Beadási mód i.p., i.m., i.v., s.c., per os. Készítmények: Vetranquil 1% injekció AUV, Tranquigel 35 mg/g, Sedalin gél, Vetranquil granulátum, tableta.

### *Azaparon*

Egy neuroleptikus hatású butirophenon, kifejezetten szedatív, narkózis nélkül. Célállat: sertés. Beadás módja: i.m. Készítmények: Stresnil 4% injekció AUV.

### *Atropin*

Az atropinum sulfuricum egy paraszimpatolitikum, amely csökkenti a nyál-elválasztást, a bronchusmirigyek működését, megszünteti a verejtékezést, gyomornedv-elválasztást, simaizomtónus-csökkentő hatású, szapora szívverést (tachycardiát) okozhat. Túladagolás: excitáció, epilepsziászerű görcsök. Az állatfajok többségénél alkalmazható. Beadása: i.m., s.c.

Az érzéstelenítés lehet: általános vagy helyi érzéstelenítés.

## Általános érzéstelenítés

Az általános érzéstelenítési technikák közé tartozik minden olyan módszer, amelynek során a fájdalomérzet kikapcsolása öntudatvesztéssel jár. Formái:

- inhalációs altatás: altatógázok alkalmazásával
- injekciós altatás: az injekciós altatószerek összetételüktől függően különböző módon adagolhatóak. Kísérleti állatok esetén izomba (i.m.), vénába (i.v.) és hasüregbe (i.p.) történhet a beadásuk.

Gyakran az általános érzéstelenítés bevezetése injekciós altatószerrel történik, és annak fenntartását végzik altatógázzal.

### *Inhalációs anaesthesia*

Általános jellemzők: Hipnózis – tudatvesztés (több szakasz különíthető el), izomrelaxáció, jellemző az analgesia hiánya. Mellékhatások: keringésdepresszió, vérnyomáscsökkenés, szívritmuszavar (pl. halothan), altatás utáni excitatio.

- dinitrogén-monoxid
- dietil-éter (ma már nem javasolt)
- halotán
- polifluorozott anesztetikumok: izoflurán, szevoflurán, dezflurán, enflurán

### *Dinitrogén-monoxid (kéjgáz, nitrogénoxidul)*

Horace Wells alkalmazta először a fogászatban (1844). Kis dózisban mámort, nevetést, hallucinációt vált ki a betegből, nagy dózisban érzéstelenítő, narkotikum, ezért használják az altatásban. Önmagában azonban nem alkalmazható, bár kiváló fájdalomcsillapító, csökkenti a többi altatógáz dózisát. Nincs keringés- és légzésdeprimáló hatása, biztonságos, azonban nem túl hatékony, magas a hypoxia veszélye és felhalmozódhat az üreges szervekben.

### *Halotán*

Az egyik leghatékonyabb inhalációs anaestetikum, azonban teratogén, karcinogén, hepatotoxikus, arrhythmogén. A bevezetési és ébredési fázis is hosszú, az excitatio gyakoribb. Ezeknek a negatív tulajdonságoknak a következtében napjainkban világszerte visszaszorult a használata.

### *Izoflurán*

Az izoflurán rosszabbul oldódik zsírbán, mint a halotán, az altatás bevezetése és az ébredés is gyors. Gyengén fájdalomcsillapító, mérsékelt izomrelaxáns,

a keringést kevésbé, a légzést jobban gátolja, mint a halotán, metabolizmusa a májban alacsony. Indító koncentrációja 5%, fenntartó koncentrációja 1,5–3%.

### *Szevoflurán*

Biztonságos, kevés mellékhatása van, a bevezetési és az ébredési fázis nagyon gyors, excitatio alig tapasztalható. Az indukció koncentrációja: 8%, de patkányban 5% is elegendő lehet. A koncentráció fenntartáshoz: 1–2% (patkányban). A 3,5–4%-os koncentráció is alkalmas, de ez már könnyen légzésdepressziót okozhat patkányokban (Lantos János közlése alapján).

### A narkózis stádiumai

Guedel 1927-ben írta le a klinikai narkózis stádiumait éteraltatáskor, emberben. Ezek a következők:

**I. stádium (bódulat szakasz, stadium analgesiae).** A narkózis megkezdésétől az öntudat elvesztéséig tart. Ebben a szakaszban az állatok fájdalomreakciója nagymértékben csökken, majd megszűnik. Ezt az állapotot követi a tudatvesztés, a pupillák átmérője normális, fényre jól reagálnak, a pulzus szaporább és szabálytalan. Ebben a szakaszban kisebb sebészeti beavatkozások elvégezhetők.

**II. stádium (izgalmi szakasz stadium excitationis).** Az öntudatlan kísérleti állat a legkisebb ingerre is igen hevesen reagál, menekülési reakció, hanghatások jelentkeznek. Az izomtónus fokozott, a légzés és a szívverés szapora, a pupillák tágak, fényre jól reagálnak, nem ritka a szemtekeregzés. Gyakori ebben a stádiumban a fokozott nyálzás, a hányás, a száj szélének nyalogatása (kutya, macska). A garat- és a gégereflex jelen van.

**III. stádium (sebészi narkózis szakasza, stadium tolerantiae).** Ez a szakasz a szabályos légzőtevékenység megindulásától a légzés megállásáig tart. Erre a szakaszra jellemző az izomrelaxáció is: az izomtónus fokozatosan csökken (a bordaközi izmoké is). Megszűnik az izgalmi szakra jellemző izomtónus-fokozódás, izommerevség, a védekező reflexek is megszűnnek.

Ez a szakasz további négy részre osztható:

- **III/1. stádium.** A légzés szabályos, egyenletes. Erősebb fájdalomingerekre a légvételek mélyülnek. A szemgolyók mozgása megtartott, a szemtekék néha excentrikusan helyezkednek el. A pupillák szűkülnek, fényre reagálnak. Kötőhártya (conjunctiva) reflex már nem váltható ki. Gyengül a szaruhártya-, a nyelési, a hányási és a köhögési reflex, a könnyelválasztás viszont fokozódik.

- **III/2. stádium.** A szemmozgás megszűnésétől a mellkasi légzés csökkenéséig tart. A szemtekék középre fixált helyzetben vannak, a pupillák közepesen tágak, fényre reagálnak. A szaruhártya (cornea) reflex megszűnik, egyes fajoknál (kutya) a szemgolyó befelé és lefelé fordul, a pislogóhártya előesik. Csökken a légzés volumene és frekvenciája, a kilégzés dominál, csökken a vázizomzat tónusa. *A sebészi beavatkozásra legalkalmasabb periódus.*
- **III/3. stádium.** A mellkasi légzés gyengül, majd megszűnik, és a rekeszi légzés veszi át a szerepet. A szakasz mélypontján belégzéskor a bordák behúzódnak. A belégzés egészen megrövidül, ezt légzési szünet követi a kilégzés előtt: belégzés – szünet – kilégzés, ez háromfázisú légzés. A pupillák tágak, fényre alig reagálnak. A simaizmok tónusa csökken.
- **III/4. stádium.** A bordaközi izmok bénulása, a légzési térfogat fokozatos csökkenése, a rekeszizom által fenntartott felületes légzés, a háromfázisú légzés a jellemző. A spontán légzés megszűnik. A pupillák tágak, fénymerevek. A vérnyomás süllyed, a pulzus szapora, a nyálkahártyák cianotikusak, a keringés súlyos zavara áll be.

**IV. stádium (túlaltatás, stadium asphyxiae).** Az állat a túlaltatás következtében jut ebbe az állapotba. A vérnyomás tovább süllyed, a pulzus szapora, a bőr halvány és a nyálkahártya cianotikus, hideg verítékkal fedett. Az állat tekintete üveges, fényre nem reagáló pupillák, hirtelen kialakuló maximális pupillatágulás és fénymerevség életveszélyre, a légzés vagy a szív megállására utal. Teljes légzésbénulás, lassú szívverés (bradycardia), majd szívmegállás következik be.

Az eredetileg az éternarkózisnál (diethyl-éter, William Morton, 1846) megfigyelt stádiumok klinikai jelei és határai ma a korszerű, kombinált narkózisformák alkalmazása esetén csak részben észlelhetők, gyakran elmosódnak, módosulnak vagy kimaradnak. Ismeretük a helyes és sikeres altatás kivitelezése szempontjából továbbra is nagyon fontos.

### Injekciós anaesthesia

#### *Xylazin*

Egy  $\alpha$ 2-adrenerg receptor agonista, nyugtató, fájdalomcsillapító, izomrelaxáns. Mellékhatások: a vérnyomást először emeli, majd csökkenti, bradycardia, szívritmuszavar, hányás, légzésdepresszió, emeli a vércukorszintet, fokozza a vizeletkiválasztást (polyuria). Célállatfajok: kutya, macska, egér, patkány, tenge-rimalac, sertés, ló, kérődzők stb. Beadás módja i.v., i.m., s.c., i.p. Hatása atipamezol adásával felfüggeszthető. Kereskedelembe kapható készítmények: CP-Xylazin

2% injekció A.U.V., Nerfasin, Rompun. Ritkán alkalmazzák önállóan, elsősorban ketaminnal kombinálják.

#### *Medetomidin*

A medetomidin  $\alpha_2$ -adrenerg receptor agonista, jó felszívódású, vénás adagoláskor szinte azonnal, izomba fecskendezve néhány percen belül hat. Mellékhatásai: bradycardia, atroventrikuláris blokk, emeli, majd csökkenti a vérnyomást, a tüdő, a máj, vese erős bővérűségét, tüdőödémát okozhat. Célállatfajok: kutya, macska. Beadási módja: i.m., i.v., s.c. Kereskedelembe kapható készítmények: Domitor 1,0 mg/ml, Dexdomitor 0,1 mg/ml. Ketaminnal és fentanyllal kombinálható.

#### *Atipamezol*

Az atipamezol egy szintetikus  $\alpha_2$ -adrenerg receptor antagonist, amely visszafordítja a medetomidin és a dexmedetomidin hatását. Mellékhatások: ritkán hányás, nyálzás, lihegés, tachycardia. Célállatfajok: kutya, macska. Beadási mód: i.m., s.c. Kereskedelmi formái: Antisedan injekció AUV, 5 mg/ml, Alzane.

#### *Ketamin*

A ketamin egy disszociatív anesztetikum, amely NMDA-receptor antagonisták csoportjába tartozik. Kiváló fájdalomcsillapító hatása mellett fokozott görcskészség, megnövekedett központi idegrendszeri izgalom, emelkedett koponyaűri nyomás, pulzusszám és vérnyomás jellemzi. Állatfajok: egér, patkány, tengerimalac, nyúl, macska, kutya, sertés, ló, kérődzők. Beadási mód: i.v., i.m., i.p., kereskedelmi formái: CP-Ketamin 10% injekció AUV, Ketalar, Narkamon, Calypsol 50 mg/ml. Számos gyógyszerrel kombinálható: xylazin, medetomidin, acepromazin, diazepam, midazolam. Pszichotrop anyagok 2. jegyzékében (P2) szerepel, ezáltal engedély-, vény- és nyilvántartásköteles anyag.

#### *Tiletamin+Zolazepam*

A két hatóanyag kombinációjának köszönhetően a készítmény számos előnyös tulajdonsággal rendelkezik: így a központi idegrendszer gátlása, a tudat teljes és gyors elvesztése (2–5 percen belül) és a kiváló fájdalomcsillapítás. Alkalmazható vemhes és újszülött állatok érzéstelenítéséhez is. Célállatfajok: szinte minden emlős és madárfajon alkalmazható, sőt egyes kétlábú és hüllőfajokban is. Mellékhatások: a szimpatikus tónus fokozódása, tachycardia, arrhythmia, hyperthermia, megnövekedett koponyaűri nyomás, dóziszfüggő légzésdepresszió, egyes egyedekben az im., sc. beadás fájdalmas. Kereskedelmi formái: Zoletil inj. A.U.V.

#### *Diazepam*

Egy benzodiazepin származék (hasonlóan a midazolamhoz, zolazepamhoz), hipnotikus tulajdonságokkal rendelkező nyugtató szer. Mellékhatások: a diazepam propilén-glikol alapú, ezért izomba kissé fájdalmas a beadása, okozhat haemolysist és vasodilatációt. Állatfajok: rágcsálók, nyúl, macska, kutya, sertés. Kombináció: ketaminnal vagy opioiddal kombinálva. Beadási mód i.v., i.m. Készítmények: Seduxen injekció, Seduxen tableta, Diazepeks injekció.

#### *Butorfanol*

Egy opioid, kevert agonista-antagonista, elsődleges agonista hatása van a kappa receptorokra, általános agonista hatás a  $\mu$  receptorokon. Jó fájdalomcsillapító szer enyhe fájdalomra, sokkal hatásosabb zsigeri (visceralis), mint szomatikus fájdalomcsillapító. Általában mentes minden nem kívánt mellékhatástól, légzési és keringési depressziót nem, vagy csak minimális mértékben okoz a klinikai adagolásban, túladagolva izgatottságot és rossz közérzetet válthat ki. Állatfajok: kutya, macska. Beadási mód i.v., i.m., s.c. Készítmények: Butomidol, Torphadine, Butorgesic. Kombinálható: medetomidinnel, xylazinnal, ketaminnal.

#### *Na-pentobarbital*

Hatásai: teljes tudatvesztés, jó izomrelaxáció, gyenge fájdalomcsillapítás (analgesia). Mellékhatások: csekély a májkárosító hatás, viszont kifejezett a keringési és légzésdepresszió és fokozott a görcskészség. A légzésdepresszív hatás miatt nagyobb koncentrációjú kiszorításban az eutanáziára egyik leggyakrabban használt gyógyszer. Állatfajok: rágcsálók, nyúl, macska, kutya. Beadási mód i.v., i.m., i.p. Készítmények: Nembutal 50 mg/ml, Release 300 mg/ml, Euthasol 400 mg/ml.

#### **Helyi érzéstelenítés**

Helyi érzéstelenítés alkalmazásakor a test meghatározott területén átmeneti érzéstelenséget hozunk létre, miközben az állat ébersége (legalább részben) megmarad. A helyi érzéstelenítők megemelik az idegsejt ingerküszöbét, lassítják az ingerületvezetést, ezáltal az idegsejt nem depolarizálódik és megszűnik az ingerületvezetés. Számos mellékhatással bírnak: helyi szövetizgatás, allergiás reakció, bőrkiütés, az enyhébb központi idegrendszeri tünetektől egészen az erősebb izgalmi tünetekig, mint remegés, görcs, légzésbénulás. Negatív hatással lehetnek a szívre (lassítják az ingerületvezetést) és a keringésre: szívműködés gátlása, perifériás értágulat, sokk.

Az állatkísérletekben a helyi érzéstelenítést ritkán alkalmazzák önmagában, általában kiegészíti az általános érzéstelenítést.

#### *A helyi érzéstelenítés módszerei:*

1. felületi: nyálkahártyák idegvégződéseit lehet bénítani az érzéstelenítő oldatának cseppentésével vagy permetezésével
2. beszűréses (infiltrációs): a beavatkozás környékét több ponton bőr alá adott injekcióval érzéstelenítik
3. vezetéssel: nagyobb területet ellátó idegrost működését blokkolja.
4. ízületbe szúrva, elsősorban diagnosztikai céllal
5. regionális intravénás

#### *Helyi érzéstelenítésben alkalmazott szerek:*

- amino-benzoésav-észterszármazékok: benzocain, chlorprocain, metabutetamin procain, tetracain
- amidszármazékok: articain, bupivacain, lidocain, mepivacain, ropivacain
- benzoésav-észterek: cocain
- egyéb: kapszaicin, etil-chlorid, fenol

#### *Lidocain*

A legtöbb területen alkalmazható, hatása közepes vagy hosszú (60–120 perc). Lebomlása összetett, főleg a májban megy végbe. Készítmények: Lidocain inj. 1%, 2% (0,001% adrenalinnal is) és 10%, Lidocain drazsés, Lidocain 5% kenőcs, 10% spray, Instillagel gél, Cathejell C gél.

#### **Műtét utáni teendők**

##### *Posztoperatív fájdalomcsillapítás*

A 40/2013. (II. 14.) Kormányrendelet az állatkísérletekről a következőképp rendelkezik a műtét utáni fájdalomcsillapításról:

„10. § (4) Amennyiben a kísérlet céljaival összeegyeztethető, megelőző, vagy műtét utáni fájdalomcsillapító szerrel vagy egyéb fájdalomcsillapító módszerrel kell kezelni azt az állatot, amely az érzéstelenítés hatásának elmúlásával vélhetően fájdalmat fog érezni. (5) Amint a kísérlet célja teljesült, megfelelő intézkedéseket kell tenni az állat szenvedésének minimalizálása érdekében.”

#### **A fájdalom jelei kísérleti állatokon**

A fájdalom meglétének jeleit a 9.1. táblázat foglalja össze. A fájdalom jelei lehetnek objektív tünetek, elsősorban heveny fájdalom esetén, ezek a következők:

- pupillatágulat
- pulzus- és légzésszám emelkedés
- vizelet- és bélsárürítés
- hirtelen hangadás

Elhúzódó fájdalom esetén a viselkedésváltozásban megnyilvánuló szubjektív tünetek felismerése nehezebb, hiszen fajonként eltérő viselkedésmintákat kell értékelni. Ezek a magatartásminták lehetnek például az alábbiak:

- nyugtalanság, agresszivitás, védekezés
- visszahúzódás, nyugodt hely keresése
- a mozgás jellegének megváltozása (púposított hát, lassú járás, felborzolt szőr)
- elnyomott testhelyzet felvétele
- étvágytalanság, fogyás
- apátia, a testápolás hiánya
- hanghatások

9.1. táblázat. A fájdalom jelei különböző kísérleti/laboratóriumi állatokban

Faj	Az állat viselkedése	Az állat megjelenése
Patkány	csökkent aktivitás, étvágy és szomj; nyalogatja és védi a fájdalmas területet; öncsonkítás; fokozott agresszió és hangadás; idegenkedés a fajtársaktól	ápolatlan, borzolt szőr; rendellenes, görnyedt testtartás; „vörös könny” porfirin a fejen; szemhéjak részben zárva; tág pupillák; orrfolyás; elfekvés; szapora felszínes légzés
Egér	lásd patkány, fokozódó bajuszmozgás	lásd patkány, porfirin kiválasztás nélkül
Tengerimalac	visít, menekül/csendes, visszahúzódó	lásd patkány
Nyúl	szorongás, visító/síró hangokat ad, agresszív, karmol, harap, felfalhatja a kölykeit, visszahúzódik, mozdulatlan	nyálzás, szapora felszínes légzés, füleit lelapítja és kifele fordítja, hunyorít
Kutya	mar, harap, karmol, nyüszít, ugat/morog, visszahúzódó/agresszív, gyakran vizelet	farkát a két lába közzé húzza, púposít, mereven jár, fekszik, zihál, reszket

9.1. táblázat folytatása

Faj	Az állat viselkedése	Az állat megjelenése
Macska	szokatlanul csendes/sokat nyávog, fúj, morog, karmol, étvágya csökken, erőteljesen nyalja vagy harapdálja a fájdalmas területet	bágyadt, nyakát behúzza, lapul, nem mosakszik, füleit lelapítja és kifele fordítja, hunyorít, bajsza borzolt
Nem ember-szabású majmok	visít, nyög, csökkent táp- és vízfogyasztás, agresszivitás	kuporog, gubbaszt, szomorú tekintettel néz, nem tisztogatja magát

Forrás: Carstens E, Moberg GP. Recognizing pain and distress in laboratory animals. ILAR J. 2000;41(2): 62–71. alapján.

A fájdalomcsillapítás történhet opioid készítményekkel vagy nem szteroid gyulladáscsökkentők adásával.

#### *Buprenorfin*

A buprenorfin egy opioid fájdalomcsillapító, kiváló posztoperatív fájdalomcsillapításra. Hosszú hatása van (4–6 óra). Célállat: kutya, macska, patkány, egér. Beadás módja: i.v., i.m., i.p. A pszichotrop anyagok 2. jegyzékében (P2) szerepel, így engedély-, vény- és nyilvántartásköteles.

#### *Nem szteroid gyulladáscsökkentők*

Elsősorban gyulladáscsökkentő hatásúak, de kiváló fájdalomcsillapító és lázcsillapító hatással is bírnak. Emellett a thrombocyta aggregációt is gátolják és simaizom-görcscsillapító hatással is rendelkeznek. Jellemző mellékhatás a gyomor- és nyombélfekély-képződés, vérzés. Kísérleti állatoknál is alkalmazott gyulladáscsökkentők: Carprofen (Rimadyl), Flunixin, Ketoprofen, Meloxicam, Indomethacin, Ibuprofen, Diclofenac.

#### *Meloxicam*

A meloxicam az oxicam csoportba tartozó nem szteroid gyulladáscsökkentő szer, amely a prosztaglandin szintézis gátlása révén gyulladásgátló, fájdalomcsillapító, lázcsillapító és ödémcsökkentő hatással rendelkezik. Csökkenti a leukociták migrációját a gyulladással szövetekbe. Kismértékben gátolja a kollagén-indukált trombocita-aggregációt, nagyobb mértékben gátolja a ciklooxygenáz-2-t (COX-2), mint a ciklooxygenáz-1-et (COX-1). Mellékhatások: étvágytalanság, hányás, hasmenés, véres bélsár ürítése és bágyadtság. Célállatfajok: egér, patkány, tengerimalac, nyúl, macska, kutya. Készítmények: Meloxidyl® 0,5 mg/ml belsőleges

szuszpenzió macskáknak, Meloxidyl 1,5 mg/ml belsőleges szuszpenzió kutyáknak, Meloxidyl® 5 mg/ml injekció kutyáknak és macskáknak.

#### *Általános teendők*

- egyedi elhelyezés – műtött állatok elkülönítése
- gyógyszerek, így antibiotikumok és infúzió adása (folyadékpótlás)
- testhőmérséklet ellenőrzése – melegítés
- az alapvető biológiai funkciók: étvágy, vizelet- és bélsárürítés napi ellenőrzése, testtömeg mérése
- a sebek védelme műanyag gallérral és/vagy kötéssel, a sebek ellenőrzése és kezelése (fertőtlenítés, kötéscsere) naponta
- varratszedés a 7–14. napon történhet, a seb állapotától függően

## 10. Életjelenségek monitorozása

Kísérletek során a különféle életjelenségek mérésére, monitorozására több módszer ismert (10.1. táblázat), melyek tárháza folyamatosan bővül.

10.1. táblázat. Nem-invazív és invazív vizsgáló módszerek életjelenségek mérésére, monitorozására

Nem-invazív vizsgáló módszerek	Invazív vizsgáló módszerek
Hőmérséklet mérése	Vénás és/vagy artériás nyomás direkt mérése
Vérkeringés monitorozása	Kis vérköri, pulmonalis nyomás
pulzus (frekvencia, ritmus, teltség)	Perctérfogat
nem-invazív vérnyomásmérés	Véráramlás, mikrokeringés mérése
nem-invazív mikrokeringés mérés	
Elektrokardiogram	
Légzés monitorozása	
légzésszám megállapítása	
Vérgázok, kilélegzett gázok monitorozása:	
pulzoximetria	
kapnográfia, kapnometria	
Kiválasztás: a vizelet mennyiségi, minőségi monitorozása	

Posztoperatív (követéses vizsgálatoknál): viselkedés, mozgás, táplálék és vízfogyasztás, kiválasztás, testtömeg, hőmérséklet. Pulzus, vérnyomás, laborvizsgálatok adott kísérleti protokoll szerint.

### 10.1. Testhőmérséklet mérése

Történhet hagyományos higanyos vagy higanymentes (alkoholos) vagy digitális hőmérővel:

- rectalis (állatkísérletekben leggyakrabban alkalmazott)
- vaginális (rectalishoz képest kissé magasabb hőmérséklet)
- szájüreg (állatkísérletekben ritkábban alkalmazott)
- bőrfelszín (a maghőmérsékletnél 4–5 °C-kal kisebb)

Jól alkalmazható az infravörös hőmérő a fülön, szőrmentes bőrfelszínen, szervek felszínén (műtéti beavatkozások során).

Hőmérséklet mérésére alkalmas eszköz összetett monitorozó rendszerek része is lehet.

A hőmérséklet mérését befolyásoló tényezők: a testrészt fedettsége, a környezet hőmérséklete, páratartalom, napszak (cirkadián ritmus), altatás, bizonyos anesztetikumok, immobilizáció, keringési zavarok (indukált vagy spontán létrejövő). Fűtőpárna jelentősége kiemelendő, az altatás és ezzel összefüggő immobilizáció során a testhőmérséklet fenntartására.

### 10.2. A keringési rendszer

A **pulzus** fajra jellemzően igen eltérő lehet. Fizikálisan vizsgálható tapintással az állkapcsban, a farok belső felén, a nyakon vagy a végtagokon.

Megfigyelt jellegzetességek:

- szaporaság: gyakori (frequens) – ritka (rarus)
- ritmus: ritmusos – aritmias, regularis – irregularis
- amplitúdó: magas (altus) – alacsony (parvus) hullámú
- meredekség: gyors (celer) – lassú (tardus)
- elnyomhatóság: kemény (durus) – lágy (mollis)

A pulzoximéter alkalmazása, illetve invazív hemodinamikai monitorozó rendszer is információt ad a pulzusról.

A **vérvnyomás** vizsgálata történhet indirekt vagy direkt módon, függően a kísérleti állattól és a kísérleti elrendezéstől.

*Indirekt, nem invazív eljárások:* nagy laboratóriumi/kísérleti állatoknál a hagyományos mandzsettás módszer végtagokon is alkalmazható. Rágcsálónál (de nagyobb állatoknál is) farokra helyezhető mandzsettás módszer javasolt, amely az oszcillometriára („elektromos” vérnyomásmérés) elvén alapul. Ismertek speciális mandzsettás módszerek elszorítás alkalmazása nélkül.

*Direkt, invazív hemodinamikai monitorozás részeként:* érbe vezetett kanül révén (amely légtelen, minél merevebb és rövidebb legyen). A nyomásmérő transducer membránjának/piezo-elektromos kristályának deformációja biztosítja a mechanikai jel–elektromos jel átalakítást. Az elektromos jel erősítésre (amplifier), majd rögzítésre (recorder) kerül.

A **perctérfogat** meghatározása a Fick-elv alapján, amely szerint a tüdőben felvett oxigénmennyiség egyenlő a tüdővéna és az arteria pulmonalis vére közötti

O<sub>2</sub>-koncentráció-különbség és a tüdő véráramlásának szorzatával. Meghatározható a termodilúciós elv alapján is: ilyenkor a jobb pitvarba vezetett speciális katéteren (Swan–Ganz-katéter) keresztül, bolusban fecskendeznek be hideg fiziológiás sóoldatot és az ezáltal létrehozott hőmérséklet-változást a katéter további szakaszán a tüdővénában (truncus pulmonalis) lévő termoelem érzékeli. Az átmeneti hőmérséklet-változást egy teljesen automatizált és digitalizált berendezés (PiCCO) számítja és írja ki a perctérfogatot.

A PiCCO (Pulse index Continuous Cardiac Output) monitor készülékkel számos keringési paraméter vizsgálható:

- perctérfogat (CO, ml/min)
- szívindex: CO/test felszín (ml/min/m<sup>2</sup>)
- vértérfogat: CO/szívfrekvencia (ml)
- perifériás érellenállás: artériás nyomás – vénás nyomás / CO

Az **EKG (elektrokardiográfia)** jellemzően nagy laboratóriumi állatoknál, de kisállatoknál is alkalmazható. Kutyán, sertésen a mellkasi elvezetések is jól használhatók. Cél az állatkísérletekben is az információszerzés a szív működéséről, szívfrekvenciáról, ritmuszavarokról, a vérkeringésben bekövetkező (ischaemiás) változásokról stb. A humán normál EKG-hoz képest eltérések lehetnek (pl. fordított T-hullám).

Telemetriás módszer alkalmazásával több keringési paraméter is mérhető: pulzus, vérnyomás, EKG. Műtét során a combartériába (a. femoralis) vagy az aortába behelyezett érzékelő/rádióadó segítségével folyamatosan monitorozhatók a kísérleti állat szervezetében létrejövő változások. A módszer előnye, hogy a műtétet követően, egy detektor segítségével, hosszú ideig, az állat kézbevétele nélkül is nyomon követhetők az élettani értékek normális, illetve kóros változásai.

### 10.3. A légzőrendszer

A **légzésszám** az 1 perc alatti be- és kilégzések száma. Állatkísérletekben legyszerűbben megtekintéssel (mellkas és has mozgása) vagy tapintással (bordák mozgása) mérhető. A légzésszám és a nyomásviszonyok együttes vizsgálatára monitorozó rendszerek szükségesek, amelyhez intubáció vagy légcsőmetszés (tracheostomia) elvégzése szükséges.

A **légzési gázok** monitorozása többféle módon történhet.

- *Pulzoximetria*: az artériás oxigénszaturáció és szívfrekvencia mérése a keringési terület infravörösfény-elnyelésének analízise alapján. Jól használható állatkísérletekben is, azonban pozicionálási nehézségek gyakoriak lehetnek. Érdemes kifejezetten állatorvosi eszközt beszerezni.
- *Kapnometria*: kilégzett CO<sub>2</sub> mérése infravörös abszorpciós fotometria módszerével.
- *Kapnográfia*: az endotracheális CO<sub>2</sub> mérése és monitorozása (hullámforma).
- Vérvétel útján (invazív): *vérgázanalízis, sav-bázis paraméterek*.

## 11. Vérvételi módszerek állatkísérletekben

### 11.1. Általános szempontok

A kísérleti állatokból történő vérvételeknél elsődleges szempont az állatot érő stressz lehető legkisebbre való csökkentése, a szenvedés, fájdalom elkerülése, megelőzése. Amíg korábban a kísérleti egyed rögzítése és altatása volt a legkarindánisabb pont, napjainkban egyre nagyobb hangsúlyt fektetnek az állat kézhez való szoktatására, tréningjére, ezáltal minimalizálva a mintavételek során az állatokat ért esetleges negatív hatásokat. Emellett a vérvételt végző személy képzettsége, jártassága is jelentőséggel bír. Mivel a vérvétel a jogszabályok szerint már engedélyköteles beavatkozásnak számít, a kísérletvezetőnek előzetesen már érvényes kísérleti engedéllyel kell rendelkeznie.

Állatkísérletekben a vérvétel lehet *terminális*, amikor altatásban történik a mintavétel, és azt követően eutanáziát végeznek. A *nem-terminális* módszerek során a vérvételt követően az állatok túlélnek.

A vérvétel előtt figyelembe kell venni a kísérleti állat fajtát, fajtáját, genetikai hátterét, súlyát, nemét, korát, hogy milyen gyakran és milyen mennyiségű vért szeretnénk venni, mely vérvételi pontokból (melyik véna, artéria) és milyen módszerrel. A kísérleti állatokból való vérvételnél, hasonlóan az emberekből történő vérvételhez, mindig be kell tartani a sterilitás szigorú szabályait: a tű, a fecskendő, a Vacutainer® rendszer esetén a harang is egyszer használatos kell hogy legyen. Fontos a szúrás területének fertőtlenítése (lehetőleg az állatra nem ártalmas fertőtlenítőszerrel), szükség szerint a szőr nyírása, esetleg borotválása, bár az utóbbit a bőr felhámjának sérülései miatt a szakirodalom nem ajánlja. Fontolóra lehet venni a különböző szőrtelenítő krémek használatát a nehezen hozzáférhető helyeken, azonban ügyelni kell arra, hogy az állat ne nyalja le magáról, valamint a lehetséges allergiás reakciókkal is számolni kell.

Állatkísérletekben a vérvételeknél a legfontosabb kérdések, feladatok:

- mennyi vére van szükség?
- mennyi vére van az állatnak? (11.1. táblázat)
- terminális-e a vérvétel, vagy sem?
- hányszor és milyen időközönként lehet vért venni?
- zavarja-e a vizsgálatot valamilyen szer, infúzió, korábbi kezelés?

- vérvétel utáni teendők a mintával
- teendők az állatokkal

Alapvetés, hogy nem lehet kockáztatni a kísérleti állatok életét. Meg kell tanulni tapasztalt szakemberektől a technikát!

11.1. táblázat. Összefoglaló adatok a laboratóriumi/kísérleti állatfajok vérmennyiségéről (Wolfensohn és Lloyd, 2013 nyomán, módosítva).

Állatfaj	Testtömeg [g]	Átlagos vérmennyiség [ml/kg]	Teljes vérmennyiség [ml]	Maximális vérmennyiség egy mintavételnél [ml]	Várható vérmennyiség terminális vérvételnél [ml]
Egér	18–40	58,5–72	♂: 1,5–2,4 ♀: 1,0–2,4	0,1–0,2	♂: 0,8–1,4 ♀: 0,6–1,4
Patkány	250–500	54–70	♂: 29–33 ♀: 6–19	♂: 2,9–3,3 ♀: 1,6–1,9	♂: 13–15 ♀: 7,5–9
Mongol futóegér	55–100	66–78	♂: 4,5–7 ♀: 3,8–6	♂: 0,4–0,7 ♀: 0,4–0,6	♂: 2,2–3,5 ♀: 1,9–2,9
Szíriai aranyhörcsög	85–150	78	♂: 6,3–9,7 ♀: 7,1–11,2	♂: 0,6–0,9 ♀: 0,7–1,1	♂: 2,9–4,5 ♀: 3,3–5,2
Tengerimalac	700–1200	69–75	♂: 59–84 ♀: 48–63	♂: 6–8 ♀: 5–6	♂: 29–42 ♀: 24–31
Nyúl	1000–6000	57–65	58,5–585	5–50	31–310
Macska	3600–4500	47–65	140–200	14–20	n. a.
Kutya	10 000–15 000**	70–110 <sup>#</sup>	900–1170*	90–110	n. a.
Sertés	erősen fajtafüggő	56–69	13 200–15 000	1320–1500	n. a.

\*beagle fajta esetén,

#különböző kutyaajták között jelentős eltérések lehetnek

A vérmennyiség faj-/ajta- és testtömegfüggő. Nagy általánosságban a becsüléshez a 60 ml/ttkg arány használható.

Általános szabály, hogy a keringő vérmennyiség maximum 10%-a komolyabb gond nélkül levehető (11.2. táblázat). Szintén általános szabály, hogy naponta, de néhány alkalommal (pl. két héten belül) ismételt vérvételnél a keringő vérmennyiség 1%-a vehető le probléma nélkül:

$$0,01 \times \text{keringő vérmennyiség (ml/nap)} (\sim 0,6 \text{ ml/kg/nap})$$

Hetente a vérmennyiség 7%-a vehető le jelentősebb megterhelés nélkül. Fontos tudni, hogy a vérvételeket követően mennyi időre van szüksége az állatnak a teljes haematologiai rendeződéshez (11.2. táblázat). De mindez függ a vérvétel körülményeitől (pl. altatás), módszereitől és fajspecifikus sajátosságoktól is.

11.2. táblázat. Egyszeri vagy ismételt vérvétel után várható haematologiai rendeződési idő a levett vérmennyiség függvényében laboratóriumi patkányokban (McGuill és Rowan, 1989; Joint Working Group on Refinement, 1993)

Egyszeri mintavétel		Többszöri mintavétel	
A levett vérmennyiség [%]	Hozzávetőleges haematologiai rendeződési idő	A levett vérmennyiség 24 órán belül [%]	Hozzávetőleges haematologiai rendeződési idő
7,5%	1 hét	7,5%	1 hét
10%	2 hét	10–15%	2 hét
15%	4 hét	20%	3 hét

Nem-terminális vérvételek után megfigyelendő paraméterek: viselkedés, légzésszám, pulzus, haematologiai paraméterek (ahol lehetséges: Htc, vvs, Hgb, MCV, MCH, MCHC, RDW%, fvs, thr), testsúly, élelem- és folyadékfogyasztás mértéke, kötőhártyaszín, talp/mancs színezete.

## 11.2. Vérvételi lehetőségek az egyes fajokban

### 11.2.1. Egér

Terminális vérvételi módszerek altatásban, nagyobb vérmennyiség nyerésére:

- szív (hátán fektetve, bal bordáknál)
- aorta abdominalis (hasfal megnyitása, szervek eltolásával)
- vena cava caudalis (hasfal megnyitása, szervek eltolásával)

Nem-terminális módszerek kisebb (0,1–0,2 ml) vérmennyiség nyerésére:

- farok vena (vena caudalis lateralis)
- farokvég csonkolás
- vena saphena
- retro-orbitalis plexus vagy sinus

Az oldalsó farokvénából (vena caudalis lateralisból) történő vérvétel során a farok végét melegítjük 40 °C-ra vízfürdő segítségével, vagy az állatot helyezzük egy melegítő dobozba (37–39 °C) 5–15 percre. Ezt követően a már kitágult érből 1 ml-es fecskendővel és 25 G-s tűvel lassú szívással (50–200 µl) nyerünk vért.

A farokvég amputálásával (max. 0,5–1 mm-es vágás a farok legvégéből, lidocainos helyi érzéstelenítés mellett) is történhet a vérvétel. A maximális nyerhető vérmennyiség 0,5–1 ml.

A vena saphena szúrásával vagy a retro-orbitalis plexusból (sinus orbitalis) a belső szemzugból, érzéstelenítés mellett (pl. 1–2% izoflurán), üvegkapillárisal, azt pödörve történik a vérvétel. Ennek a módszernek a hátránya, hogy sok a lehetséges szövődmény: fertőzés, gyulladás, szemgolyósérülés (kötőhártya- és szaruhártya-sérülés), vérömleny kialakulása, amelyek következtében az állat akár meg is vakulhat. A maximális mintavételi térfogat 0,1–0,2 ml, 10–14 naponta maximum 2–3 alkalommal ismételtető.

### 11.2.2. Patkány

Terminális vérvételi módszerek altatásban, nagyobb vérmennyiség nyerésére:

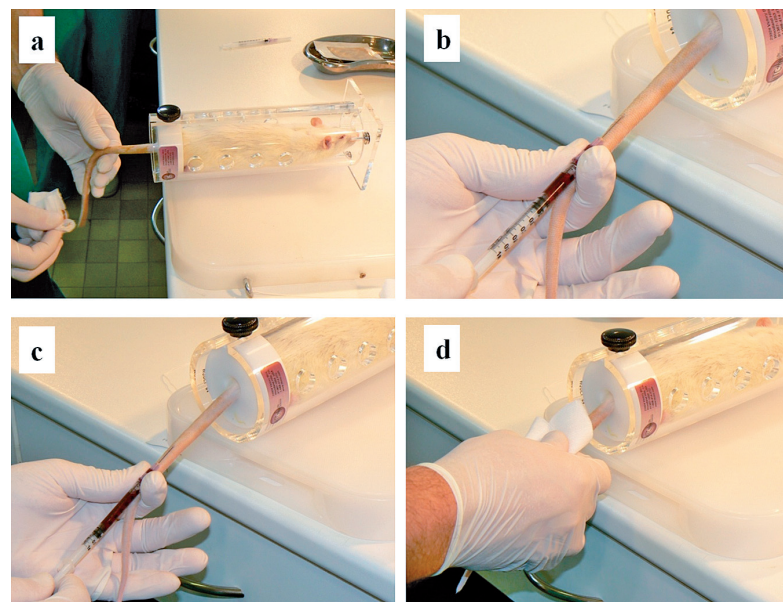
- szív (hátán fektetve, bal bordáknál)
- aorta abdominalis (hasfal megnyitása, szervek eltolásával)
- vena cava caudalis (hasfal megnyitása, szervek eltolásával)

Nem-terminális módszerek kisebb (0,1–0,5 ml) vérmennyiség nyerésére:

- farok vena (vena caudalis lateralis)
- farokvég csonkolás (Lewis, 1976, Dürschlag, 1996)
- vena saphena
- retro-orbitalis plexus vagy sinus (Stone, 1954, Waynforth és Flecknell, 1992, Herck, 1999)
- vena sublingualis (Rauen, 1964, Angelev, 1984, Zeller, 1998, gyógyszer beadására is)
- penis vena (gyógyszer beadására is)
- vena saphena (Hem, 1998)
- vena femoralis (altatásban, preparálással és kanülálással)
- vena jugularis externa (altatásban, preparálással és kanülálással)

Terminális módszereknél az általános, kötelező anesztézia mellett: a szív punkciója, amikor a hátán fektetve, bal bordánál 10 ml/perc sebességgel, körülbelül 5 ml vér nyerhető fecskendővel, 100–150 grammos állatból. További lehetőségek az aorta abdominalis, valamint a vena cava caudalis szúrása: az állat a hátán fekvő, hasfal megnyitását követően, a szervek eltolása után, fecskendővel.

A lateralis farokvénából, az egérenél ismertetett módszerrel végezhető a vérvétel (11.1. ábra): 1 ml-es fecskendővel és 21–23 G-s tűvel, lassú szívással vagy szárnyas tűvel vagy lándzsával szúrva, csepegtetve végezhető. Patkányok esetében, a szúrás megelőzően, lehet használni a faroktő leszorítását egy vékony gumiszalag segítségével. Ezzel a technikával a mintavételi térfogat 0,1–2 ml, hetente ismételtető.



11.1. ábra: Vértétel patkány vena caudalis lateralisből. a: a fark melegítése és fertőtlenítése, b: a vena punkciója (farkvég irányából kezdve, sohasem a fark tövéből!), c: lassú szívás, d: törlővel a vérzés elállítása

Érzéstelenítés mellett, farkvég csonkolással (max. 0,5–1 mm-es vágás a fark legvégéből) kis mennyiségű vér nyerhető, később a heg eltávolításával naponta ismételhető.

A retro-orbitalis plexusból (sinus orbitalis), a belső szemzugból, érzéstelenítés mellett (pl. 1–2% izoflurán), az egérenél ismertetett módszerrel nyerhető vér. Innen akár 0,5 ml vér is vehető.

Intraoperatíván preparálható, kanülálható az a. és v. femoralis, az a. carotis communis, a v. jugularis externa a megfelelő műtéti kautélák betartásával és technikákkal. Steffens módszere szerint (1969) a v. jugularis externa tartós kanülálásakor a kanül subcutan felvezethető és rögzíthető a koponyatetőn, ott lezárható és ismételt vérvétel, illetve folyadékpótlás történhet.

### 11.2.3. Tengerimalac

A vérvétel végezhető a fülvenéből, a vena saphena, a vena cephalica, a penis vena vagy retroorbitalis plexus szúrásával.

Terminális vérvétel céljából a szív, a mellkasi vagy hasüregi nagyobb vénák és artériák is használhatóak.

### 11.2.4. Nyúl

Vérvétel történhet a fül vénából (vena marginalis lateralis), de a fül artéria (arteria centralis) is alkalmas lehet. A stressz csökkentése érdekében bódítást is alkalmazhatunk: i.m. 1 ml/kg acepromazin 5–10 perc várakozással, vagy 10–40 mg/kg ketamin + 3–5 mg/kg xylazin keverék izomba fecskendezésével, majd 5–10 perc várakozás után, a már bódult állatból történik a vérvétel.

Altatásban a vena jugularis externa, terminális vérvétel céljából a szív, a mellkasi vagy hasüregi nagyobb vénák és artériák is használhatóak.

### 11.2.5. Kutya

A vena cephalica és a vena saphena ideális vérvételi hely, ezek az erek ideiglenes kanülök behelyezésére is megfelelőek, az állat szakszerű rögzítése után.

Intraoperatíván alkalmazott módon, vagy tartós kanül beültetésre a vena jugularis externa jól alkalmazható, steril műtéti körülmények között.

### 11.2.6. Sertés

A vérvétel történhet a fülvenéből is, előtte az állat szakszerű rögzítése, nyugtatása, bódítása szükséges.

Altatásban a vena jugularis externa rutinszerűen használható vérvételre, Vacutainer cső segítségével, rögzítés után, valamint tartós kanülálásra is megfelelő. Ugyancsak altatásban használható a vena saphena és a vena femoralis.

### 11.2.7. Halak, kételtűek, hüllők, madarak

Halaknál a fark centrális artériájából és vénájából akár 1 ml vér is nyerhető. Terminális módszer a szív punkciója.

Farkatlan kételtűek, például békák esetében a vena cutanea magna vagy a vena abdominalis (Méhes-módszer) a lehetséges szúrási pont. Farkos kételtűeknél, például szalamandra, axolotl a vena femoralisból vagy a kopoltyúból, anesztéziában (MS222). Terminális módszer a szív punkciója.

Kígyóknál a ventralis fark vena, a hasi vena, a szájpád vénája (palatinus vena) (Olson-, Samour-, Jackson-módszerek), terminálisan a szív punkciója is alkalmas lehet a vérvételre.

Madaraknál a szárnyvéna (vena brachialis) és a lábközépi vena (vena metatarsalis communis) megfelelő vérvételi hely. A vena jugularis externa bódítást követően alkalmazható. Terminális módszer a szív punkciója. Csirkeembrióból a tojáshéjon ejtett lyukon keresztül a köldökartéria (arteria umbilicalis) punkciója tű segítségével és heparinizált üvegapilláris alkalmazásával nyerhető vér (Prof. dr. Várnagy László nyomán).

## 12. In vivo, ex vivo, in vitro technikák és modellek – Izolált szervek preparálásának alapjai

### 12.1. A kísérletes modellek

A kísérletes modellekkel szemben támasztott fontos követelmény, hogy tökéletesen alkalmasak legyenek a kísérlettervezés során felvetett kérdések megválaszolására, és ezáltal értékes adatokat szolgáltatassanak a tudomány számára.

A kísérletes modelleknek három alapvető formája ismert:

- *in vivo* = „élőben”, vagyis magában az élő szervezetben
- *ex vivo* = „élőből” származó
- *in vitro* = „az üvegben”, mesterséges környezetben

Az *in vivo* modellek lehetnek emberi és állati modellek. Az emberi modellek esetén számos etikai és jogi kérdés merül fel. Ennek ellenére önkéntesek részt vesznek a gyógyszer, gyógyászati, pszichológiai vagy táplálkozási vizsgálatokban. Az emberi önkénteseken végzett vizsgálatok legfőbb hátránya, hogy általában nem lehet invazív beavatkozásokat végezni és az adatok mennyisége (pl. a résztvevők korlátozott száma miatt), és minősége (gyakran különböző korú, nemű és ismeretlen társbetegségekkel rendelkező önkéntesek vesznek részt) is gyakran kérdéses. Az állati modellek esetén a különböző állatfajok eltérő mérete, genetikai háttere, ezáltal a megszerzett eredmények gyenge extrapolálhatósága okozhat gondot.

Az élő szervezetben (*in vivo*) nagyon nehéz vagy egyenesen lehetetlen a sejtek, a szövetek és a szervek közötti kapcsolatok felderítése. Ezért szükség van a szervezet részekre (szervekre, szövetekre, sejtekre) történő szedésére, és az eltávolított részek elkülönített tanulmányozására. Ezáltal megállapítható, az élő szervezetten kívül (*ex vivo*) hogyan működnek a kivett, vizsgálni kívánt túlélő részek.

#### *Az ex vivo kutatások történeti áttekintése*

- 1850: Claude Bernard a modern élettan és a kísérletes farmakológia úttörője (curare hatás)
- 1880: Sidney Ringer az izolált szerveken végzett vizsgálatokat, így  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  és  $Cl^-$  ionokat tartalmazó izotóniás sóoldatban (Ringer-oldat) szervezeten kívül életben tartotta a béka izolált szívét

1895: Langendorff – szívpreparátum

1949: Ling és Gerald – transmembrán potenciál

1976: Neher és Sakman – „patch-clamp” technika

1980: Furchgott és Zawadski – EDRF (endothelin derivated relaxing factor)

#### *Leggyakrabban alkalmazott modellek:*

- egész szerv perfúziója (pl. izolált, perfundált szív, az ún. Langendorff-féle preparátum)
- szervfürdő
- szövet szuperfúzió
- primer sejtenyészet vizsgálata
- immortalizált sejtvonalak
- szubcelluláris vizsgálatok
- molekuláris vizsgálatok, gén, fehérje expresszió meghatározások

#### *A kísérleti állatok eutanáziája*

Az *ex vivo* és *in vitro* modellek esetén az állati szervek, szövetek és sejtek kinyerésének érdekében a kísérlet alanyait eutanáziában kell részesíteni. Az állatok leölésénél fontos az etikus, a jogszabályokban előírt helyes kivitelezés. Az eutanáziát gyakorlott, a módszereket jól ismerő személy kell végezze, a többi állattól elkülönítve, ezáltal is csökkentve a többi egyedre érő stresszt.

#### *A kísérleti állatok eutanáziájára használt alapvető módszerek*

- Farmako-kémiai eljárások:
  - általános érzéstelenítő szerek túladagolása (pl. Na-pentobarbital)
  - belélegeztetés (altatógázok vagy  $CO_2$ )
- Mechanikai-fizikai módszerek:
  - taglózás – a fejre mért hirtelen ütés
  - lefejezés (dekapitálás) – kisebb állatokon ollóval, nyaktilóval
  - nyakcsigolya diszlokáció – rágcsálók: egér, patkány
  - elektromos kábítás
  - elvéreztetés (exsanguinatio) altatásban

A kísérleti állatok leölésének módszereit a 40/2013. (II. 14.) Kormányrendelet tartalmazza részletesen (12.1. táblázat és megjegyzései).

12.1. táblázat. A 40/2013. (II. 14.) Kormányrendelet 4. számú melléklete az állatok leölésének módszeréről.

Módszerek, megjegyzések	Halak	Kétéltűek	Hüllők	Madarak	Rágcsálók	Nyulak	Kutyák, macskák, vadászgörények és rókok	Nagytestű emlősök	Főemlős állatok
Altatószer túladagolása	1.	1.	1.	1.	1.	1.	1.	1.	1.
Rögzített ütőszeges kábítópisztoly			2.						
Szén-dioxid					3.				
Nyaki diszlokáció				4.	5.	6.			
Taglózás/ a fejre mért hirtelen ütés				7.	8.	9.	10.		
Lefejezés				11.	12.				
Elektromos kábítás	13.	13.		13.		13.	13.	13.	
Inert gázok (Ar, N <sub>2</sub> )								14.	
Lelövés golyóval, megfelelő pisztoly vagy puska és lőszer alkalmazásával			15.				16.	15.	

**Megjegyzések:**

1. Amennyiben szükséges, előzetes nyugtatással együtt alkalmazandó.
2. Csak nagyméretű hüllőknél alkalmazható.
3. Csak fokozatos feltöltéssel végezhető. Nem alkalmazható magzati állapotú vagy újszülött rágcsálóknál.
4. Csak 1 kg alatti madaraknál alkalmazható. A 250 g feletti madaraknál nyugtatást kell alkalmazni.
5. Csak 1 kg alatti rágcsálóknál alkalmazható. A 150 g feletti rágcsálóknál nyugtatást kell alkalmazni.
6. Csak 1 kg alatti nyulaknál alkalmazható. A 150 g feletti nyulaknál nyugtatást kell alkalmazni.
7. Csak 5 kg alatti madaraknál alkalmazható.
8. Csak 1 kg alatti rágcsálóknál alkalmazható.
9. Csak 5 kg alatti nyulaknál alkalmazható.

10. Csak újszülött állatoknál alkalmazható.
11. Csak 250 g alatti madaraknál alkalmazható.
12. Csak abban az esetben alkalmazható, ha más módszerre nincs lehetőség.
13. Speciális berendezést igényel.
14. Csak sertéseknél alkalmazható.
15. Csak lövészetben járatos személy által, terepen végezhető.
16. Csak terepen, lövészetben járatos személy által végezhető, abban az esetben, ha más módszerre nincs lehetőség.

## 12.2. Szupracelluláris rendszerek

### 12.2.1. Szervek, testtájak, testrészek perfúziós rendszerben

#### A máj

A máj egyike a történetileg elsőként vizsgált és a ma is leggyakrabban alkalmazott perfundált szerveknek. Még 1855-ben Claude Bernard végzett májperfúziós kísérletet, melynek segítségével sikeresen mutatta ki, hogy a máj képes glükóz előállítására. Ezt követően rendszeresen használták az izolált perfundált májat a szerv működésének vizsgálatára. 1951-ben publikálta Leon Miller a patkánymáj perfúziójának módszerét, amellyel megnyitotta az utat a gyógyszeripar számára, a drogmetabolizmus hatékony tesztelésére az izolált-perfundált májban. Az izolált-perfundált máj epevezetékebe is helyezhetünk kanült, aminek segítségével mérhető az epetermelés mértéke, így analizálható az epe összetétele.

#### A szív

Izolált perfundált emlősszívet (kutya) először a német fiziológus Karl Friedrich Wilhelm Ludwig laboratóriumában készítettek az 1800-as évek közepén. Később ugyancsak Ludwig vezetésével dolgozták ki az izolált-perfundált békaszív-preparátumot.

A napjainkban is használatos modellek egyikét Oskar Langendorff dolgozta ki az 1890-es években. Az úgynevezett Langendorff-féle szív modellben az aortába vezetett kanülon át a fiziológiás véráramlás irányával szemben (retrográd módon) pumpálják a szívbe a perfúziós oldatot. Mivel a billentyűk elzárják a folyadék elől a szívkamrát, az kizárólag a koszorús erekbe jut. Az ilyen szív, annak ellenére, hogy pulzál, valódi munkát nem végez, hiszen a jobb kamrába alig jut vér, a bal kamrába pedig egyáltalán nem. A rendszer átalakítása és kiegészítése révén a tüdő véna kanülálásával bal pitvaron át történő perfundálással kialakítható olyan *ex vivo* szívpreparátum, amelyben tesztelhetőek a bal kamra kontrakciójának változásai. Vizsgálható az ingerképzés és -vezetés, a pitvar- és kamrafunkciók, koronária átáramlás.

*A vese*

A vese könnyen perfundálható szerv, mivel egyetlen nagy és jól hozzáférhető artéria vezet hozzá. Az uréterbe kötött kanül segítségével vizelet gyűjthető, mennyisége és összetétele meghatározható.

*Egyéb szervek*

Készültek perfúziós preparátumok, pl. tüdő, mellékvese, pajzsmirigy, hasnyálmirigy, emlőmirigy, ovárium, placenta, szem, bélszakaszok, végtagok, a test a zsigerektől megfosztott hátulsó negyede vagy fele, vagy a szív és a tüdő *ex vivo* vizsgálata.

*12.2.2. Szervfürdők, izolált szervek**Szívpreparátumok*

Bal pitvar, jobb pitvar, papilláris izom, trabekula, meghatározható a kontrakciós erő, erőváltozási sebesség, a csúcsfeszültségig eltelt idő, effektív refrakter periódus.

*Érpreparátum*

Aortacsík és aortagyűrű adrenerg receptor (alfa, béta), hisztamin, szerotonin, közvetlen simaizom.

*Simaizom preparátumok*

- ileum: (patkány, tengerimalac) cholinerg, histaminerg, aktivitás: acetylcholin, histamin, serotonin, barium-chlorid kontrakció; referens vegyületek: atropin, promethazinium, mianserin, papaverin
- trachea: (tengerimalac) béta2 receptor, bronchoconstrictor, dilatator, histaminerg, szerotoninerg hatások
- uterus: (patkány, tengerimalac) PG hatások, béta2 receptor

**12.3. Celluláris rendszerek***Történelmi áttekintés*

1885: Wilhelm Roux csirkeembriókból származó sejteket életben tartott meleg sóoldatban

1907: Ross Granville Harrison sikeresen tenyésztett béka idegsejteket nyirokfolyadékban

1910: Montrose Burrows és Alexis Carrel embrionális és felnőtt szöveteket is tenyésztett, pl. kutyából, csirkéből, patkányból

1923: Alexis Carrel létrehozza az első sejtenyésztő edényt

1970: rekombináns DNS-technika alkalmazása a mikroorganizmusokon kívül állati sejteknél is

1975: Georges Jean Franz Köhler és César Milstein kétféle emlős (egér) sejt-fúziójával, ún. hibridómát tudott létrehozni, mellyel immunfehérjéket lehetett gyártani

Amíg a sejtenyésztés korai időszakában a sejtek izolálása, túléltetése és egyedi tanulmányozása volt a cél, addig az elmúlt évtizedekben a sejtenyésztés a toxikológiai és gyógyszerfejlesztések elsődleges technikájává vált. Emellett a 3R elvben szereplő csökkentés és elsősorban helyettesítés legfontosabb eszköze lett.

A sejtenyésztés előnyei a következők: a különböző sejtípusok egymástól függetlenül tenyészthetők ellenőrzött körülmények között, ezáltal az adott sejt saját tulajdonságai függetlenül tanulmányozhatóak.

*Tenyésztés típusai**I. Sejtkultúra*

A sejtek tenyésztése *in vitro*: a sejteket önálló egységekné tekintjük, a tenyésztésüket, fenntartásukat kutatási, ipari célokra, meghatározott mennyiségben és minőségben, jól meghatározott és ellenőrzött *in vitro* körülmények között valósítjuk meg. Létrehozhatjuk adott szövetek diszpergált sejtjeiből vagy meghatározott sejtörzsekből. A sejtenyésztetek közös jellemzője, hogy nincs szövetté szerveződés.

*A sejtkultúrák típusai:*

- adherens (letapadó) sejtkultúra: a sejtek egy réteget alkotva kitapadnak a flaska aljára. Az adherens sejtek hosszú távú vizsgálati módszerekkel jól vizsgálhatók (apoptózis, nekrosis, osztódás, sejt-sejt interakciók)
- nem adherens (szuszpenziót alkotó): a sejtek lebegnek a tápfolyadékban
- az immun- és a vérképző rendszerből származó sejtek, illetve egyes rosszindulatú daganatsejtek letapadva és szuszpenzióban is nőnek
- primer sejtkultúra: a sejtek közvetlenül egy szövetdarabból származnak, így megőrzik a szövet sejtjeire jellemző morfológiai és biokémiai sajátosságokat, limitált passzálást élnek meg
- szekunder sejtkultúra: sok esetben szelektálni kell a kívánatos sejteket, melynek legegyszerűbb módja a tápfolyadék cseréje vagy különböző supplementek hozzáadásával érhetjük el

## II. Sejtvonala

A sejtvonala egy adott primer kultúrára visszavezethető, jól tenyészthető sejtek csoportja. Sok sejtvonalnál a spontán módon bekövetkező vagy mesterségesen kivitelezett (kémiai vagy vírus által indukált) transzformációval a sejtek „halhatatlanná” tehető, immortalizálhatók. Az első Petri-csészében nevelt halhatatlan emberi sejtvonala az úgynevezett HeLa sejtvonala (Henrietta Lacks méhnyakrák sejtjei), amely örök életét a telomeráz enzim egy különös aktív fajának köszönheti, amely megakadályozza, hogy a kromoszómák sejtosztódás során rövidüljenek.

## III. Háromdimenziós (3D) sejttenyésztés

A klasszikus kétdimenziós (2D) sejttenyésztés során a sejtek elsősorban a széleken teremtenek kapcsolatot egymással, többnyire a tenyésztő edénnyel érintkeznek nagyobb felületen. Az extracelluláris mátrixszal (ECM) is csak a felszínen kapcsolódnak, valamint elégtelen a szöveti diffúzió is. Ezáltal a 2D sejttenyésztés nem képes leképezni az összetett élettani folyamatokat. A 3D tenyésztések esetén a sejtek egymással és az extracelluláris mátrixszal is nagyobb felületen kerülnek kontaktusba, jóval több fiziológiás jellemzőt mutatnak és a gyógyszer-rezisztencia is megjelenhet.

A 3D sejttenyésztéshez megfelelő számú sejtre van szükség, ezért a sejt kultúra úgynevezett dinamikus kultúra kell legyen, ahol az oxigén- és tápanyagellátás és a tápanyagcsere folyamatos és dinamikus. Ezen feltételek biztosításához bioreaktorokra van szükség.

A bioreaktor egy olyan készülék, amely képes a sejtek élettani környezetének szimulálására, ezáltal a sejtek növekedését és megfelelő differenciációját serkenti.

A bioreaktorokkal szembeni elvárások a következők:

- egyszerűen lehessen összerakni és szétszedni
- könnyen tisztítható
- biokompatibilis vagy biológiailag semleges anyagból legyen
- sterilizálható
- szükség szerint különböző műszerekkel kiegészíthető (pl.: pH-mérő, pumpa)

A bioreaktorok fontos eleme a „scaffold”, amely speciális anyagokból készülhet. Ezek az anyagok természetes vagy szintetikus anyagok, amelyek mintegy váz, „állványzatként” szolgálnak a háromdimenziós szövetkonstrukciók számára.

### Bioreaktor típusok

- *Keverő bioreaktor*: biztosítja az oxigén és a tápanyagok egyenletes eloszlását, és csökkenti a szövetkonstrukció felszíne és a médium között kialakuló

koncentrációgrádiens. A „scaffold”-on tenyésztett szövetkonstrukciók a reaktortérbe belógó tüköz vannak rögzítve. Erre a modellre jellemző, hogy a sejtek nem oszlanak meg egyenletesen, a sejtek leginkább a „scaffold”-ok periferiáján vannak nagyobb sűrűségben.

- *Forgó bioreaktor*: „scaffold”-ok szabadon, felfüggesztés nélkül mozognak az edényben levő médiumban, a dinamikus lamináris áramlás hatékonyan serkenti a tápanyag- és oxigéntranszportot.
- *Kompressziós bioreaktor*: ellenőrzött nagyságú és frekvenciájú terhelés-impulzusokat képes kifejtetni a „scaffold”-okon tenyésztő szövetkonstrukcióra.
- *Húzó-feszítő bioreaktor*: ín-, szalag-, szívizom-, csont- és porc szövet előállítására fejlesztették ki, a „scaffold”-ra való erőátviteli módszer különbözik: itt nyíróerő helyett húzóerőt alkalmaznak.
- *Perfúziós bioreaktor*: jellemző a homogén sejteloszlás a felhasznált „scaffold”-on, a perfúzió hatására a tápanyag- és oxigénellátottság egyenletesebb, ezáltal nagyobb a sejtsűrűség.
- *Fix ágyas bioreaktor*: a sejtek hordozóhoz (pl. aktív szén) kötöttek, vagy polimerbe csomagoltan található. Fluid ágyassal szemben előny a stabilitás.
- *Fluid ágyas bioreaktor*: kisebb térfogat, nagy sejtmennyiséggel – szuszpendált és kitapadó sejtek esetén is használható.
- *Airlift bioreaktor*: a reaktor belsejében egy központi cső, ún. emelő (riser), és egy külső hengeres gyűrű, ún. levezetőcső található. Olcsó, egyszerű, és kicsi a fertőzésveszély.
- *Üreges szálas bioreaktorok*: kapilláris szálak egy hengertestben, mindkét végén tapadnak. A sejtek a kapillárisok közötti térben szaporodnak (szöveszerű). Főleg humán sejt kultúrák számára alkalmazható.

## IV. Szövetkultúra

Szövetfragmentumok fenntartása *in vitro* akár a szövet eredeti szerkezetének fenntartása nélkül.

## V. Szervkultúra

Szövetek, teljes szerv vagy szerv egy darabjának fenntartása vagy szaporítása *in vitro*. Lehetősége van differenciálódni, és megőrzi szerkezetét, funkcióját.

## VI. Háromdimenziós szövetnyomtatás (3D bioprinting)

Az egyik első 3D szövetnyomtató a tintasugaras nyomtató elvén működik: az egyik injektor sejt szuszpenziót, úgynevezett „biotintát” („bioink”, sejt aggregátumok, gömbök), egy másik pedig az ezek megtartásához szükséges tápanyagdús gélt/

médiumot adagolja egy hidrogél alapú vázra („biopaper”). Amikor a következő réteg nyomtatására sor kerül, akkor a szomszédos sejtgömbök fuzionálni kezdenek az alattuk lévő rétegben található sejt- vagy szövetgömbökkel. Elsősorban máj, vese, bőr, ér és csont nyomtatásával kísérleteztek.

## 13. Forrás, válogatott irodalom

### Könyvek, könyvfejezetek, monográfiák

- Anderlik P., Torday F.: Kísérleti állatok – Állatkísérletek. Semmelweis Kiadó, 2010
- Bartis D., Pongrácz J.: Háromdimenziós szövettenyésztés. Pécsi Tudományegyetem, 2011
- Bleby, J.: Disease-free (SPF) animals. In: The UFA W Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals, 4th ed. Churchill Livingstone, 1972. pp. 121–132.
- Boros M.: Állatkísérletek az orvostudományban. Egyetemi jegyzet. Szegedi Tudományegyetem, 2007
- Cohen, J.: Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences. Lawrence Erlbaum Associates Publishers, 1988
- Cook, M. J.: The Anatomy of the Laboratory Mouse, M.R.C. Laboratory Animals. Centre Carshalton, Academic Press, 1965
- Furka I., Mikó I.: Műtéttani alapismeretek. Javított kiadás, Debreceni Egyetemi Kiadó, 2015
- Gálfi P., Csikó Gy., Jerzsele Á.: Állatorvosi Gyógyszertan I. Robbie-Vet Kft., 2014
- Herrmann, K., Jayne, K.: Animal Experimentation: Working Towards a Paradigm Change. Vol. 22, Brill, 2019
- Kállai L.: Laborállat Könyv. Kallé-K Kft., 2003
- Kovács A.: A kísérleti orvostudomány vizsgáló módszerei. IV. kötet. Akadémiai Kiadó, 1959
- Kovács A. L.: Soksejtűekből izolált túlélőrendszerek vizsgálata: in vitro (ex vivo) módszerek. In: Szövettani és sejtbiológiai vizsgálómódszerek. László L. (szerk.) Eötvös Loránd Tudományegyetem, 2012
- Liu, E., Fan, J.: Fundamentals of Laboratory Animal Science. CRC Press, 2018
- Mead, R.: The Design of Experiments. Cambridge University Press, 1988
- Mikó I., Furka I.: Műtéttani alapismeretek az ÁOK hallgatói részére. 4. javított, bővített kiadás, Debreceni Egyetemi Kiadó, 2016
- Russell, W. M. S., Burch, R. L.: The Principles of Humane Experimental Technique. Methuen, 1959

- Sharp, P. E., La Regina, M. C.: *The Laboratory Rat*. CRC Press, 1998
- Sorzano, C. O. S., Parkinson, M.: Statistical experiment design for animal research. <http://i2pc.es/coss/Articulos/Sorzano2018d.pdf>
- van Zutphen, L. F. M., Baumans, V., Beynen, A. C.: *Principles of Laboratory Animal Science*. Elsevier, 2001
- Wolfensohn, S., Lloyd, M.: *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare*. 4th edition. Wiley Blackwell, 2013

### Folyóiratcikkek (összefoglalók és eredeti közlemények)

- Birck, M. M., Tveden-Nyborg, P., Lindblad, M.M., Lykkesfeldt, J.: Non-terminal blood sampling techniques in guinea pigs. *J. Vis. Exp.* 2014(92):e51982.
- Carstens, E., Moberg, G. P.: Recognizing pain and distress in laboratory animals. *ILAR J.* 2000;41(2): 62–71.
- Cheluvappa, R., Scowen, P., Eri, R.: Ethics of animal research in human disease remediation, its institutional teaching; and alternatives to animal experimentation. *Pharmacol. Res. Perspect.* 2017;5(4).
- Debuque, R. J., Godwin, J. W.: Methods for axolotl blood collection, intravenous injection, and efficient leukocyte isolation from peripheral blood and the regenerating limb. *Methods Mol. Biol.* 2015;1290: 205–226.
- Dell, R. B., Holleran, S., Ramakrishnan, R.: Sample size determination. *ILAR J.* 2002;43(4): 207–213.
- Diehl, K. H., Hull, R., Morton, D., Pfister, R., Rabemampianina, Y., Smith, D., Vidal, J. M., van de Vorstenbosch, C.; European Federation of Pharmaceutical Industries Association and European Centre for the Validation of Alternative Methods: A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. *J. Appl. Toxicol.* 2001;21(1): 15–23.
- Fitzner Toft, M., Petersen, M. H., Dragsted, N., Hansen, A. K.: The impact of different blood sampling methods on laboratory rats under different types of anaesthesia. *Lab. Anim.* 2006;40(3): 261–274.
- Flecknell, P.: Replacement, reduction and refinement. *ALTEX.* 2002;19(2): 73–78.
- Franco, N. H., Sandøe, P., Olsson, I. A.: Researchers' attitudes to the 3Rs-An upturned hierarchy? *PLoS One* 2018;13(8): e0200895.
- Franco, N. H.: Animal experiments in biomedical research: a historical perspective. *Animals* 2013;3: 238–273.
- Gjendal, K., Kiersgaard, M. K., Abelson, K., Sørensen, D. B., Ottesen, J. L.: Comparison of sublingual, facial and retro-bulbar blood sampling in mice in

- relation to animal welfare and blood quality. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods.* 2020;103: 106680.
- Gruber, F. P., Hartung, T.: Alternatives to animal experimentation in basic research. *ALTEX* 2004;21(Suppl 1): 3–31.
- Harikrishnan, V. S., Hansen, A. K., Abelson, K. S., Sørensen, D. B.: A comparison of various methods of blood sampling in mice and rats: Effects on animal welfare. *Lab. Anim.* 2018;52(3): 253–264.
- Hoff, J., Rlagt, L. V.: Methods of blood collection in the mouse. *Lab Anim.* 2000;29: 47–53.
- Hoggatt, J., Hoggatt, A. F., Tate, T. A., Fortman, J., Pelus, L. M.: Bleeding the laboratory mouse: Not all methods are equal. *Exp. Hematol.* 2016;44(2): 132–137.
- Langendorff, O.: Untersuchungen am überlebenden Säugethierherzen. *Pflügers Archives für die Gesamte Physiologie des Menschen and der Tiere* 1895;61: 291–332.
- Mahl, A., Heining, P., Ulrich, P., Jakubowski, J., Bobadilla, M., Zeller, W., Bergmann, R., Singer, T., Meister, L.: Comparison of clinical pathology parameters with two different blood sampling techniques in rats: retrobulbar plexus versus sublingual vein. *Lab. Anim.* 2000;34(4): 351–361.
- Mähler, M., Berard, M., Feinstein, R., Gallagher, A., Illgen-Wilcke, B., Pritchett-Corning, K., Raspa, M.: FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, guinea pig and rabbit colonies in breeding and experimental units. FELASA working group on revision of guidelines for health monitoring of rodents and rabbits. *Lab. Anim.* 2014;48(3): 178–192.
- Morton, D. B.: Removal of blood from laboratory mammals and birds. *Lab. Anim.* 1993;27: 1–22.
- Neely, J. R., Liebermeister, H., Battersby, E. J., Morgan, H. E.: Effect of pressure development on oxygen consumption by isolated rat heart. *Am. J. Physiol.* 1967;212: H804–H814.
- Owen, J. C.: Collecting, processing, and storing avian blood: a review. *J. Field Ornithol.* 2011;82(4): 339–354.
- Parasuraman, S., Raveendran, R., Kesavan, R.: Blood sample collection in small laboratory animals. *J. Pharmacol. Pharmacother.* 2010;1(2): 87–93.
- Wang, T., Ma, J., Hogan, A. N., Fong, S., Licon, K., Tsui, B., Kreisberg, J. F., Adams, P. D., Carvunis, A. R., Bannasch, D. L., Ostrander, E. A., Ideker, T.: Quantitative translation of dog-to-human aging by conserved remodeling of the DNA methylome. *Cell Syst.* 2020;S2405–4712(20): 30203–30209.

**Módszertani levelek, ajánlások**

Guidelines for Blood Collection in Laboratory Animals. <https://www.research.uky.edu/division-laboratory-animal-resources/guidelines-blood-collection-laboratory-animals>

NIH Guidelines for Survival Bleeding of Mice and Rats. <http://oacu.od.nih.gov/ARAC/Bleeding.pdf>