

Πέτρος Υψηλάντης

Επιστήμη των ζώων εργαστηρίου



ΚΑΛΙΠΟΣ
Διαρκές
αντικείμενο
εργαστηρίου
ακαδημαϊκές



Εθνικό
Πρόγραμμα
Ανάπτυξης
2021-2025

ΠΕΤΡΟΣ ΥΨΗΛΑΝΤΗΣ

Καθηγητής Πειραματικής Χειρουργικής – Επιστήμης Ζώων Εργαστηρίου
Τμήματος Ιατρικής
Δημοκρίτειου Πανεπιστημίου Θράκης

Επιστήμη των Ζώων Εργαστηρίου



Επιστήμη των Ζώων Εργαστηρίου

Συγγραφή

Πέτρος Υψηλάντης

Κριτικός αναγνώστης

Ισμήνη Δοντά

Συντελεστές έκδοσης

Γλωσσική Επιμέλεια: Κατερίνα Αλεξοπούλου

Γραφιστική Επιμέλεια:

Copyright © 2022, ΚΑΛΛΙΠΟΣ, ΑΝΟΙΚΤΕΣ ΑΚΑΔΗΜΑΪΚΕΣ ΕΚΔΟΣΕΙΣ



Το παρόν έργο αδειοδοτείται υπό τους όρους της άδειας Creative Commons Αναφορά Δημιουργού - Μη Εμπορική Χρήση - Παρόμοια Διανομή 4.0. Για να δείτε ένα αντίγραφο της άδειας αυτής επισκεφτείτε τον ιστότοπο <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.el>

Αν τυχόν κάποιο τμήμα του έργου διατίθεται με διαφορετικό καθεστώς αδειοδότησης, αυτό αναφέρεται ρητά και ειδικώς στην οικεία θέση.

ΚΑΛΛΙΠΟΣ

Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο
Ηρώων Πολυτεχνείου 9, 15780 Ζωγράφου

www.kallipos.gr

ISBN:

Βιβλιογραφική Αναφορά: Υψηλάντης, Π. (2022). *Επιστήμη των ζώων εργαστηρίου* [Προπτυχιακό εγχειρίδιο]. Κάλλιπος, Ανοικτές Ακαδημαϊκές Εκδόσεις.

Αφιερωμένο στη μνήμη του πατέρα μου

Περιεχόμενα

Πίνακας συντομεύσεων-ακρωνυμίων.....	17
Πρόλογος	18
Εισαγωγή.....	19
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	21
Κεφάλαιο 1.....	22
1 Η ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΖΩΩΝ ΣΤΗ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ.....	22
1.1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ	22
1.2. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ	23
1.3. ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΖΩΩΝ	24
1.3.1. Τρωκτικά.....	24
1.3.2. Λαγόμορφα	26
1.3.3. Σαρκοφάγα.....	26
1.3.4. Οπληφόρα	28
1.3.5. Πρωτεύοντα πλην ανθρώπου.....	28
1.3.6. Ψάρια	29
1.3.7. Αμφίβια.....	29
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	30
Κεφάλαιο 2.....	31
2 ΚΩΔΙΚΑΣ ΗΘΙΚΗΣ ΚΑΙ ΔΕΟΝΤΟΛΟΓΙΑΣ ΤΗΣ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΩΝ ΖΩΩΝ ΓΙΑ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΥΣ ΣΚΟΠΟΥΣ	31
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	34
Κεφάλαιο 3.....	35
3 ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ	35
3.1. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΥΠΑΡΧΟΥΣΑΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ.....	35
3.2. ΧΡΗΣΗ ΚΑΤΩΤΕΡΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ	35
3.3. ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ (computer models).....	36
3.4. <i>IN VITRO</i> ΜΕΘΟΔΟΙ.....	36
3.5. ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΠΡΟΤΥΠΑ	36
3.6. ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΣΤΗΝ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ	37
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	38
Κεφάλαιο 4.....	39
4 ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ.....	39
4.1. ΟΡΙΣΜΟΙ.....	39
4.2. ΚΥΡΙΟΙ ΣΤΟΧΟΙ.....	40
4.3. ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ	40
4.4. ΚΥΡΙΑ ΘΕΜΑΤΑ ΠΟΥ ΡΥΘΜΙΖΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗ ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ	40
4.5. ΑΡΜΟΔΙΕΣ ΑΡΧΕΣ	41

4.6. ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΑΡΧΗΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ, ΜΕΙΩΣΗΣ ΚΑΙ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ	41
4.7. ΣΚΟΠΟΙ ΤΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ	41
4.8. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑΣ	42
4.9. ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΤΗΣ ΔΡΙΜΥΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ	42
4.10. ΚΑΤΑΛΗΞΗ ΤΩΝ ΖΩΩΝ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΟΛΟΚΛΗΡΩΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ	42
4.11. ΑΔΕΙΟΔΟΤΗΣΗ ΤΩΝ ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΕΩΝ	43
4.12. ΕΠΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΠΡΟΣΩΠΙΚΟΥ	43
4.13. ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ ΚΑΙ ΓΝΩΜΟΔΟΤΗΣΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΥΖΩΙΑ ΤΩΝ ΖΩΩΝ	43
4.14. ΚΑΤΑΧΩΡΙΣΗ ΖΩΩΝ ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ.....	44
4.15. ΦΡΟΝΤΙΔΑ ΚΑΙ ΠΑΡΟΧΗ ΣΤΕΓΗΣ.....	44
4.16. ΑΔΕΙΟΔΟΤΗΣΗ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΩΝ	44
4.16.1. Αίτηση.....	44
4.16.2. Αξιολόγηση πρωτοκόλλου	45
4.16.3. Αναδρομική αξιολόγηση	45
4.16.4. Χορήγηση άδειας πρωτοκόλλου.....	46
4.16.5. Μη τεχνική περίληψη πρωτοκόλλου	46
4.17. ΕΘΝΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΥΖΩΙΑ ΤΩΝ ΖΩΩΝ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΓΙΑ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΥΣ ΣΚΟΠΟΥΣ.....	46
4.18. ΣΥΛΛΟΓΗ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΩΝ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ.....	46
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	48
Κεφάλαιο 5.....	49
5 ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΕΚΤΡΟΦΗΣ ΖΩΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ	49
5.1. ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ ΕΚΤΡΟΦΗΣ	49
5.1.1. Διάταξη των χώρων.....	49
5.1.2. Θάλαμοι στέγασης των ζώων	51
5.1.3. Αίθουσα πειραματικού χειρουργείου.....	54
5.2. ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ	54
5.2.1. Κλουβιά.....	55
5.2.2. Θερμοκρασία.....	58
5.2.3. Σχετική υγρασία	58
5.2.4. Αερισμός	58
5.2.5. Φωτισμός.....	59
5.2.6. Θόρυβος.....	59
5.3. ΥΓΙΕΙΝΗ ΤΩΝ ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΕΩΝ	60
5.3.1. Καθαριότητα	60
5.3.2. Απολύμανση.....	60
5.3.3. Αποστείρωση	61
5.4. ΠΑΡΟΧΗ ΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ ΝΕΡΟΥ.....	61
5.4.1. Τροφή.....	61
5.4.2. Νερό.....	62

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	71
Κεφάλαιο 6.....	72
6 ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΟΥΣΙΩΝ	72
6.1. ΟΔΟΙ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΟΥΣΙΩΝ.....	72
6.1.1. Χορήγηση από το στόμα (per os, p.o.)	72
6.1.2. Ενδογαστρική οδός (gavage).....	73
6.1.3. Ενδοδερμική έγχυση (i.d.).....	74
6.1.4. Υποδόρια έγχυση (s.c.).....	74
6.1.5. Ενδομυϊκή έγχυση (i.m.)	74
6.1.6. Ενδοπεριτοναϊκή έγχυση (i.p.)	74
6.1.7. Ενδοφλέβια έγχυση (i.v.).....	74
6.1.8. Επίθεση ουσίας στο δέρμα (επιδερμικά) ή στον βλεννογόνο	75
6.1.9. Χορήγηση από τον πρωκτό	75
6.2. ΕΙΔΙΚΕΣ ΟΔΟΙ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΟΥΣΙΩΝ.....	75
6.2.1. Με εισπνοή.....	75
6.2.2. Ενδορινική	75
6.2.3. Ενδοτραχειακή	75
6.2.4. Ενδοπνευμονική	75
6.2.5. Οφθαλμική	75
6.2.6. Κάτω από το βλέφαρο	75
6.2.7. Ενδοραχιαία	75
6.2.8. Ενδοκρανιακή	75
6.2.9. Ενδοκαρδιακή	75
6.2.10. Ενδομαστική	75
6.2.11. Ενδοκολπική	76
6.2.12. Ενδομητρική.....	76
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	78
Κεφάλαιο 7.....	79
7 ΣΥΛΛΟΓΗ ΣΩΜΑΤΙΚΩΝ ΥΓΡΩΝ.....	79
7.1. ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ	79
7.1.1. Μέγιστος επιτρεπόμενος όγκος αίματος που συλλέγεται	79
7.1.2. Παρακέντηση φλέβας.....	79
7.1.3. Παρακέντηση αρτηρίας.....	80
7.1.4. Παρακέντηση αγγείων του οφθαλμικού κόγχου.....	80
7.1.5. Καρδιακή παρακέντηση	80
7.1.6. Αιμοληψία από την ουρά.....	80
7.1.7. Καθετηριασμός φλέβας ή αρτηρίας.....	81
7.1.8. Αφαίμαξη	82
7.2. ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΟΠΡΑΝΩΝ ΚΑΙ ΟΥΡΩΝ	82

7.2.1. Μεταβολικά κλουβιά.....	82
7.2.2. Καθετηριασμός της ουροδόχου κύστης.....	82
7.2.3. Παρακέντηση της ουροδόχου κύστης.....	82
7.2.4. Άλλες μέθοδοι.....	83
7.3. ΣΥΛΛΟΓΗ ΑΛΛΩΝ ΣΩΜΑΤΙΚΩΝ ΥΓΡΩΝ	83
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	84
Κεφάλαιο 8.....	85
8 ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ	85
8.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	85
8.2. ΕΙΔΗ ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑΣ.....	86
8.2.1. Τοπική αναισθησία.....	86
8.2.2. Γενική αναισθησία	86
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	92
Κεφάλαιο 9.....	93
9 ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΚΑΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ ΠΟΝΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ ΤΑΛΑΙΠΩΡΙΑΣ	93
9.1. ΠΟΝΟΣ.....	93
9.2. ΤΑΛΑΙΠΩΡΙΑ.....	94
9.3. ΑΙΤΙΑ ΠΡΟΚΛΗΣΗΣ ΠΟΝΟΥ ΚΑΙ ΤΑΛΑΙΠΩΡΙΑΣ	94
9.4. ΤΡΟΠΟΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΣΤΟΝ ΠΟΝΟ	94
9.5. ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΤΟΥ ΠΟΝΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ ΤΑΛΑΙΠΩΡΙΑΣ	94
9.5.1. Σημεία οξέος πόνου.....	95
9.5.2. Σημεία χρόνιου πόνου και ταλαιπωρίας	95
9.5.3. Μεθοδολογία για την αναγνώριση του πόνου και της ταλαιπωρίας	95
9.6. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΚΑΤΑΛΗΚΤΙΚΩΝ ΣΗΜΕΙΩΝ	97
9.7. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ ΠΟΝΟΥ	97
9.7.1. Χορήγηση αναλγητικών	97
9.7.2. Άλλα φάρμακα	98
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	102
Κεφάλαιο 10.....	103
10 ΕΥΘΑΝΑΣΙΑ	103
10.1. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΖΩΟΥ.....	103
10.2. ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΥΘΑΝΑΣΙΑΣ.....	103
10.2.1. Φυσικές μέθοδοι.....	103
10.2.2. Χημικές μέθοδοι.....	105
10.2.3. Μέθοδοι ευθανασίας για ζώα με απώλεια συνείδησης	106
10.3. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΕΥΘΑΝΑΣΙΑΣ.....	106
10.3.1. Επιβεβαίωση του θανάτου.....	107
10.4. ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΤΩΝ ΝΕΚΡΩΝ ΖΩΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ	107
10.4.1. Κτηνιατρική νομοθεσία.....	107

10.4.2. Νομοθεσία διαχείρισης ιατρικών αποβλήτων	108
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	110
Κεφάλαιο 11.....	111
11 ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΥΓΕΙΑΣ ΤΩΝ ΖΩΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ	111
11.1. ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΑ ΕΛΕΓΧΟΥ ΤΗΣ ΥΓΕΙΑΣ ΤΩΝ ΖΩΩΝ	111
11.1.1. Καθορισμός μικροβιολογικών μονάδων.....	112
11.1.2. Επιλογή λοιμωδών παραγόντων προς έλεγχο και της συχνότητας ελέγχου τους.....	112
11.1.3. Επιλογή ζώων για έλεγχο	113
11.1.4. Μέθοδοι δειγματοληψίας και ανάλυσης δειγμάτων.....	116
11.1.5. Αναφορά των αποτελεσμάτων.....	116
11.1.6. Ερμηνεία των αποτελεσμάτων	116
11.2. ΕΚΡΙΖΩΣΗ ΕΝΟΣ ΛΟΙΜΩΔΟΥΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ	117
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	118
Κεφάλαιο 12.....	119
12 ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ ΤΩΝ ΖΩΩΝ	119
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	122
Κεφάλαιο 13.....	123
13 ΖΩΑΝΘΡΩΠΟΝΟΣΟΙ	123
13.1. ΑΛΛΕΡΓΙΕΣ	123
13.2. ΖΩΑΝΘΡΩΠΟΝΟΣΟΙ ΠΡΟΕΡΧΟΜΕΝΕΣ ΑΠΟ ΤΡΩΚΤΙΚΑ	123
13.2.1. Λεμφοκυτταρική χοριομηνιγγίτιδα.....	123
13.2.2. Αιμορραγικός πυρετός της Κορέας	124
13.2.3. Πυρετός μετά από δήγμα επίμυος (rat bite fever).....	124
13.2.4. Γερσινίωση (ψευδοφυματίωση).....	124
13.2.5. Στρεπτοκόκκωση.....	124
13.2.6. Τριχοφυτίαση	124
13.2.7. Υμενολεπίαση	124
13.3. ΖΩΑΝΘΡΩΠΟΝΟΣΟΙ ΠΡΟΕΡΧΟΜΕΝΕΣ ΑΠΟ ΤΟ ΚΟΥΝΕΛΙ	125
13.3.1. Παστεριδίαση	125
13.3.2. Σαλμονέλλωση	125
13.3.3. Δερματομύκωση.....	125
13.3.4. Σεϊλετιέλωση.....	125
13.4. ΖΩΑΝΘΡΩΠΟΝΟΣΟΙ ΠΡΟΕΡΧΟΜΕΝΕΣ ΑΠΟ ΤΟ ΠΡΟΒΑΤΟ	125
13.4.1. Βρουκέλλωση.....	125
13.4.2. Χλαμυδίαση.....	125
13.4.3. Πυρετός Q	125
13.5. ΖΩΑΝΘΡΩΠΟΝΟΣΟΙ ΠΡΟΕΡΧΟΜΕΝΕΣ ΑΠΟ ΤΟΝ ΧΟΙΡΟ	126
13.5.1. Γρίπη των χοίρων τύπου Α (H1N1).....	126
13.6. ΖΩΑΝΘΡΩΠΟΝΟΣΟΙ ΠΡΟΕΡΧΟΜΕΝΕΣ ΑΠΟ ΣΑΡΚΟΦΑΓΑ	126

13.6.1. Μολύνσεις από δήγματα.....	126
13.6.2. Λύσσα	126
13.6.3. Λεπτοσπείρωση.....	127
13.6.4. Τοξοπλάσμωση	127
13.6.5. Λεϊσμανίαση	127
13.6.6. Νόσος από νύγμα γάτας	127
13.6.7. Παρασιτώσεις.....	127
13.6.8. Μυκητιάσεις.....	127
13.7. ΖΩΑΝΘΡΩΠΟΝΟΣΟΙ ΠΡΟΕΡΧΟΜΕΝΕΣ ΑΠΟ ΠΡΩΤΕΥΟΝΤΑ ΠΛΗΗΝ ΑΝΘΡΩΠΟΥ	128
13.7.1. Λύσσα	128
13.7.2. Ιός B (Cercopithecine herpesvirus 1).....	128
13.7.3. Φυματίωση	128
13.7.4. Λοιμώξεις τραυμάτων	128
13.7.5. Νόσοι του εντέρου	128
13.7.6. Ο Simian ιός της ανοσοανεπάρκειας (SIV).....	128
13.7.7. Ιοί Marburg και Ebola (Filoviruses)	128
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	130
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	131
ΤΡΩΚΤΙΚΑ.....	132
ΖΩΟΛΟΓΙΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΡΩΚΤΙΚΩΝ	133
Κεφάλαιο 14.....	134
14 ΜΥΣ (ΠΟΝΤΙΚΙ, MOUSE)	134
14.1. ΟΝΟΜΑΤΟΛΟΓΙΑ – ΧΡΗΣΕΙΣ	134
14.2. ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ	135
14.3. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ	135
14.4. ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ.....	135
14.5. ΕΚΤΡΟΦΗ.....	136
14.5.1. Συνθήκες περιβάλλοντος.....	137
14.5.2. Διατροφή.....	138
14.6. ΣΥΛΛΗΨΗ – ΣΥΓΚΡΑΤΗΣΗ	138
14.7. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΟΥΣΙΩΝ	141
14.7.1. Χορήγηση από το στόμα	142
14.7.2. Υποδόρια έγχυση	143
14.7.3. Ενδοδερμική έγχυση.....	144
14.7.4. Ενδοπεριτοναϊκή έγχυση	144
14.7.5. Ενδοφλέβια έγχυση	144
14.7.6. Οσμωτικές μικρο-αντλίες.....	145
14.8. ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ	145
14.8.1. Μέθοδοι αιμοληψίας που δεν απαιτούν αναισθησία.....	146

14.8.2. Μέθοδοι αιμοληψίας υπό γενική αναισθησία σε ζώα στα οποία επιθυμείται η επιβίωσή τους.....	148
14.8.3. Μέθοδοι αιμοληψίας υπό γενική αναισθησία σε ζώα στα οποία δεν επιθυμείται η επιβίωσή τους	149
14.9. ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ	150
14.10. ΕΥΘΑΝΑΣΙΑ	151
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	155
Κεφάλαιο 15.....	157
15 ΕΠΙΜΥΣ (ΑΡΟΥΡΑΙΟΣ, RAT).....	157
15.1. ΦΥΛΕΣ – ΧΡΗΣΕΙΣ	157
15.2. ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ	158
15.3. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ	158
15.4. ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ.....	159
15.5. ΕΚΤΡΟΦΗ.....	160
15.5.1. Συνθήκες περιβάλλοντος.....	160
15.5.2. Διατροφή.....	161
15.6. ΣΥΛΛΗΨΗ – ΣΥΓΚΡΑΤΗΣΗ	161
15.6.1. Σύλληψη από τη βάση της ουράς	161
15.6.2. Σύλληψη πίσω από τους ώμους.....	161
15.6.3. Σύλληψη και συγκράτηση με τρία δάκτυλα	162
15.6.4. Συγκράτηση από πτυχή του δέρματος του τραχήλου και της ράχης.....	163
15.6.5. Συγκράτηση με περιτύλιξη σε πετσέτα.....	164
15.6.6. Συσκευές συγκράτησης – πλαστικές σακούλες συγκράτησης.....	164
15.7. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΟΥΣΙΩΝ	165
15.7.1. Χορήγηση από το στόμα	166
15.7.2. Υποδόρια έγχυση	167
15.7.3. Ενδοδερμική έγχυση.....	167
15.7.4. Ενδομυϊκή έγχυση.....	167
15.7.5. Ενδοφλέβια έγχυση	168
15.7.6. Ενδοπεριτοναϊκή έγχυση	169
15.8. ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ	170
15.8.1. Μέθοδοι αιμοληψίας που δεν απαιτούν αναισθησία.....	170
15.8.2. Μέθοδοι αιμοληψίας υπό γενική αναισθησία σε ζώα στα οποία δεν επιθυμείται η επιβίωσή τους	172
15.8.3. Μέθοδοι αιμοληψίας υπό γενική αναισθησία σε ζώα στα οποία δεν επιθυμείται η επιβίωσή τους (τελική αιμοληψία).....	173
15.9. ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ	174
15.10. ΕΥΘΑΝΑΣΙΑ	174
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	175
Κεφάλαιο 16.....	177
16 ΓΕΡΒΙΛΟΣ (GERBIL).....	177
16.1. ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ – ΧΡΗΣΕΙΣ.....	177
16.2. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ	177

16.3. ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ.....	177
16.4. ΕΚΤΡΟΦΗ.....	178
16.4.1. Διατροφή.....	178
16.5. ΣΥΛΛΗΨΗ – ΣΥΓΚΡΑΤΗΣΗ	178
16.6. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΟΥΣΙΩΝ	178
16.7. ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ	178
16.8. ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ	179
16.9. ΕΥΘΑΝΑΣΙΑ	179
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	180
Κεφάλαιο 17.....	181
17 ΧΑΜΣΤΕΡ (ΚΡΙΚΗΤΟΣ, HAMSTER).....	181
17.1. ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ – ΦΥΛΕΣ – ΧΡΗΣΕΙΣ.....	181
17.2. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ	181
17.3. ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ.....	182
17.4. ΕΚΤΡΟΦΗ.....	182
17.5. ΣΥΛΛΗΨΗ – ΣΥΓΚΡΑΤΗΣΗ	182
17.6. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΟΥΣΙΩΝ	183
17.7. ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ	183
17.8. ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ	183
17.9. ΕΥΘΑΝΑΣΙΑ	183
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	184
Κεφάλαιο 18.....	185
18 ΙΝΔΙΚΟ ΧΟΙΡΙΔΙΟ (GUINEA PIG).....	185
18.1. ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ – ΦΥΛΕΣ – ΧΡΗΣΕΙΣ.....	185
18.2. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ	185
18.3. ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ.....	186
18.4. ΕΚΤΡΟΦΗ.....	186
18.4.1. Συνθήκες περιβάλλοντος.....	186
18.4.2. Διατροφή.....	187
18.5. ΣΥΛΛΗΨΗ – ΣΥΓΚΡΑΤΗΣΗ	187
18.6. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΟΥΣΙΩΝ	187
18.6.1. Χορήγηση από το στόμα	187
18.6.2. Υποδέρια έγχυση	188
18.6.3. Ενδοδερμική έγχυση.....	188
18.6.4. Ενδομυϊκή έγχυση.....	188
18.6.5. Ενδοφλέβια έγχυση	189
18.6.6. Ενδοπεριτοναϊκή έγχυση	189
18.7. ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ	190
18.7.2. Τεχνικές σε ζώα στα οποία δεν επιθυμείται η επιβίωσή τους.....	191

18.8. ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ	191
18.9. ΕΥΘΑΝΑΣΙΑ	192
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	193
ΛΑΓΟΜΟΡΦΑ	194
Κεφάλαιο 19.....	195
19 ΚΟΥΝΕΛΙ (RABBIT)	195
19.1. ΖΩΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΤΑΤΑΞΗ.....	195
19.2. ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ – ΧΡΗΣΕΙΣ.....	195
19.3. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ	196
19.4. ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ.....	197
19.5. ΕΚΤΡΟΦΗ.....	199
19.5.1. Συνθήκες περιβάλλοντος.....	199
19.5.2. Διατροφή.....	200
19.6. ΣΥΛΛΗΨΗ – ΣΥΓΚΡΑΤΗΣΗ	200
19.7. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΟΥΣΙΩΝ	202
19.7.1. Χορήγηση από το στόμα	202
19.7.2. Υποδόρια έγχυση	203
19.7.3. Ενδοδερμική έγχυση.....	203
19.7.4. Ενδομυϊκή έγχυση.....	203
19.7.5. Ενδοφλέβια έγχυση	203
19.7.6. Ενδοπεριτοναϊκή έγχυση	204
19.8. ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ	204
19.9. ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ	205
19.10. ΕΥΘΑΝΑΣΙΑ	206
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	207
ΣΑΡΚΟΦΑΓΑ	208
Κεφάλαιο 20.....	209
20 ΣΚΥΛΟΣ (DOG)	209
20.1. ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ – ΧΡΗΣΕΙΣ.....	209
20.2. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ – ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ.....	209
20.3. ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ.....	210
20.4. ΕΚΤΡΟΦΗ.....	210
20.4.1. Συνθήκες περιβάλλοντος.....	210
20.4.2. Διατροφή.....	210
20.5. ΣΥΛΛΗΨΗ – ΣΥΓΚΡΑΤΗΣΗ	210
20.6. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΟΥΣΙΩΝ – ΣΥΛΛΟΓΗ ΑΙΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΟΥΡΩΝ	211
20.7. ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ	212
20.8. ΕΥΘΑΝΑΣΙΑ	212
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	214

Κεφάλαιο 21.....	215
21 ΓΑΤΑ (CAT).....	215
21.1. ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ – ΧΡΗΣΕΙΣ.....	215
21.2. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ.....	215
21.3. ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ.....	216
21.4. ΕΚΤΡΟΦΗ.....	216
21.4.1. Συνθήκες περιβάλλοντος.....	216
21.4.2. Διατροφή.....	216
21.5. ΣΥΛΛΗΨΗ – ΣΥΓΚΡΑΤΗΣΗ.....	216
21.6. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΟΥΣΙΩΝ.....	217
21.7. ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ.....	217
21.8. ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ.....	217
21.9. ΕΥΘΑΝΑΣΙΑ.....	218
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	219
ΟΠΛΗΦΟΡΑ.....	220
Κεφάλαιο 22.....	221
22 ΧΟΙΡΟΣ (PIG) – ΝΑΝΟΜΟΡΦΟΣ ΧΟΙΡΟΣ (MINIPIG).....	221
22.1. ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ – ΦΥΛΕΣ – ΧΡΗΣΕΙΣ.....	221
22.2. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ – ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ.....	221
22.3. ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ.....	222
22.5. ΣΥΛΛΗΨΗ – ΣΥΓΚΡΑΤΗΣΗ.....	222
22.6. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΟΥΣΙΩΝ – ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ.....	223
22.7. ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ.....	224
22.8. ΕΥΘΑΝΑΣΙΑ.....	224
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	226
ΠΡΩΤΕΥΟΝΤΑ.....	227
Κεφάλαιο 23.....	228
23 ΠΡΩΤΕΥΟΝΤΑ ΠΛΗΝ ΑΝΘΡΩΠΟΥ (NON HUMAN PRIMATES, NHP).....	228
23.1. ΖΩΟΛΟΓΙΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ.....	228
23.2. ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ – ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ – ΕΚΤΡΟΦΗ.....	229
23.2.1. Μαϊμούδες του Παλαιού Κόσμου.....	229
23.2.2. Μαϊμούδες του Νέου Κόσμου.....	230
23.3. ΣΥΓΚΡΑΤΗΣΗ.....	232
23.4. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΟΥΣΙΩΝ – ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ.....	233
23.5. ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ.....	233
23.6. ΕΥΘΑΝΑΣΙΑ.....	233
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	235
ΨΑΡΙΑ.....	236
Κεφάλαιο 24.....	237

24 ΨΑΡΙΑ	237
24.1. Η ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΨΑΡΙΩΝ ΣΤΗ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ	237
24.2. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ-ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ ΖΕΒΡΟΨΑΡΟΥ	238
24.3. ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΖΕΒΡΟΨΑΡΟΥ	238
24.4. ΕΚΤΡΟΦΗ	239
24.4.1. Γενικά.....	239
24.4.2. Εκτροφή του ζεβρόψαρου	239
24.4.3. Διατροφή του ζεβρόψαρου.....	241
24.5. ΣΥΛΛΗΨΗ	241
24.6. ΣΥΛΛΟΓΗ ΩΑΡΙΩΝ – ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΟΥΣΙΩΝ – ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ.....	241
24.7. ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ	242
24.8. ΕΥΘΑΝΑΣΙΑ	242
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	244

Πίνακας συντομεύσεων-ακρωνυμίων

AALAS	American Association for Laboratory Animal Science
APA	American Psychological Association
ECVAM	European Centre for the Validation of Alternative Methods
FELASA	Federation of European Laboratory Animal Science Associations
HEPA	High Efficiency Particulate Air
IVC	Individually Ventilated Cages
LAF units	Laminar Air Flow units
LAL test	Limulus Amoebocyte Lysate test
NHP	Non Human Primates
PREPARE	Planning Research and Experimental Procedures on Animals: Recommendations for Excellence
SPF animals	Specific Pathogen Free animals
ARRIVE	Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments
EEBEZE	Ελληνική Εταιρεία Βιοϊατρικής Έρευνας και Ζώων Εργαστηρίου
KEKE	Κυτταρολογική Εξέταση Κολπικών Επιχρισμάτων
MEA	Μικτά Επικίνδυνα Απόβλητα

Πρόλογος



Ο Πέτρος Υψηλάντης, Κύριος Συγγραφέας του παρόντος βιβλίου, είναι καθηγητής Πειραματικής Χειρουργικής – Επιστήμης των Ζώων Εργαστηρίου στο τμήμα Ιατρικής του Δημοκρίτειου Πανεπιστημίου Θράκης (ΔΠΘ). Είναι απόφοιτος της Κτηνιατρικής Σχολής του Αριστοτέλειου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, διδάκτωρ του τμήματος Ιατρικής ΔΠΘ, με μεταδιδακτορικές σπουδές στο πανεπιστήμιο του Cambridge του Ηνωμένου Βασιλείου. Είναι διευθυντής και ο υπεύθυνος κτηνίατρος του Εργαστηρίου Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Έρευνας του τμήματος Ιατρικής ΔΠΘ και αναπληρωτής Πρόεδρος της Εθνικής Επιτροπής για την ευζωία των ζώων που χρησιμοποιούνται για επιστημονικούς σκοπούς, ενώ έχει διατελέσει μέλος του διοικητικού συμβουλίου της Ελληνικής Εταιρείας Βιοϊατρικής Έρευνας και Ζώων Εργαστηρίου (ΕΕΒΕΖΕ). Διδάσκει τα μαθήματα «Επιστήμη των Ζώων Εργαστηρίου» και «Πειραματική Χειρουργική» στο τμήμα Ιατρικής και «Αρχές Διαχείρισης των Ζώων Εργαστηρίου» στο τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής ΔΠΘ. Διαθέτει πλούσιο συγγραφικό και ερευνητικό έργο με

διακρίσεις.

Η Ισμήνη Δοντά, Κριτική Αναγνώστρια του παρόντος βιβλίου, είναι ομότιμη καθηγήτρια Κτηνιατρικής – Πειραματικής Χειρουργικής Έρευνας στην Ιατρική Σχολή του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Έχει διατελέσει διευθύντρια του Εργαστηρίου Έρευνας Παθήσεων Μυοσκελετικού Συστήματος της ίδιας σχολής. Είναι μέλος της Εθνικής Επιτροπής για την ευζωία των ζώων που χρησιμοποιούνται για επιστημονικούς σκοπούς, της οποίας έχει διατελέσει Πρόεδρος. Είναι υπεύθυνη για τη διοργάνωση του πιστοποιημένου από την Ευρωπαϊκή Συνομοσπονδία Εταιρειών Επιστήμης Ζώων Εργαστηρίου (FELASA: Federation of European Laboratory Animal Science Associations) εκπαιδευτικού σεμιναρίου για την Επιστήμη των Ζώων Εργαστηρίου. Διαθέτει πλούσιο συγγραφικό και ερευνητικό έργο με διακρίσεις.

Εισαγωγή

Η αλματώδης ανάπτυξη της βιοϊατρικής έρευνας έχει επιτρέψει στον σύγχρονο άνθρωπο να αισιοδοξεί για το μέλλον, αντιμετωπίζοντας με μεγαλύτερη αυτοπεποίθηση τις προκλήσεις στον τομέα της υγείας. Η συντεταγμένη οργάνωση των μελετών που καλούνται να δώσουν απαντήσεις στα προβλήματα του θεμελιώδους αγαθού της υγείας στηρίζονται σε σημαντικό βαθμό στη χρήση ζώων για την εξαγωγή συμπερασμάτων σε προκλινικό επίπεδο. Παρά το γεγονός ότι οι μελέτες σε ζωικά πρότυπα αντικαθίστανται ολοένα και περισσότερο με εναλλακτικές μεθόδους, αυτές εξακολουθούν να είναι απαραίτητες, λόγω της πολυπλοκότητας του οργανισμού των σπονδυλωτών και της αναγκαιότητας για αξιόπιστα, κατά το δυνατό, συμπεράσματα πριν από την εφαρμογή τους στον άνθρωπο. Ωστόσο, παρά την επιτακτικότητα για απάντηση στα συνεχώς αναδυόμενα προβλήματα που καλείται να εξυπηρετήσει η βιοϊατρική έρευνα, καλλιεργείται παράλληλα ο σεβασμός για τα ίδια τα ζώα που υπηρετούν αυτόν τον ανώτερο σκοπό. Έτσι, το βασικό δόγμα που επικαλείται η Επιστήμη των Ζώων Εργαστηρίου είναι οι αρχές της Αντικατάστασης, Μείωσης και Βελτίωσης που, από τη μία, ελαχιστοποιούν τον πόνο και την ταλαιπωρία των ζωικών οργανισμών που χρησιμοποιούνται στις πειραματικές έρευνες και, από την άλλη, επαυξάνουν την αξιοπιστία των μελετών, καθότι αυτές πραγματοποιούνται σε ζώα που υφίστανται τη λιγότερη δυνατή καταπόνηση και βρίσκονται όσο το δυνατό πλησιέστερα στις συνθήκες του φυσικού περιβάλλοντός τους.

Η Επιστήμη των Ζώων Εργαστηρίου εξελίσσεται διαρκώς και ο ερευνητής θα πρέπει να αναβαθμίζει συνεχώς την ενημέρωσή του, προκειμένου, όχι απλώς να συμμορφώνεται με τις τυπικές προϋποθέσεις που ορίζει η σχετική νομοθεσία για την προστασία των ζώων που χρησιμοποιούνται για επιστημονικούς σκοπούς, αλλά και να διαμορφώνει ανάλογα το πειραματικό του πρωτόκολλο, εφόσον κάθε νέα οδηγία βελτιώνει την ποιότητα της εκπονούμενης πειραματικής διαδικασίας και, επομένως, των αποτελεσμάτων της. Τόσο οι φοιτητές σχολών, οι απόφοιτοι των οποίων θα ασχοληθούν με τη βιοϊατρική έρευνα, όσο και οι νέοι ερευνητές βασίζονται σε μεγάλο βαθμό στην απόκτηση νέων γνώσεων επί του αντικειμένου της Επιστήμης των Ζώων Εργαστηρίου από τα συγγράμματα των εκπαιδευτικών ιδρυμάτων, τα οποία οφείλουν να αναβαθμίζονται και να ενημερώνονται με τη σύγχρονη βιβλιογραφία, τις νεότερες οδηγίες από την Ευρωπαϊκή (FELASA: Federation of European Laboratory Animal Science Associations) και την Αμερικανική (AALAS: American Association for Laboratory Animal Science) Ομοσπονδία των Επιστημών των Ζώων των Εργαστηρίων και τις απαιτήσεις της εθνικής νομοθεσίας.

Το 2010, εκδόθηκε από τον υπογράφοινα το βιβλίο με τίτλο *Αρχές Διαχείρισης Ζώων Εργαστηρίου*, που είχε ως σκοπό την ενημέρωση του φοιτητή και του νέου ερευνητή επί των βασικών αρχών που διέπουν την Επιστήμη των Ζώων Εργαστηρίου, καθώς επίσης αποτελούσε εγχειρίδιο για τη χρήση βασικών ζωικών ειδών στην πειραματική βιοϊατρική έρευνα. Έκτοτε, υπήρξαν εξελίξεις στο αντικείμενο αυτής της συνεχώς εξελισσόμενης επιστήμης, που επιβάλλουν την έκδοση μιας αναβαθμισμένης και πιο ενημερωμένης εκδοχής του συγγράμματος. Στο παρόν πόνημα έχουν προστεθεί σημαντικά στοιχεία που αφορούν τη νέα νομοθεσία που διέπει τη χρήση των ζώων στην έρευνα, έχει εμπλουτιστεί με νέες κατευθυντήριες οδηγίες σχετικά με τη στάση του επιστήμονα-ερευνητή απέναντι στο ζώο, ενώ έχουν διαφοροποιηθεί μέθοδοι και τεχνικές που αφορούν θέματα χειρισμών, αναισθησίας και ευθανασίας.

Για πρώτη φορά, το βιβλίο αυτό θα βρίσκεται στη διάθεση του αναγνώστη σε ηλεκτρονική μορφή, συμβαδίζοντας έτσι με την εξέλιξη της τεχνολογίας και προσφέροντας πρόσβαση και φορητότητα της γνώσης χωρίς περιορισμούς. Επιπλέον, η νέα του μορφή εκμεταλλεύεται την ποιότητα αλλά και την ποσότητα οπτικού υλικού που διατίθεται στον αναγνώστη, ενώ μέσω των links βρίσκονται στη διάθεσή του χρήσιμα videos για την ακόμη πληρέστερη ενημέρωση και εκπαίδευσή του.

Το σύγγραμμα χωρίζεται στο Γενικό και στο Ειδικό Μέρος. Στο Γενικό Μέρος παρέχονται πληροφορίες σχετικές με τη χρήση των ζώων στη βιοϊατρική έρευνα, τον κώδικα ηθικής και δεοντολογίας της χρήσης των ζώων για επιστημονικούς σκοπούς, τις εναλλακτικές μεθόδους πειραματισμού, τη νομοθεσία που διέπει τη χρήση ζώων για επιστημονικούς σκοπούς, τις βασικές αρχές εκτροφής και διαχείρισης μιας αποικίας ζώων εργαστηρίου, τις μεθόδους χορήγησης ουσιών και συλλογής βιολογικών υλικών, την αναισθησία, την εκτίμηση και αντιμετώπιση του πόνου και της ταλαιπωρίας των ζώων, τις μεθόδους ευθανασίας, τον έλεγχο της υγείας των ζώων και τις ζωονθρωπονόσους. Στο Ειδικό Μέρος παρέχονται πληροφορίες σχετικές με τη βιολογία, την εκτροφή, τις μεθόδους σύλληψης-συγκράτησης, την αιμοληψία, τη χορήγηση ουσιών, την αναισθησία και την ευθανασία των ειδών ζώων εργαστηρίου που χρησιμοποιούνται συνήθως στην πράξη

(μυς, επίμυς, γέρβιλος, χάμστερ, ινδικό χοιρίδιο, κουνέλι, σκύλος, γάτα, χοίρος, πρωτεύοντα πλην ανθρώπου και ψάρια). Κάθε κεφάλαιο συνοδεύεται από πλούσιο φωτογραφικό υλικό.

Ελπίζω η συγγραφική αυτή προσπάθεια να καταστεί χρήσιμο εργαλείο στην εργαλειοθήκη όσων φοιτητών και νέων ερευνητών καλούνται να υπηρετήσουν την πειραματική έρευνα.

Θέλω να ευχαριστήσω από καρδιάς την αγαπητή συνάδελφο Ισμήνη Δοντά, ομότιμη καθηγήτρια Κτηνιατρικής – Πειραματικής Χειρουργικής Έρευνας του ΕΚΠΑ, που ως Κριτική Αναγνώστρια και με τη βαθιά γνώση και τη μεγάλη εμπειρία που διαθέτει, μέσα από την κριτική της ματιά αναβάθμισε την αξία του παρόντος πονήματος. Ευχαριστώ, επίσης, την οικογένειά μου που με στήριξε και με στηρίζει σε κάθε μου προσπάθεια, δίνοντάς μου πάντα έναν λόγο να προσπαθώ για το καλύτερο. Τέλος, θα ήθελα να αφιερώσω το βιβλίο αυτό στον αείμνηστο πατέρα μου Κωνσταντίνο Υψηλάντη, που αποτέλεσε έμπνευση και πρότυπο ζωής για τον δρόμο που έχω επιλέξει.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 1

Σύνοψη

Στο κεφάλαιο αυτό γίνεται ιστορική ανασκόπηση στη χρήση των ζώων για επιστημονικούς σκοπούς από την αρχαιότητα έως σήμερα, αναφορά στα επίσημα στατιστικά στοιχεία της Ευρωπαϊκής Ένωσης σχετικά με τον αριθμό, τα είδη, τις χρήσεις, τη δριμύτητα των πειραματισμών κ.λπ. των ζώων που έχουν χρησιμοποιηθεί τα τελευταία χρόνια για επιστημονικούς σκοπούς και, τέλος, συνοπτική αναφορά των πιο συχνά χρησιμοποιούμενων ειδών ζώων στην έρευνα.

Προαπαιτούμενη γνώση

Δεν είναι απαραίτητη.

1 Η ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΖΩΩΝ ΣΤΗ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

Η χρήση ζωντανών ζώων έχει παίξει καθοριστικό ρόλο στην πρόοδο των βιοϊατρικών επιστημών τους τελευταίους αιώνες. Παρά το γεγονός ότι έχουν αναπτυχθεί εναλλακτικές μέθοδοι πειραματισμού, οι οποίες έχουν οδηγήσει σε αξιοσημείωτη μείωση του αριθμού των χρησιμοποιούμενων ζώων για επιστημονικούς σκοπούς, δεν υπάρχουν επαρκή επιστημονικά δεδομένα που να τεκμηριώνουν τον πληρή αποκλεισμό των ζωντανών ζώων από την πειραματική έρευνα. Η πρόοδος στον τομέα της Επιστήμης των Ζώων Εργαστηρίου (Laboratory Animal Science) συμβάλλει στη χρησιμοποίηση του κατάλληλου ζωικού προτύπου για τις πειραματικές μελέτες, προάγοντας παράλληλα τον κώδικα ηθικής και δεοντολογίας που πρέπει να διέπει τη χρήση των ζώων στην έρευνα.

1.1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

Η χρήση των ζώων σε πρότυπα μελέτης του ανθρώπου ακολουθεί παράλληλη πορεία με την εξέλιξη της ιατρικής επιστήμης. Η πρώτη αναφορά χρήσης ζώων σε πειραματικές μελέτες έγινε από τον Ιπποκράτη, το 400 π.Χ. Την εποχή εκείνη, η ιατρική επιστήμη είχε κυρίως περιγραφικό χαρακτήρα, με έμφαση στην Ανατομία. Ο Γαληνός (130-201 μ.Χ.), που έζησε στη Ρώμη και ασχολήθηκε με τη Φυσική και τη Φυσιολογία του ανθρώπου, χρησιμοποίησε χοίρους, πιθήκους και σκύλους σε πειράματα, τα αποτελέσματα των οποίων συνέβαλαν σημαντικά στην εξέλιξη της Ιατρικής.

Με την έναρξη της χριστιανικής περιόδου, τα πειράματα με ζώα ελαχιστοποιήθηκαν, μέχρι την περίοδο της Αναγέννησης (15ος αιώνας μ.Χ.). Αρχικά, αναπτύχθηκε ο τομέας της Ανατομίας (A. Vesalius, *De Humani Corporis Fabrica*, 1543), αλλά από τον 17ο αιώνα αναπτύχθηκε και εκείνος της Φυσιολογίας (W. Harvey, *Exercitatio Anatomica de Motu Cordis et Sanguinis in Animalibus*, 1628). Εκείνη την εποχή, τα ζώα θεωρούνταν «αναισθητοί οργανισμοί». Επικρατούσε η άποψη ότι η διαφορά του ανθρώπου από τα ζώα έγκειτο στο ότι τα τελευταία δεν έχουν ψυχή και, επομένως, ούτε συνείδηση. Ο άνθρωπος έχει την ικανότητα να αισθάνεται και να σκέφτεται, ενώ το ζώο λειτουργεί ως «αναισθητη μηχανή».

Από τον 18ο αιώνα και πέρα, άρχισε να γίνεται αποδεκτή η άποψη ότι η έρευνα με τη χρήση ζώων συμβάλλει στην ευημερία του ανθρώπου καθώς και ότι η εξέλιξη της ιατρικής επιστήμης βρισκόταν σε άμεση συνάρτηση με τα αποτελέσματα των πειραμάτων με ζώα.

Τον 19ο αιώνα, εκδηλώθηκε, αρχικά στην Αγγλία και αργότερα στη Γαλλία, η πρώτη μεγάλη πρωτοβουλία ενάντια στη χρησιμοποίηση ζώων σε πειραματισμούς από φυσιολόγους, όπως οι Francois Magendie και Claude Bernard. Το 1875, ιδρύθηκε στην Αγγλία ο πρώτος Οργανισμός ενάντια στη χρήση των ζώων σε πειράματα, ενώ το 1876 ψηφίστηκε ο πρώτος νόμος που αφορούσε την προστασία των ζώων αυτών. Ωστόσο, η ακραία θέση ορισμένων φανατικών για πλήρη αποκλεισμό των ζώων από τα πειράματα δεν βρήκε απήχηση. Αντίθετα, από τα τέλη του 19ου αιώνα, αυξήθηκε σημαντικά η χρήση των ζώων για επιστημονικούς σκοπούς. Σε αυτό συνέβαλαν παράγοντες, όπως:

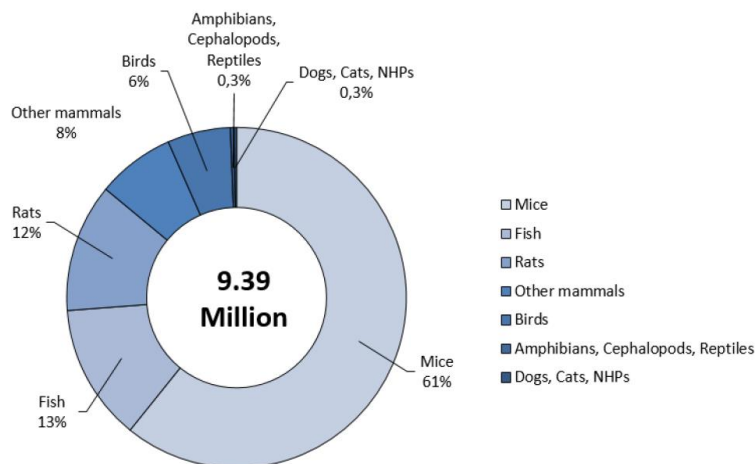
1. Η παρασκευή αναισθητικών ουσιών, το πρώτο μισό του 19ου αιώνα, έδωσε τη δυνατότητα στους επιστήμονες να αναισθητοποιούν τα ζώα προτού τα υποβάλουν σε επώδυνα πειράματα.
2. Η ανάπτυξη της θεωρίας του Δαρβίνου (1859) σχετικά με την εξέλιξη του ανθρώπου από τα ζώα έθεσε τη βάση για τη χρήση των ζώων ως προτύπου για τη μελέτη του ανθρώπου.

3. Το 1865, ο Claude Bernard, στο βιβλίο του *Introduction to the study of experimental medicine*, περιγράφει μεθοδολογία πειραματικού σχεδιασμού, διευρύνοντας έτσι την ανάπτυξη της Πειραματικής Ιατρικής.
4. Η ανάπτυξη του τομέα της Μικροβιολογίας συνέβαλε στην αύξηση της χρήσης ζώων στην έρευνα. Το 1884, ο Koch, στο βιβλίο του *Postulates*, αναφέρει ότι η παθογένεια των μικροοργανισμών μπορεί να μελετηθεί μετά από πειραματική μόλυνση υγιών ζώων. Ακόμη, η ανάγκη χρησιμοποίησης ζώων αυξήθηκε, όταν αυτά άρχισαν να χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειας χορήγησης αντιορών και εμβολίων.
5. Η ανάπτυξη ορισμένων τομέων των βιολογικών επιστημών, όπως της Φαρμακολογίας, της Τοξικολογίας, της Ιολογίας, της Ανοσολογίας κ.λπ., και ιδιαίτερα η ανάπτυξη των φαρμακοβιομηχανιών, αύξησε ραγδαία τη χρήση των ζώων εργαστηρίου. Αυτή η αύξηση έδωσε το έναυσμα για νέες συζητήσεις σχετικά με την ηθική της χρήσης των ζώων σε πειράματα.

Παράλληλα με τον ολικό αριθμό των ζώων που χρησιμοποιούνται, αυξήθηκε και ο αριθμός των ειδών τους. Έτσι, ενώ μέχρι το τέλος του τελευταίου αιώνα χρησιμοποιούνταν σε πειράματα κυρίως κατοικίδια ζώα, από τις αρχές του 20ού αιώνα χρησιμοποιούνται επίσης και αμιγείς φυλές μυών και επιμύων. Εξάλλου, πιο πρόσφατα, χρησιμοποιούνται σε πειράματα και άλλα θηλαστικά καθώς και πτηνά, ερπετά, αμφίβια, κεφαλόποδα και ψάρια.

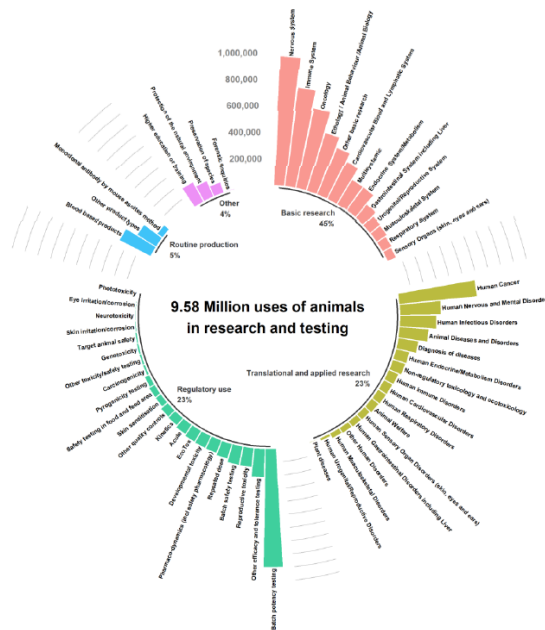
1.2. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Σύμφωνα με στατιστική μελέτη, το 2017, στις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης χρησιμοποιήθηκαν 9,39 εκατομμύρια ζώα σε πειραματικές μελέτες (Anonymous, 2019). Από αυτά, το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο είδος ζώου ήταν ο μυς (61%). Αξιοσημείωτη είναι η αύξηση στη συχνότητα χρησιμοποίησης των ψαριών στην έρευνα, τα οποία κατέλαβαν τη δεύτερη θέση με ποσοστό 13%, ενώ ακολούθησε ο επίμυς με 12%. Άλλα θηλαστικά χρησιμοποιήθηκαν σε ποσοστό 8%, πτηνά 6%, αμφίβια, κεφαλόποδα και ερπετά 0,3%, ενώ σκύλοι, γάτες και πρωτεύοντα πλην ανθρώπου μόνο 0,3% (Εικόνα 1.1).



Εικόνα 1.1 Είδη ζώων που χρησιμοποιήθηκαν για επιστημονικούς σκοπούς σε χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης κατά το διάστημα 2015-2017 (Anonymous, 2019).

Ο βασικός τομέας στον οποίον χρησιμοποιήθηκαν τα ζώα ήταν η έρευνα (69%), από την οποία το 45% αφορούσε βασική έρευνα και το 23% μεταφραστική και εφαρμοσμένη έρευνα. Ένα ποσοστό 23% των ζώων χρησιμοποιήθηκαν για κανονιστική χρήση (χρήση στο πλαίσιο νομοθετικών ρυθμίσεων), ενώ 5% χρησιμοποιήθηκαν σε παραγωγή ρουτίνας (Εικόνα 1.2). Άλλες κατηγορίες αφορούσαν την προστασία του φυσικού περιβάλλοντος, με έμφαση στην υγεία και ευημερία των ανθρώπων ή των ζώων, τη διατήρηση των ειδών, την εκπαίδευση και ιατροδικαστικές μελέτες.



Εικόνα 1.2 Χρήσεις των ζώων στην έρευνα και τους ελέγχους το 2017 (Anonymous, 2019).

Ως προς τη δριμύτητα των πειραματισμών, αυτή ήταν κυρίως «ήπια» (51%), ενώ «μέτρια», «σοβαρή» και «χωρίς ανάνηψη» ήταν σε ποσοστό 32%, 11% και 6%, αντίστοιχα. Σε ποσοστό 2% υπήρξε επαναχρησιμοποίηση των ζώων σε πειράματα. Ως προς τη γενετική κατάσταση των ζώων, 2,59 εκατομμύρια ζώα που χρησιμοποιήθηκαν στην έρευνα είχαν τροποποιημένο γενετικό υλικό, εκ των οποίων το 17% είχε επώδυνο φαινότυπο.

1.3. ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΖΩΩΝ

1.3.1. Τρωκτικά

Τα τρωκτικά είναι η πιο πολυάριθμη τάξη θηλαστικών (24.000 είδη). Έχουν την ικανότητα να χρησιμοποιούν όλες τις πηγές τροφής, ακόμη και το ξύλο. Έτσι, τα περισσότερα είδη είναι παμφάγα. Τα τρωκτικά χωρίζονται σε 3 βασικές υποτάξεις: τα Sciuromorpha (σκίουρος κ.λπ.), τα Myomorpha (μυς, επίμυς, κρικητός/χάμστερ, γέρβιλος, λέμμος) και τα Hystricomorpha (ινδικό χοίριδιο, agouti, τσιντσιλά, porcupine). Τα τρωκτικά έχουν χρησιμοποιηθεί ως κύρια ζωικά πρότυπα για τη μελέτη θεμάτων θεμελιώδους σημασίας, που έτυχαν παγκόσμιας αναγνώρισης με την απονομή στους ερευνητές βραβείων Νόμπελ (Leader and Stark, 1987).

Μυς

Ο μυς ή ποντικός (*Mus musculus*) ζει σε όλες τις ηπείρους και είναι το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο ζώο εργαστηρίου (Εικόνα 1.3). Οι αμιγείς φυλές του (inbred strains) επιλέγονται για τουλάχιστον 20 γενεές, μετά από διασταύρωση αδερφών μεταξύ τους ή γονέων με τους απογόνους τους (Festing, 1979). Στις μέρες μας, οι φυλές αυτές λαμβάνονται μέσω καισαρικής τομής υπό στείρες συνθήκες (germ-free animals ή axenic animals) σε απομονωτήρες (isolators). Ο βαθμός αιμομιξίας τους ελέγχεται με βιοχημικές και ανοσολογικές μεθόδους.

Το 1909, ο Clarence Little δημιούργησε την πρώτη αμιγή φυλή, που χαρακτηριζόταν από υψηλή συχνότητα ανάπτυξης όγκων στους μαστούς των θηλυκών. Αργότερα, το 1913, ο Bagg δημιούργησε μια αμιγή φυλή που παρουσίαζε μικρή συχνότητα ανάπτυξης όγκων στους μαστούς, που αυξανόταν όμως στην παρουσία ενός παράγοντα στο γάλα. Με τις δύο παραπάνω αμιγείς φυλές έγινε δυνατή η έρευνα που αφορούσε τις νεοπλασίες και τη σύνθεση αντινεοπλασματικών ουσιών.

Μια άλλη σημαντική αμιγής φυλή που δημιουργήθηκε στα εργαστήρια είναι ο μυς με απλασία θύμου αδένου (Holub, 1992). Δεδομένου ότι η συγγενής αυτή διαμαρτία μειώνει την άμυνα του οργανισμού, τα

στελέχη αυτά έγιναν ιδανικά ζωικά πρότυπα για την έρευνα που αφορούσε τη μεταμόσχευση φυσιολογικών ή νεοπλασματικών ιστών.

Το 1970, έγινε για πρώτη φορά δυνατή η εισαγωγή τμημάτων DNA στον πυρήνα προκαρυωτικών κυττάρων *in vitro* (Poole, 1987). Με τη βελτίωση των τεχνικών της μοριακής βιολογίας, έγινε δυνατή η δημιουργία διαγονιδιακών μυών, οι οποίοι αποτελούν σπουδαία ζωικά πρότυπα μελέτης πολλών ασθενειών.



Εικόνα 1.3 Μυς.

Επίμυς

Ο επίμυς ή αρουραίος (*Rattus norvegicus*) είναι το δεύτερο πιο συχνά χρησιμοποιούμενο τρωκτικό σε πειραματισμούς. Ο επίμυς ήταν το πρώτο είδος ζώου που εκτράφηκε για ερευνητικούς σκοπούς με χαμηλό κόστος (Εικόνα 1.4).

Τα τελευταία είκοσι χρόνια, έχει δημιουργηθεί μεγάλος αριθμός αμιγών φυλών επιμύων, στις οποίες δόθηκαν τα ονόματα των ερευνητών που ασχολήθηκαν με την παραγωγή τους. Με τη χρησιμοποίηση αυτών των φυλών, έχουν διεξαχθεί έρευνες σε πολλά και σημαντικά θέματα, όπως ο ρόλος των βιταμινών Α, Β₁, Β₂, C, Ε, η καρκινογένεση κ.λπ. (Leader and Stark, 1987).



Εικόνα 1.4 Επίμυς.

Ινδικό χοιρίδιο

Το ινδικό χοιρίδιο (*Cavia porcellus*), λόγω των ειδικών βιολογικών χαρακτηριστικών του, έχει αποτελέσει ένα άριστο ζωικό πρότυπο για έρευνες σχετικά με την ανακάλυψη της βιταμίνης C, τη διάγνωση της φυματίωσης και τη μελέτη των αναφυλακτικών αντιδράσεων (Εικόνα 1.5). Έρευνες που πραγματοποιήθηκαν με τη χρησιμοποίηση ινδικών χοιριδίων και βραβεύτηκαν με βραβείο Νόμπελ αφορούσαν θέματα, όπως η παρασκευή ορού κατά της διφθερίτιδας, η μελέτη του μηχανισμού ανάπτυξης ανοσίας, η παρασκευή στρεπτομυκίνης και η μελέτη της χημικής δομής των αντισωμάτων.



Εικόνα 1.5 Ινδικό χοιρίδιο.

Χάμστερ (κρικητός)

Το χάμστερ ή κρικητός (*Mesocricetus auratus*) έχει χρησιμοποιηθεί σε μελέτες της λείσμανιάσης, της εγκεφαλίτιδας, της λύσσας, της καρκινογένεσης, της COVID-19 κ.λπ.



Εικόνα 1.6 Χάμστερ.

1.3.2. Λαγόμορφα

Κουνέλι

Το κουνέλι (*Oryctolagus cuniculus*) είναι ένα από τα πρώτα ζώα εργαστηρίου που χρησιμοποιήθηκαν στην έρευνα. Η φυλή που χρησιμοποιείται συνήθως είναι η Λευκή Νέας Ζηλανδίας (New Zealand White) (Εικόνα 1.7). Έχουν δημιουργηθεί μέχρι σήμερα περίπου 80 αμιγείς φυλές. Το κουνέλι αποτελεί πολύ καλό ζωικό πρότυπο για τη μελέτη της αρτηριοσκλήρυνσης, της υπέρτασης, θεμάτων σχετικών με την εμβρυολογία, της τυποποίησης των ορών, της συμπεριφοράς, του σακχαρώδη διαβήτη κ.λπ.



Εικόνα 1.7 Κουνέλι Νέας Ζηλανδίας.

1.3.3. Σαρκοφάγα

Σκύλος

Στο είδος του σκύλου (*Canis familiaris*) ανήκουν 300 περίπου φυλές, πολλές από τις οποίες διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους. Μετά από αρκετές δεκαετίες έρευνας, επιλέχθηκε η φυλή Beagle ως η καταλληλότερη για χρήση στην έρευνα, δεδομένου ότι έχει επιθυμητά χαρακτηριστικά, όπως ήπιο χαρακτήρα, έλλειψη επιθετικότητας, συνήθειες ομαδικής συμβίωσης και μέτριο σωματικό μέγεθος (Εικόνα 1.8). Η φυλή αυτή αρχικά εκτράφηκε στην Αγγλία και θεωρούνταν, από την αρχή του αιώνα, ως άριστη κυνηγετική φυλή (Andersen and Good, 1970).

Σήμερα, ο σκύλος χρησιμοποιείται συχνά σε μελέτες που αφορούν τους τομείς της Τοξικολογίας και της Φαρμακολογίας καθώς και ως ζωικό πρότυπο για τη μελέτη καρδιαγγειακών νοσημάτων, του σακχαρώδη διαβήτη, της λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας, του γλαυκώματος, της σπειραματονεφρίτιδας, της μεταμόσχευσης οργάνων κ.λπ. (Poole, 1987).



Εικόνα 1.8 Σκύλος φυλής Beagle.

Γάτα

Η γάτα (*Felis catus*) έχει χρησιμοποιηθεί, από την αρχή του προηγούμενου αιώνα, στη μελέτη κυρίως του νευρικού συστήματος. Για πολύ καιρό, χρησιμοποιούνταν ζώα που συλλαμβάνονταν από τη φύση και είχαν συνήθως κακή υγεία. Επακόλουθο αυτού ήταν τα αποτελέσματα των ερευνών να έχουν μικρή επαναληψιμότητα. Σήμερα, η εκτροφή ζώων που φέρουν έναν ή περισσότερους γνωστούς μικροοργανισμούς (gnotobiotic animals) παρέχει πλεονεκτήματα, όπως μεγάλη επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων των πειραμάτων και λιγότερα προβλήματα υγείας των ζώων. Η γάτα χρησιμοποιείται ως ζωικό πρότυπο για τη μελέτη νευροφυσιολογικών μηχανισμών του καρδιαγγειακού και του αναπνευστικού συστήματος.



Εικόνα 1.9 Γάτα.

Κουνάβι

Το ευρωπαϊκό κουνάβι (*Mustela putorius furo*) (Εικόνα 1.10) χρησιμοποιείται στη βιοϊατρική έρευνα σε μελέτες που σχετίζονται με την ανθρώπινη γρίπη, τη νόσο COVID-19, το πεπτικό έλκος, τον μεταβολισμό των καροτενοϊδών και την κυστική ίνωση. Συνήθως, χρησιμοποιούνται αρσενικά ζώα, λόγω προβλημάτων υγείας που παρουσιάζουν τα θηλυκά κατά τη φάση του οίστρου. Έχουν ιδιαίτερες διατροφικές ανάγκες, οι οποίες θα πρέπει να εξασφαλίζονται κατά την εκτροφή τους.



Εικόνα 1.10 Κουνάβι.

1.3.4. Οπληφόρα

Χοίρος

Ο χοίρος προέρχεται πιθανώς από διασταύρωση του ευρωπαϊκού αγριόχοιρου (*Sus scrofa*) με ασιατικά είδη (*Sus vittatus*) (Εικόνα 1.11). Κατά τον Μεσαίωνα, χρησιμοποιήθηκε σε έρευνες που αφορούσαν την Ανατομία και τη Φυσιολογία. Καθώς το είδος αυτό έχει πολλές ομοιότητες με τον άνθρωπο, αλλά είναι δύσκολη η εκτροφή του ως ζώου εργαστηρίου, από τα μέσα του αιώνα μας χρησιμοποιούνται οι μικρόσωμοι ή νανόμορφοι χοίροι (minipigs). Οι τελευταίοι αποτελούν πολύ καλά ζωικά πρότυπα για τη μελέτη θεμάτων σχετικών με την αναπαραγωγή, το πεπτικό σύστημα (πάγκρεας, έλκος στομάχου), την Ανοσολογία, τη μεταμόσχευση οργάνων, τη θερμορρύθμιση, τη λειτουργία του καρδιαγγειακού συστήματος και τη νεφρική λειτουργία.



Εικόνα 1.11 Χοίρος.

1.3.5. Πρωτεύοντα πλην ανθρώπου

Macaca

Στο γένος *Macaca* ανήκουν 12 είδη, που ζουν κυρίως στην Ασία. Τα είδη *M. fascicularis* (*cynomolgus*) (Εικόνα 1.12A) και *M. rhesus* (Εικόνα 1.12B) προτιμώνται στην έρευνα. Σε μικρότερο βαθμό χρησιμοποιούνται και άλλα πρωτεύοντα, κυρίως σε μελέτες συμπεριφοράς. Η φυσιολογία αυτών των ειδών μοιάζει σημαντικά με εκείνη του ανθρώπου. Συχνά, χρησιμοποιούνται σε τοξικολογικές μελέτες κατά το στάδιο του τελικού ελέγχου φαρμάκων, πριν από τη χορήγησή τους σε εθελοντές ανθρώπους.

Αρχικά, τα πρωτεύοντα συλλαμβάνονταν από το φυσικό τους περιβάλλον, ενώ αργότερα άρχισε και η εκτροφή τους. Σύμφωνα με τον νόμο, πολλά είδη προστατεύονται και απαγορεύεται πλέον η σύλληψή τους.

Η μαϊμού αποτελεί καλό ζωικό πρότυπο για μελέτες που αφορούν μολυσματικές νόσους (π.χ. πολιομυελίτιδα), τις ομάδες αίματος, τη φυσιοπαθολογία αναπαραγωγής, την Ανοσολογία, τη μεταμόσχευση οργάνων, τη νόσο COVID-19 κ.λπ.

Πέραν των μαϊμούδων του γένους *Macaca* (μακάκοι), χρησιμοποιούνται για ερευνητικούς σκοπούς και άλλα γένη πρωτευόντων, που ανήκουν στις υποοικογένειες των μαϊμούδων του Παλαιού Κόσμου (*Cercopithecoidea*), που κατάγονται από την Αφρική και την Ασία, και του Νέου Κόσμου (*Ceboidea*), που κατάγονται από τη Νότιο Αμερική.

(A)



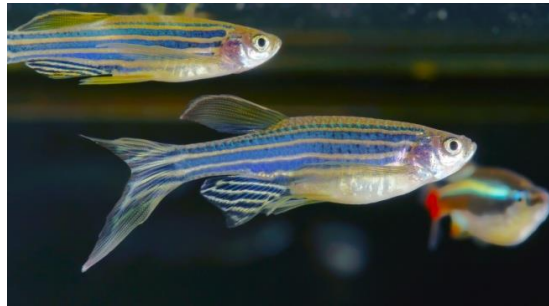
(B)



Εικόνα 1.12 Μακάκοι: (A) *M. fascicularis*. (B) *M. rhesus*.

1.3.6. Ψάρια

Τα ψάρια χρησιμοποιούνται ολοένα και περισσότερο στις πειραματικές μελέτες, γεγονός που τα καθιστά πλέον τη δεύτερη πιο χρησιμοποιούμενη κατηγορία ζώου. Ένα σημαντικό πλεονέκτημά τους είναι η παραγωγή μεγάλου αριθμού αυγών σε τακτικά χρονικά διαστήματα. Στις περισσότερες περιπτώσεις, τα αυγά είναι διαφανή, δίνοντας τη δυνατότητα στον ερευνητή για άμεση παρατήρηση της ανάπτυξής τους. Έτσι, καθίστανται ιδανικό ζωικό πρότυπο για τη μελέτη της επίδρασης ποικίλων χημικών ή φυσικών ερεθισμάτων. Από τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα είδη ψαριών είναι το ζεβρόψαρο (*Danio rerio*), το οποίο χρησιμοποιείται σε μελέτες της πρώιμης εμβρυϊκής ανάπτυξης, του καρκίνου, αιματολογικών διαταραχών κ.λπ. (Εικόνα 1.13). Η εφαρμογή τεχνικών γενετικής μηχανικής στο ζεβρόψαρο έχει επιτρέψει την ανάπτυξη σημαντικού αριθμού μεταλλαγμένων ζεβρόψαρων.



Εικόνα 1.13 Ζεβρόψαρο.

1.3.7. Αμφίβια

Από τα αμφίβια, οι βάτραχοι του γένους *Xenopus spp.* χρησιμοποιούνται σε μελέτες εμβρυογένεσης, πρώιμης ανάπτυξης του εμβρύου κ.λπ. Η πρώιμη ανάπτυξη των εμβρύων εξελίσσεται σε πιο αργό ρυθμό συγκριτικά με άλλα είδη ζώων, επομένως η χρήση αυτού του είδους προσφέρει πλεονέκτημα στους ερευνητές.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Andersen, A.C., & Good, L.S. (1970). *The Beagle as an Experimental Dog*. Iowa State University Press, Ames. ISBN-13. 9780813801698
- Anonymous (2019). European Commission. Report from the Commission to the European Parliament and the Council. 2019 report on the statistics on the use of animals for scientific purposes in the Member States of the European Union in 2015-2017. <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/04a890d4-47ff-11ea-b81b-01aa75ed71a1>
- Festing, M.F.W. (1979). *Inbred Strains in Biomedical Research*. Macmillan Press. ISBN-10. 1349038180
- Holub, M. (1992). The Nude Mouse. In "Immunodeficient Rodents" ILAR NEWS, 34, 1-3. <https://doi.org/10.1093/ilar.34.1-2.1>
- Leader, R.W., & Stark, D. (1987). The importance of animals in biomedical research. *Perspectives in Biology and Medicine*, 30, 470-485. <http://doi.org/10.1353/pbm.1987.0031>
- Poole, T.B. (1987). *UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals*. Longman Scientific and Technical, Harlow. ISBN-13: 978-0582409118

Κεφάλαιο 2

Σύνοψη

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται συνοπτικά οι βασικές αρχές ηθικής και δεοντολογίας που διέπουν τη χρησιμοποίηση των ζώων για επιστημονικούς σκοπούς. Αυτές συνοψίζονται στην «Αντικατάσταση», τη «Μείωση» και τη «Βελτίωση». Επιπλέον, παρουσιάζονται οι πέντε ελευθερίες που θα πρέπει να εξασφαλίζονται στα ζώα, προκειμένου να εξασφαλιστεί η ευζωία τους.

Προαπαιτούμενη γνώση

Δεν είναι απαραίτητη.

2 ΚΩΔΙΚΑΣ ΗΘΙΚΗΣ ΚΑΙ ΔΕΟΝΤΟΛΟΓΙΑΣ ΤΗΣ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΩΝ ΖΩΩΝ ΓΙΑ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΥΣ ΣΚΟΠΟΥΣ

Η ευαισθητοποίηση της κοινής γνώμης και το ενδιαφέρον των επιστημόνων που ασχολούνται με την υγεία και την ευζωία των ζώων εργαστηρίου έχουν καταστήσει σαφές ότι η χρησιμοποίηση ζώων στη βιοϊατρική έρευνα θα πρέπει να ακολουθεί συγκεκριμένους νομοθετικούς και επιστημονικούς κανόνες, ώστε να διασφαλίζονται η φροντίδα και η ορθή μεταχείριση των ζώων καθώς και η ποιότητα της επιτελούμενης έρευνας. Στην υφιστάμενη νομοθεσία δίνεται έμφαση στην τήρηση του κώδικα ηθικής και δεοντολογίας από τους εκτροφείς, προμηθευτές και ερευνητές, κατά τη χρησιμοποίηση των ζώων για επιστημονικούς σκοπούς (Ανώνυμος, 2013).

Πρώτοι οι Russell και Burch, στο βιβλίο τους *Principles of Humane Experimental Technique* (Russell and Burch, 1959), διατύπωσαν τη «Συνθήκη των τριών R» ως οδηγό για την υπεύθυνη συμπεριφορά των ανθρώπων απέναντι στα ζώα που χρησιμοποιούνται για επιστημονικούς σκοπούς. Στην προσέγγιση των Russell και Burch βασίστηκαν οι σχετικές νομοθετικές ρυθμίσεις στις περισσότερες χώρες του κόσμου. Συγκεκριμένα, τα τρία R αναφέρονται στα παρακάτω (Wolfensohn and Lloyd, 1994, Knudsen et al., 2011):

Replacement (αντικατάσταση): Σύμφωνα με αυτήν την αρχή, θα πρέπει να διερευνάται η δυνατότητα χρήσης μεθόδων που δεν χρησιμοποιούν ζώα, οι οποίες να δίνουν εξίσου αξιόπιστα αποτελέσματα με εκείνες όπου χρησιμοποιούνται ζώα. Στις μεθόδους αυτές, που ορίζονται ως *εναλλακτικές μέθοδοι*, περιλαμβάνονται:

1. Χρήση ήδη υπάρχουσας γνώσης, η οποία προκύπτει από τη μελέτη της υπάρχουσας βιβλιογραφίας.
2. Πρόβλεψη της πιθανής δράσης ουσιών, με βάση τις φυσικές και χημικές τους ιδιότητες.
3. *In silico* μέθοδοι, όπως μαθηματικά και υπολογιστικά μοντέλα, ποσοτική συσχέτιση δομής-δραστηριότητας μορίων, μοριακά μοντέλα κ.λπ.
4. Χρήση οργανισμών με αποδεδειγμένα μικρή νευροφυσιολογική ευαισθησία, π.χ. ασπόνδυλα, φυτά.
5. Χρήση σπονδυλωτών σε πρώιμο εμβρυολογικό στάδιο.
6. *In vitro* μέθοδοι: κυτταρο-, ιστο- και οργανο-καλλιέργειες.
7. Μελέτες στον άνθρωπο: εθελοντές, επιδημιολογικές μελέτες κ.λπ.
8. Εναλλακτικά, προγράμματα υπολογιστών, ομοιώματα ζώων κ.λπ., που χρησιμοποιούνται στην εκπαίδευση.

Reduction (μείωση): Επιδιώκεται η μείωση του αναγκαίου αριθμού των χρησιμοποιούμενων ζώων σε ένα πείραμα χωρίς, ωστόσο, να υποβαθμίζεται η επιστημονική αξιοπιστία των ευρημάτων. Η μείωση των χρησιμοποιούμενων ζώων σε έναν πειραματισμό μπορεί να επιτευχθεί με διάφορους τρόπους, στους οποίους περιλαμβάνονται:

1. Γνώση της υπάρχουσας βιβλιογραφίας στο υπό μελέτη θέμα, με την οποία αποφεύγεται η άσκοπη επανάληψη πειραμάτων.
2. Τυποποίηση του ζωικού πληθυσμού, μέσω της οποίας μειώνεται η διακύμανση των αποτελεσμάτων.
3. Τις τελευταίες δεκαετίες, η σημαντική εξέλιξη στον τομέα του ελέγχου της υγείας και της τυποποίησης του γενότυπου και των περιβαλλοντικών συνθηκών, συμπεριλαμβανομένης της διατροφής, που συνέβαλαν στην περαιτέρω μείωση της διακύμανσης των αποτελεσμάτων.

4. Εφαρμογή των κατάλληλων στατιστικών μεθόδων για τον προσδιορισμό, κατά τη φάση του σχεδιασμού του ερευνητικού πρωτοκόλλου, του ελάχιστου αναγκαίου αριθμού παρατηρήσεων που είναι απαραίτητες για την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων καθώς και για την επεξεργασία των αποτελεσμάτων της μελέτης.
5. Επαναχρησιμοποίηση ζώων σε πειραματισμούς, τηρουμένων των απαραίτητων προϋποθέσεων, προκειμένου να αποφεύγεται ο επιπρόσθετος πόνος και η ταλαιπωρία των ζώων.
6. Δημοσιοποίηση των αποτελεσμάτων των μελετών, ακόμη και εκείνων στις οποίες δεν επαληθεύτηκε η υπόθεση εργασίας, προς αποφυγή άσκοπης επανάληψης πειραματισμών.

Refinement (βελτίωση): Η αρχή αυτή αναφέρεται στη χρήση μεθόδων που θα οδηγήσουν στη μέγιστη δυνατή μείωση της συχνότητας ή της σοβαρότητας ή και στην εξάλειψη του πιθανού πόνου, ταλαιπωρίας, αγωνίας ή μόνιμης βλάβης των ζώων. Στις μεθόδους αυτές περιλαμβάνονται:

1. Η περίοδος πριν από την έναρξη του πειράματος. Αναφέρεται, για παράδειγμα, στην αναγνώριση των βιολογικών αναγκών των ζώων και τη διασφάλιση των απαραίτητων συνθηκών εκτροφής και της υγείας τους. Η προσαρμογή του περιβάλλοντος, ώστε αυτό να ανταποκρίνεται στις ανάγκες του ζώου, αποτελεί προϋπόθεση για τη διατήρηση της ομοιόστασής του. Η παρατεταμένη απόκλιση από την ομοιόστασή του οδηγεί σε ανώμαλη συμπεριφορά και σε ασθένεια.
2. Η περίοδος του πειράματος. Η χρήση μεθόδων που προκαλούν πόνο και αγωνία θα πρέπει να γίνεται μόνο όταν αυτό είναι απολύτως απαραίτητο και μόνο μετά από επιστημονική τεκμηρίωση της αναγκαιότητας της χρήσης τους. Δίνεται ιδιαίτερη έμφαση στη χρήση των κατάλληλων σχημάτων αναλγησίας και αναισθησίας, όπου αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν, καθώς και στην έγκαιρη αναγνώριση των μη βάνουσιων καταληκτικών σημείων (humane endpoints).
3. Η περίοδος μετά το πείραμα. Αφορά τη μετεγχειρητική φροντίδα των ζώων με μεθόδους όπως η χορήγηση αναλγητικών ουσιών και αντιβιοτικών και η εξασφάλιση κατάλληλων συνθηκών περιβάλλοντος κ.λπ. Τέλος, θα πρέπει να γίνεται εκτίμηση των μη βάνουσιων καταληκτικών σημείων και να λαμβάνονται τα κατάλληλα μέτρα, εφόσον αυτό κριθεί απαραίτητο.

Η τήρηση των αρχών ηθικής και δεοντολογίας στη χρήση των ζώων για επιστημονικούς σκοπούς, όπως αυτές εκφράζονται από τις αρχές της Αντικατάστασης, Μείωσης και Βελτίωσης, εκτός από το ότι προβλέπεται από τη σχετική εθνική νομοθεσία, αποτελεί και βασική προϋπόθεση για την αδειοδότηση από τις αρμόδιες αρχές ενός πειραματικού πρωτοκόλλου. Ως εκ τούτου, κατά την κατάθεση αίτησης προς έγκριση μιας ερευνητικής πρότασης, απαιτείται η λεπτομερής περιγραφή των συνθηκών και των προϋποθέσεων που θα τηρούνται, προκειμένου να διασφαλίζεται η ευζωία των ζώων που θα χρησιμοποιηθούν. Η τήρηση των όσων δηλώνονται αποτελεί ηθική δέσμευση του ερευνητή και γίνεται με την καθοδήγηση και την επίβλεψη του υπεύθυνου κτηνιάτρου των εγκαταστάσεων εκτροφής, προμήθειας και χρήσης, ενώ προς αυτόν τον σκοπό συστήνεται σε κάθε εγκατάσταση ειδική επιτροπή παρακολούθησης και γνωμοδότησης για την ευζωία των ζώων. Επιπλέον, προβλέπονται έλεγχοι από τις αρμόδιες τοπικές κτηνιατρικές αρχές.

Κατά παρόμοιο τρόπο, η εξασφάλιση των συνθηκών για την ευζωία των ζώων που χρησιμοποιούνται σε μια μελέτη ζητείται να δηλωθεί από τον ερευνητή που επιθυμεί να δημοσιεύσει τα αποτελέσματα της πειραματικής μελέτης του σε διεθνούς κύρους επιστημονικά περιοδικά, με τη συμπλήρωση όλων των αιτούμενων στοιχείων σε τυποποιημένες δηλώσεις συμμόρφωσης προς τις διεθνείς πρακτικές προς αυτόν τον σκοπό, όπως οι ARRIVE (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments) (Ανώνυμος, 2021) και PREPARE (Planning Research and Experimental Procedures on Animals: Recommendations for Excellence) (Smith et al., 2018).

Επιπλέον των παραπάνω, έχουν πλέον αναγνωριστεί από την επιστημονική κοινότητα οι παρακάτω «5 Ελευθερίες», οι οποίες θα πρέπει να εξασφαλίζονται σε οποιοδήποτε ζώο ασχέτως του είδους του ή του σκοπού για τον οποίον εκτρέφεται και οι οποίες συμβάλλουν στην εξασφάλιση της ευζωίας του:

1. Ελευθερία από δίψα και πείνα, με την παροχή φρέσκου νερού και κατάλληλου τύπου και ικανής ποσότητας τροφής.
2. Ελευθερία από καταπόνηση, με την παροχή κατάλληλου περιβάλλοντος-καταφυγίου και χώρου για ανάπαυση.
3. Ελευθερία από πόνο, τραυματισμό και ασθένεια, με την πρόληψη ασθενειών και τραυματισμών καθώς και την ταχεία διάγνωση και θεραπεία ασθενειών.

4. Ελευθερία να εκφράζουν φυσιολογική συμπεριφορά, με την παροχή επαρκούς χώρου, κατάλληλων εγκαταστάσεων, εμπλουτισμού του περιβάλλοντος και εξασφάλιση συντροφιάς από άλλα ζώα του ίδιου είδους.
5. Ελευθερία από φόβο και άγχος, με την εξασφάλιση των κατάλληλων συνθηκών και λήψη μέριμνας για την αποφυγή νοητικής καταπόνησης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Knudsen, L.E., Leenaars, M., Savenije, B.S., & Ritskes-Hoitinga, M. (2011). Alternatives. Refinement, reduction and replacement of animal uses in the life sciences. In J. Hau & S.J. Shapiro (Eds.), *Handbook of laboratory animal science*. 3rd edition. Volume I. Essential Principles and Practices (pp. 635-654). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b10416>
- Russell, W.M.S., & Burch, R.L. (1959). *The principles of humane experimental technique*. Methuen. <https://doi.org/10.5694/j.1326-5377.1960.tb73127.x>
- Smith, A.J., Clutton, R.E., Lilley, E., Hansen, K.E.A., & Brattelid, T. (2018). PREPARE: guidelines for planning animal research and testing. *Laboratory Animals*, 52, 135-141. <http://doi.org/10.1177/0023677217724823>
- Wolfensohn, S., & Lloyd, M. (1994). *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare*. Oxford University Press. ISBN-13: 9780198548331
- Ανώνυμος (2013). Προεδρικό Διάταγμα 56/2013. «Προσαρμογή της ελληνικής νομοθεσίας στην Οδηγία 2010/63/ΕΕ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 22ας Σεπτεμβρίου 2010 (L 276/33/20.10.2010) “σχετικά με την προστασία των ζώων που χρησιμοποιούνται για επιστημονικούς σκοπούς”». (ΦΕΚ Α' 106/30-4-2013)
- Ανώνυμος (2021). ARRIVE guidelines. <https://arriveguidelines.org/>

Κεφάλαιο 3

Σύνοψη

Στο κεφάλαιο αυτό γίνεται αναφορά στις κυριότερες εναλλακτικές μεθόδους, που περιλαμβάνουν τη μελέτη της υπάρχουσας βιβλιογραφίας, τη χρήση κατώτερων οργανισμών, τα υπολογιστικά μοντέλα, τις *in vitro* μεθόδους, τα ανθρώπινα πρότυπα και άλλες μεθόδους που χρησιμοποιούνται στην εκπαίδευση.

Προαπαιτούμενη γνώση

Κεφάλαιο 2 (Κώδικας ηθικής και δεοντολογίας της χρησιμοποίησης των ζώων για επιστημονικούς σκοπούς).

3 ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Σύμφωνα με τον κώδικα ηθικής και δεοντολογίας των Russell και Burch, πριν από τον σχεδιασμό ενός πειραματικού πρωτοκόλλου, θα πρέπει να διερευνάται η πιθανότητα να αποφευχθεί η χρήση ζώων, να μειωθεί ο αριθμός τους στον ελάχιστο αναγκαίο και να βελτιωθεί η μέθοδος μειώνοντας κατά το δυνατό τον πόνο και την ταλαιπωρία των ζώων. Προς την κατεύθυνση αυτή συμβάλλει η χρήση *εναλλακτικών μεθόδων*, στις οποίες περιλαμβάνονται οι εργαστηριακές εξετάσεις, τα τεστ, οι μέθοδοι, οι τεχνικές, τα εργαλεία, οι στρατηγικές, οι προσεγγίσεις κ.λπ. που συμβάλλουν στην πρακτική εφαρμογή των 3 Rs (Ανώνυμος, 2021). Η αναζήτηση εναλλακτικών μεθόδων αφορά κυρίως τους τομείς της Φαρμακολογίας και της Τοξικολογίας και λιγότερο τη διερεύνηση φυσιολογικών και παθολογικών μηχανισμών. Η χρήση των εναλλακτικών μεθόδων ενθαρρύνεται ιδιαίτερα από τη νομοθεσία που διέπει τη χρήση ζώων για επιστημονικούς σκοπούς. Οι λόγοι που ωθούν στη χρησιμοποίηση εναλλακτικών μεθόδων είναι πρωτίστως ηθικοί, αλλά και οικονομικοί και πρακτικοί (εξοικονόμηση χρόνου, ευκολία τυποποίησής τους, απαίτηση λιγότερου ανθρώπινου δυναμικού κ.λπ.).

Οι κυριότερες εναλλακτικές μέθοδοι είναι (Balls, 1994, Knudsen et al., 2011):

1. Χρήση ήδη υπάρχουσας γνώσης, η οποία προκύπτει από τη μελέτη της υπάρχουσας βιβλιογραφίας.
2. Χρήση κατώτερων οργανισμών.
3. Υπολογιστικά μοντέλα: *in silico* μέθοδοι, όπως μαθηματικά και υπολογιστικά μοντέλα, ποσοτική συσχέτιση δομής-δράσης των μορίων κ.λπ.
4. *In vitro* μέθοδοι: κυτταρο-, ιστο- και οργανο-καλλιέργειες.
5. Ανθρώπινα μοντέλα: εθελοντές, επιδημιολογικές μελέτες κ.λπ.
6. Εναλλακτικές μέθοδοι στην εκπαίδευση.

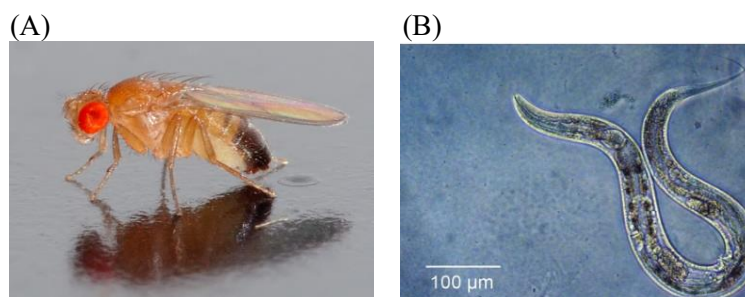
3.1. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΥΠΑΡΧΟΥΣΑΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

Η μελέτη της υπάρχουσας βιβλιογραφίας για την αποφυγή άσκοπων πειραματισμών προϋποθέτει πρόσβαση των ερευνητών σε βάσεις επιστημονικών δεδομένων και δημοσιευμένων μελετών καθώς και καλή γνώση ξένων γλωσσών (κυρίως της αγγλικής) και χρήσης του διαδικτύου και των ηλεκτρονικών υπολογιστών. Προωθείται διεθνώς η ανοικτότητα στην πρόσβαση τόσο στη θεματολογία και τη μεθοδολογία των αδειοδοτημένων μελετών υπό εξέλιξη όσο και στα αναλυτικά δεδομένα των ευρημάτων των ήδη δημοσιευμένων μελετών προς ενδεχόμενη αξιοποίηση και μετα-ανάλυση από άλλους ερευνητές. Συστήνεται, επίσης, η αναζήτηση και εύρεση πιστοποιημένων εναλλακτικών μεθόδων πριν από τη διεξαγωγή ενός πειραματικού πρωτοκόλλου σε ζωντανά ζώα, για τις οποίες υπάρχουν ειδικά εργαστήρια - βάσεις δεδομένων (ECVAM: European Centre for the Validation of Alternative Methods, <https://ec.europa.eu/jrc/en/eurl/ecvam>).

3.2. ΧΡΗΣΗ ΚΑΤΩΤΕΡΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

Με τη χρήση κατώτερων οργανισμών, όπως βακτήρια, ζύμες, νηματώδη, έντομα ή μαλάκια, μπορεί να μειωθεί ο αριθμός των χρησιμοποιούμενων σπονδυλωτών στην έρευνα. Παράδειγμα της χρήσης βακτηρίων αποτελεί το Ames test, το οποίο χρησιμοποιεί τη *Salmonella typhimurium* για την ανίχνευση ουσιών με μεταλλαξιογόνες ιδιότητες, που πιστεύεται ότι αποτελούν ένα από τα αίτια της καρκινογένεσης. Άλλο παράδειγμα αποτελεί το LAL test (Limulus Amoebocyte Lysate test), που χρησιμοποιείται για τον έλεγχο της

πυρετογόνου δράσης διαφόρων ουσιών. Μέχρι πρόσφατα, για τον έλεγχο αυτόν, που γίνεται σε όλες τις ουσίες που χορηγούνται παρεντερικά, χρησιμοποιούνταν κουνέλια. Από τις ζύμες, η συχνότερα χρησιμοποιούμενη είναι ο *Saccharomyces cerevisiae*. Χρησιμοποιείται σε μελέτες για την κατανόηση του μηχανισμού της απόπτωσης, του καρκίνου, της κυτταρικής βιολογίας νευροεκφυλιστικών νόσων, όπως η νόσος Alzheimer, Parkinson κ.λπ. Ασπόνδυλοι οργανισμοί, όπως το έντομο *Drosophila melanogaster* (φρουτόμυγα) και το ευκαρυωτικό νηματώδες *Caenorhabditis elegans* (Εικόνα 3.1), με πλεονεκτήματα όπως μικρή διάρκεια ζωής, μικρό μέγεθος, απλή ανατομία και μικρό κόστος διατήρησης, χρησιμοποιούνται ευρέως ως εναλλακτικές μέθοδοι. Η *Drosophila melanogaster* χρησιμοποιείται σε μελέτες που αφορούν το ανθρώπινο γονιδίωμα, νευροεκφυλιστικές νόσους κ.λπ. Το *Caenorhabditis elegans* χρησιμοποιείται σε μελέτες που αφορούν το νευρικό σύστημα, παθήσεις του ανοσοποιητικού συστήματος, τον καρκίνο, τον σακχαρώδη διαβήτη, τη μακροβιότητα κ.λπ. (Doke and Dhawale, 2015). Το νευρικό σύστημα ορισμένων κεφαλόποδων μαλακίων είναι πολύ καλά αναπτυγμένο και είναι συγκρίσιμο με εκείνο των κατώτερων σπονδυλωτών και, έτσι, μπορούν αυτά να χρησιμοποιηθούν σε σχετικές μελέτες.



Εικόνα 3.1 (A) *Drosophila melanogaster*. (B) *Caenorhabditis elegans*.

3.3. ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ (computer models)

Η ανάπτυξη μαθηματικών τύπων με τους οποίους εκφράζεται η σχέση μεταξύ των φυσικοχημικών ιδιοτήτων ενός μορίου και της βιολογικής δράσης του και η ενσωμάτωσή τους σε κατάλληλα λογισμικά έχει καταστήσει δυνατή την πρόβλεψη της πιθανής βιολογικής ή τοξικής δράσης μιας χημικής ουσίας ή ενός υποψηφίου προς κατασκευή φαρμάκου, μέσω ελέγχου τους με προγράμματα προσομοίωσης σε ηλεκτρονικούς υπολογιστές χωρίς την ανάγκη διεξαγωγής πειραματισμών σε ζώα. Έτσι, έχει συντελεστεί αλματώδης πρόοδος στην έρευνα στον τομέα της καρκινογένεσης και των μεταλλάξεων. Πλέον, στη φαρμακευτική βιομηχανία, μόνο εκείνα τα μόρια για τα οποία υπάρχουν βάσιμα στοιχεία από μελέτες προσομοίωσης σε ηλεκτρονικούς υπολογιστές (μελέτες *in silico*) ότι θα μπορούσαν να έχουν την επιθυμητή δράση προκρίνονται για *in vivo* αξιολόγηση με πειραματικές μελέτες.

3.4. IN VITRO ΜΕΘΟΔΟΙ

Η καλλιέργεια κυττάρων, ιστών ή και οργάνων εκτός του σώματος, υπό συνθήκες εργαστηρίου σε κατάλληλα καλλιεργητικά υλικά, αποτελεί σημαντική εναλλακτική μέθοδο. Η καλλιέργεια μπορεί να διαρκέσει από λίγες ημέρες έως αρκετούς μήνες ή, σε ορισμένες περιπτώσεις, ακόμη και χρόνια. Οι τεχνικές αυτές χρησιμοποιούνται ευρέως για τον προκαταρκτικό έλεγχο της τοξικότητας και της αποτελεσματικότητας ενός υποψηφίου προς κατασκευή φαρμάκου. Σχεδόν το σύνολο των καλλυντικών, φαρμάκων και χημικών ουσιών ελέγχονται με τη χρήση *in vitro* μεθόδων.

3.5. ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΠΡΟΤΥΠΑ

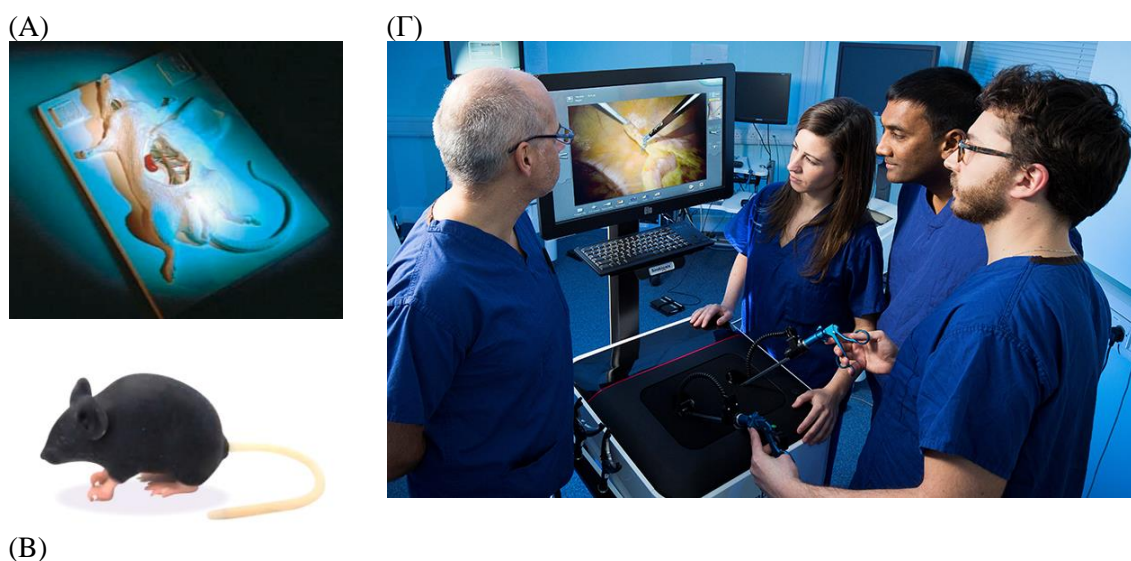
Παρά την ύπαρξη ηθικών, νομοθετικών και πρακτικών προβλημάτων, ο άνθρωπος αποτελεί το ιδανικότερο πρότυπο (μοντέλο) για την τελική δοκιμή πλήθους φαρμακευτικών ουσιών ή καλλυντικών προϊόντων, που ο ίδιος εξάλλου χρησιμοποιεί. Η σχετική νομοθεσία είναι αυστηρή και, σύμφωνα με αυτήν, απαιτείται τόσο η συγκατάθεση του ατόμου που θα συμμετάσχει στο πείραμα όσο και η πλήρης ενημέρωσή του για τους κινδύνους που ενδέχεται να υπάρχουν. Για την ελαχιστοποίηση των κινδύνων που απορρέουν από τη χρήση

ανθρώπινων προτύπων στην έρευνα, οι πιθανές παρενέργειες της αγωγής που πρόκειται να εφαρμοστεί πρέπει οπωσδήποτε να είναι αναστρέψιμες. Τα ανθρώπινα πρότυπα χρησιμοποιούνται συχνά στον έλεγχο του ερεθισμού του δέρματος και της πυρετογόνου δράσης διαφόρων ουσιών. Η μέθοδος της «χορήγησης πολύ μικρής δόσης (microdosing)» πειραματικών φαρμάκων και στη συνέχεια η παρακολούθηση της αντίδρασης του οργανισμού σε αυτά, με τη βοήθεια εξελιγμένων απεικονιστικών μεθόδων, βοηθούν στην εξαγωγή χρήσιμων συμπερασμάτων για την καταλληλότητα ή όχι υποψήφιων φαρμακευτικών ουσιών και για το αν στοιχειοθετείται η ανάγκη για περαιτέρω μελέτη τους με πειραματικές δοκιμές σε ζώα (Ανώνυμος, 2021α).

Εξάλλου, η καταγραφή των ανεπιθύμητων ενεργειών που παρατηρούνται σε ανθρώπους που λαμβάνουν φάρμακα, εκτίθενται σε χημικές ουσίες του περιβάλλοντος, του εργασιακού τους χώρου ή της καθημερινής τους δραστηριότητας αποτελούν την καλύτερη πηγή πληροφόρησης για την εκτίμηση του κινδύνου από την έκθεση του ανθρώπου σε εξωγενείς παράγοντες και η μελέτη τους μειώνει δραστικά την ανάγκη για πειραματισμούς σε ζώα.

3.6. ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΣΤΗΝ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

Σε ό,τι αφορά τη χρήση ζώων για εκπαιδευτικούς σκοπούς, αυτά μπορούν να αντικατασταθούν, σε πολλές περιπτώσεις, από εναλλακτικές μεθόδους, όπως τη χρήση οργάνων ζώων που συλλέγονται από σφαγεία, την επίδειξη τεχνικών και την άσκηση σε αυτές σε ομοιώματα ζώων (Εικόνες 3.2Α, 3.2Β) ή ανθρώπων, την παρακολούθηση εκπαιδευτικών βίντεο, την εξάσκηση σε προγράμματα προσομοίωσης σε ηλεκτρονικούς υπολογιστές (Εικόνα 3.2Γ) κ.λπ.



Εικόνα 3.2 (Α) Ομοίωμα επίμνος. (Β) Ομοίωμα μύος. (Γ) Προσομοιωτής για εκπαίδευση σε τεχνικές λαπαροσκοπικής χειρουργικής.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Balls, M. (1994). Replacement of animal procedures: alternatives in research, education and testing. *Laboratory Animals*, 28, 193-211. <http://doi.org/10.1258/002367794780681714>
- Doke, S.K., & Dhawale, S.C. (2015). Alternatives to animal testing: A review. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 23, 223-229. <http://doi.org/10.1016/j.jsps.2013.11.002>
- Knudsen, L.E., Leenaars, M., Savenije, B.S., & Ritskes-Hoitinga, M. (2011). Alternatives. Refinement, reduction and replacement of animal uses in the life sciences. In J. Hau & S.J. Shapiro (Eds.), *Handbook of laboratory animal science*. 3rd edition. Volume I. Essential Principles and Practices (pp. 635-654). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b10416>
- Ανόνημος (2021). European Commission. Animals used for scientific purposes. Replacement, Reduction and Refinement – The “Three Rs”. https://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/3r/alternative_en.htm
- Ανόνημος (2021α). Alternatives to animal testing. <https://www.peta.org/issues/animals-used-for-experimentation/alternatives-animal-testing/>

Κεφάλαιο 4

Σύνοψη

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται τα βασικότερα σημεία της Εθνικής Νομοθεσίας (Προεδρικό Διάταγμα 56/2013) «σχετικά με την προστασία των ζώων που χρησιμοποιούνται για επιστημονικούς σκοπούς», η οποία είναι εναρμονισμένη με την Οδηγία 2010/63/ΕΕ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 22ας Σεπτεμβρίου 2010.

Προαπαιτούμενη γνώση

Δεν είναι απαραίτητη.

4 ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ

Το υφιστάμενο εθνικό νομοθετικό πλαίσιο «σχετικά με την προστασία των ζώων που χρησιμοποιούνται για επιστημονικούς σκοπούς» περιγράφεται στο Προεδρικό Διάταγμα 56/2013 (Ανώνυμος, 2013), το οποίο συμμορφώνεται με την Οδηγία 2010/63/ΕΕ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 22ας Σεπτεμβρίου 2010 (L276/33/20.10.2010) (Ανώνυμος, 2010).

Παλαιότερα νομοθετήματα, που αφορούσαν την προστασία των ζώων που χρησιμοποιούνται για πειραματικούς ή άλλους επιστημονικούς σκοπούς, ήταν τα ακόλουθα:

1. Νόμος 1197/81: «Περί προστασίας των ζώων» (Ανώνυμος, 1981).
2. ΠΔ 160/91: «Προστασία των πειραματοζώων που χρησιμοποιούνται για πειραματικούς και άλλους επιστημονικούς σκοπούς, σε συμμόρφωση με την οδηγία 86/609/ΕΟΚ», που βασίστηκε στην παραπάνω οδηγία του Συμβουλίου των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων (Ανώνυμος, 1986, Ανώνυμος, 1991).
3. Νόμος 2015/92: «Κύρωση της Ευρωπαϊκής Σύμβασης για την προστασία των σπονδυλωτών ζώων που χρησιμοποιούνται για πειραματικούς και άλλους επιστημονικούς σκοπούς», που αφορά κύρωση της Σύμβασης 123/86 του Συμβουλίου της Ευρώπης (Ανώνυμος, 1986, 1992).

4.1. ΟΡΙΣΜΟΙ

1. «Διαδικασία»: κάθε χρήση ζώου, επεμβατική ή μη, για πειραματικούς ή άλλους επιστημονικούς σκοπούς, με γνωστά ή άγνωστα αποτελέσματα, ή εκπαιδευτικούς σκοπούς, που ενδέχεται να προκαλέσουν στο ζώο πόνο, ταλαιπωρία, αγωνία ή μόνιμη βλάβη ίση ή μεγαλύτερη από εκείνη που προκαλεί η εισαγωγή βελόνας, σύμφωνα με την ορθή κτηνιατρική πρακτική.
2. «Πρωτόκολλο»: ένα πρόγραμμα εργασίας που έχει καθορισμένο επιστημονικό σκοπό και περιλαμβάνει μία ή περισσότερες διαδικασίες.
3. «Εγκατάσταση»: κάθε εγκατάσταση, κτίριο, κτιριακό συγκρότημα ή άλλο οίκημα, που μπορεί να περιλαμβάνει χώρο που δεν είναι απόλυτα περιφραγμένος ή στεγασμένος καθώς και κινητές εσωτερικές εγκαταστάσεις.
4. «Εκτροφέας»: κάθε φυσικό ή νομικό πρόσωπο που εκτρέφει ζώα (που αναφέρονται στο ΠΔ), προκειμένου να χρησιμοποιηθούν σε διαδικασίες, ή για τη χρήση των ιστών ή οργάνων τους για επιστημονικούς σκοπούς, ή για την εκτροφή άλλων ζώων, κατά κύριο λόγο για αυτούς τους σκοπούς, για κερδοσκοπικούς ή μη σκοπούς.
5. «Προμηθευτής»: κάθε φυσικό ή νομικό πρόσωπο, πλην του εκτροφέα, που προμηθεύει με ζώα, προκειμένου να χρησιμοποιηθούν σε διαδικασίες ή για τη χρήση των ιστών ή οργάνων τους για επιστημονικούς σκοπούς, για κερδοσκοπικούς ή μη σκοπούς.
6. «Χρήστης»: κάθε φυσικό ή νομικό πρόσωπο που χρησιμοποιεί ζώα σε διαδικασίες για κερδοσκοπικούς ή μη σκοπούς.

4.2. ΚΥΡΙΟΙ ΣΤΟΧΟΙ

Με το ΠΔ 56/2013 θεσπίζονται μέτρα για την προστασία των ζώων που χρησιμοποιούνται για επιστημονικούς ή εκπαιδευτικούς σκοπούς. Για τον σκοπό αυτόν, θεσπίζονται κανόνες σχετικά με τα εξής:

1. Αντικατάσταση και μείωση της χρήσης ζώων σε διαδικασίες και βελτίωση της εκτροφής, παροχής στέγης, φροντίδας και χρήσης ζώων σε διαδικασίες.
2. Καταγωγή, εκτροφή, σήμανση των ζώων, παροχή φροντίδας και στέγης και η θανάτωσή τους.
3. Λειτουργία εκτροφικών, προμηθευτών και χρηστών.
4. Αξιολόγηση και αδειοδότηση πρωτοκόλλων που περιλαμβάνουν τη χρήση ζώων σε διαδικασίες.

4.3. ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Τα είδη ζώων που προστατεύονται από το ΠΔ 56/2013 είναι α) ζώοντα σπονδυλωτά ζώα πλην του ανθρώπου, συμπεριλαμβανομένων των προνυμφών που τρέφονται ανεξάρτητα και των εμβρύων των θηλαστικών κατά το τελευταίο τρίτο της ανάπτυξής τους και β) ζώοντα κεφαλόποδα. Ωστόσο, τα ακόλουθα είδη ζώων μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε διαδικασίες, μόνο με την προϋπόθεση ότι αυτά έχουν εκτραφεί για χρήση σε διαδικασίες:

1. Μυς (ποντικός) (*Mus musculus*)
2. Επίμυς (αρουραίος) (*Rattus norvegicus*)
3. Ινδικό χοιρίδιο (*Cavia porcellus*)
4. Χρυσόμαλλος κρικητός (χάμστερ) (*Mesocricetus auratus*)
5. Κινέζικος κρικητός (*Cricetulus griseus*)
6. Γέρβιλος (ζέρβιλος) της Μογγολίας (*Meriones unguiculatus*)
7. Κουνέλι (*Oryctolagus cuniculus*)
8. Σκύλος (*Canis familiaris*)
9. Γάτα (*Felis catus*)
10. Όλα τα είδη πρωτεύοντων πλην του ανθρώπου
11. Βάτραχος [*Xenopus (laevis, tropicalis)*, *Rana (temporaria, pipiens)*]
12. Ζεβρόψαρο (*Danio rerio*)

Δεν επιτρέπεται η χρήση σε διαδικασίες απειλούμενων ειδών της άγριας πανίδας και γενικότερα ζώων που έχουν συλληφθεί και απομακρυνθεί από την άγρια φύση, εκτός αν υπάρχει έγγραφη επιστημονική τεκμηρίωση του χρήστη για την αναγκαιότητα της χρήσης τους, η οποία να έχει εγκριθεί από την επιτροπή αξιολόγησης πρωτοκόλλων. Επίσης, δεν επιτρέπεται η χρήση αδέσποτων ζώων ή επανελθόντων στην ημιάγρια κατάσταση, με εξαίρεση τις περιπτώσεις όπου α) υπάρχει επιτακτική ανάγκη διεξαγωγής μελετών ως προς την υγεία και την ευζωία των ζώων αυτών ή λόγω σοβαρών απειλών κατά του περιβάλλοντος ή της υγείας των ανθρώπων ή των ζώων και β) υπάρχει έγγραφη επιστημονική τεκμηρίωση του χρήστη ότι ο σκοπός της διαδικασίας μπορεί να επιτευχθεί μόνο με τη χρήση ήμερων ειδών αδέσποτων ζώων ή επανελθόντων στην ημιάγρια κατάσταση.

4.4. ΚΥΡΙΑ ΘΕΜΑΤΑ ΠΟΥ ΡΥΘΜΙΖΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗ ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ

Κύρια θέματα που ρυθμίζονται από τις διατάξεις της υφιστάμενης νομοθεσίας είναι:

1. Η εφαρμογή της αρχής της αντικατάστασης, μείωσης και βελτίωσης.
2. Οι μέθοδοι θανάτωσης.
3. Οι διατάξεις που αφορούν τη χρήση ορισμένων κατηγοριών ζώων σε διαδικασίες, όπως απειλούμενα είδη, πρωτεύοντα πλην ανθρώπου, ζώα που έχουν συλληφθεί και απομακρυνθεί από την άγρια φύση, ζώα που εκτρέφονται για χρήση σε διαδικασίες, αδέσποτα ζώα ή επανελθόντα στην ημιάγρια κατάσταση.
4. Η περιγραφή των προϋποθέσεων εκτέλεσης διαδικασιών σε ζώα, που αφορούν την επιλογή των κατάλληλων μεθόδων, την αναισθητοποίηση, την κατάταξη της δριμύτητας των διαδικασιών, την επαναχρησιμοποίηση ζώων σε διαδικασίες, την ολοκλήρωση της διαδικασίας, την κοινή χρήση οργάνων και ιστών και την πιθανή απελευθέρωση και επιστροφή των ζώων στο αρχικό τους περιβάλλον.
5. Η περιγραφή της διαδικασίας αδειοδότησης εγκαταστάσεων εκτροφής, προμήθειας και χρήσης, των απαιτήσεων για τους χώρους και τον εξοπλισμό των εγκαταστάσεων, των προϋποθέσεων της

επάρκειας του προσωπικού, των ευθυνών του προσωπικού, του ρόλου του υπεύθυνου κτηνιάτρου, της σύνθεσης και των καθηκόντων της επιτροπής παρακολούθησης και γνωμοδότησης για την ευζωία των ζώων, της στρατηγικής εκτροφής πρωτευόντων πλην ανθρώπου, της τήρησης των προβλεπόμενων αρχείων ζώων, της τήρησης αρχείων και της σήμανσης για σκύλους, γάτες και πρωτεύοντα πλην ανθρώπου, και των αρχών φροντίδας και παροχής στέγης στα ζώα. Σε ειδικό Παράρτημα γίνεται αναφορά με λεπτομέρεια όλων των απαραίτητων τεχνικών στοιχείων που αφορούν τις απαιτήσεις για τις εγκαταστάσεις και την παροχή στέγης και φροντίδας στα ζώα, ανά είδος και σωματικό βάρος ζώου.

6. Ο καθορισμός των αρμόδιων εθνικών αρχών που είναι υπεύθυνες για τις επιθεωρήσεις.
7. Η περιγραφή των απαιτήσεων για την αδειοδότηση των πρωτοκόλλων, της αίτησης για αδειοδότηση και της διαδικασίας αξιολόγησης του πρωτοκόλλου, συμπεριλαμβανομένης της αναδρομικής αξιολόγησης αυτού, της χορήγησης άδειας πρωτοκόλλου, της μη τεχνικής περίληψης των πρωτοκόλλων, της διαδικασίας χορήγησης της άδειας εκτέλεσης του πρωτοκόλλου, και της σύνθεσης της Εθνικής Επιτροπής για την ευζωία των ζώων που χρησιμοποιούνται για επιστημονικούς σκοπούς.
8. Η συλλογή στατιστικών στοιχείων.

4.5. ΑΡΜΟΔΙΕΣ ΑΡΧΕΣ

Αρμόδιες αρχές για την εφαρμογή των διατάξεων ορίζονται α) η Διεύθυνση Κτηνιατρικής Αντίληψης, Φαρμάκων και Εφαρμογών της Γενικής Διεύθυνσης Κτηνιατρικής του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, ως αρμόδια κεντρική αρχή, και β) οι Διευθύνσεις Κτηνιατρικής της οικείας Περιφέρειας και οι κτηνιατρικές υπηρεσίες της οικείας Περιφερειακής Ενότητας, ως αρμόδιες περιφερειακές αρχές και ως αρμόδιες αρχές της Περιφερειακής Ενότητας, αντίστοιχα.

4.6. ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΑΡΧΗΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ, ΜΕΙΩΣΗΣ ΚΑΙ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ

Οι χρήστες υποχρεούνται να εφαρμόζουν την αρχή της αντικατάστασης, δηλαδή, όπου είναι δυνατό, να χρησιμοποιούν άλλη επιστημονικά ικανοποιητική μέθοδο ή διαδικασία, η οποία δεν περιλαμβάνει τη χρήση ζώου. Οι χρήστες υποχρεούνται να εφαρμόζουν την αρχή της μείωσης, δηλαδή να μειώνουν στο ελάχιστο δυνατό τον αριθμό των ζώων που χρησιμοποιούνται σε πρωτόκολλα χωρίς να διακυβεύονται οι σκοποί του πρωτοκόλλου. Οι εκτροφείς, οι προμηθευτές και οι χρήστες υποχρεούνται να εφαρμόζουν την αρχή της βελτίωσης, δηλαδή να βελτιώνουν την εκτροφή, την παροχή στέγης και φροντίδας των ζώων καθώς και τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται σε διαδικασίες, ώστε να εξαλείφεται ή να μειώνεται στο ελάχιστο κάθε πιθανός πόνος, ταλαιπωρία, αγωνία ή μόνιμη βλάβη των ζώων.

Ο θάνατος ως καταληκτικό σημείο σε μια διαδικασία αποφεύγεται, κατά το δυνατό, και αντικαθίσταται από πρώιμα, μη βάνουσα καταληκτικά σημεία. Εφόσον ο θάνατος ως καταληκτικό σημείο είναι αναπόφευκτος, η διαδικασία σχεδιάζεται έτσι, ώστε α) να προκαλεί τον θάνατο όσο το δυνατό λιγότερων ζώων και β) να μειώνεται στον ελάχιστο δυνατό βαθμό η διάρκεια και η ένταση της ταλαιπωρίας του ζώου και, στο μέτρο του δυνατού, ο θάνατος να είναι ανώδυνος.

4.7. ΣΚΟΠΟΙ ΤΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ

Οι διαδικασίες μπορούν να εκτελούνται μόνο για τους ακόλουθους σκοπούς:

1. Βασική έρευνα.
2. Μεταφραστική ή εφαρμοσμένη έρευνα, με στόχους:
 1. αποφυγή, πρόληψη, διάγνωση ή θεραπεία ασθενειών, κακής κατάστασης υγείας ή άλλων ανωμαλιών, ή των επιπτώσεών τους σε ανθρώπους, ζώα ή φυτά
 2. εκτίμηση, ανίχνευση, ρύθμιση ή τροποποίηση των συνθηκών φυσιολογίας σε ανθρώπους, ζώα ή φυτά
 3. ευζωία των ζώων και βελτίωση των συνθηκών παραγωγής των ζώων που εκτρέφονται για γεωργικούς σκοπούς.

3. Για οποιονδήποτε από τους σκοπούς της περίπτωσης 2 ως προς την ανάπτυξη, την παρασκευή ή τη δοκιμή της ποιότητας, της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειας φαρμάκων, τροφίμων και ζωοτροφών καθώς και άλλων ουσιών ή προϊόντων.
4. Προστασία του φυσικού περιβάλλοντος με γνώμονα την υγεία ή την ευζωία ανθρώπων και ζώων.
5. Έρευνα με σκοπό την προστασία των ειδών.
6. Ανώτερη εκπαίδευση ή κατάρτιση για την απόκτηση, τη διατήρηση ή τη βελτίωση των επαγγελματικών δεξιοτήτων.
7. Ιατροδικαστικές έρευνες.

4.8. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑΣ

Οι χρήστες υποχρεούνται, εκτός αν κρίνεται ασύμβατο, να εκτελούν τις διαδικασίες υπό γενική ή τοπική αναισθησία και να χρησιμοποιούν αναλγητικά φάρμακα ή άλλη κατάλληλη μέθοδο, ώστε να προκαλείται ο ελάχιστος δυνατός αναπόφευκτος πόνος, ταλαιπωρία ή αγωνία. Οι διαδικασίες που προκαλούν σοβαρές βλάβες, οι οποίες μπορεί να οδηγήσουν σε έντονο πόνο, διεξάγονται μόνο υπό αναισθησία. Σε ένα ζώο στο οποίο μπορεί να προκληθεί πόνος μετά το πέρας της δράσης της αναισθησίας χορηγούνται προληπτικά και μετεγχειρητικά αναλγητικά ή εφαρμόζονται άλλες κατάλληλες μέθοδοι για την ανακούφιση του πόνου, με την προϋπόθεση ότι αυτή η αγωγή είναι συμβατή με τον σκοπό της διαδικασίας.

4.9. ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΤΗΣ ΔΡΙΜΥΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ

Οι χρήστες προβαίνουν σε κατάταξη της δριμύτητας των διαδικασιών με τους χαρακτηρισμούς «χωρίς ανάνηψη», «ήπια», «μέτρια» ή «βαριά». Η δριμύτητα της διαδικασίας προσδιορίζεται ανάλογα με το επίπεδο πόνου, ταλαιπωρίας, αγωνίας ή μόνιμης βλάβης, που αναμένεται ότι θα υποστεί το συγκεκριμένο ζώο κατά τη διάρκεια της διαδικασίας (Πίνακας 4.1).

Πίνακας 4.1 Κριτήρια κατάταξης δριμύτητας διαδικασιών

Κατηγορία δριμύτητας	Πόνος, ταλαιπωρία ή αγωνία	Βλάβη ευεξίας ή γενικής κατάστασης
Χωρίς ανάνηψη	εξ ολοκλήρου γενική αναισθησία	δεν πρόκειται να ανακτήσει τις αισθήσεις του
Ήπια	βραχυχρόνιος ήπιος	όχι
Μέτρια	βραχυχρόνιος μέτριος ή μακροχρόνιος ήπιος	μέτρια
Βαριά	βραχυχρόνιος έντονος ή μακροχρόνιος μέτριος	σοβαρή

Προς διευκόλυνση των χρηστών, σε ειδικό Παράρτημα παρατίθενται παραδείγματα διαδικασιών, που κατατάσσονται σε καθεμία από τις κατηγορίες δριμύτητας, που σχετίζονται με τον τύπο της διαδικασίας.

4.10. ΚΑΤΑΛΗΞΗ ΤΩΝ ΖΩΩΝ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΟΛΟΚΛΗΡΩΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Με την ολοκλήρωση της διαδικασίας, ο υπεύθυνος κτηνίατρος αποφασίζει αν το ζώο θα διατηρηθεί στη ζωή ή θα θανατωθεί, εφόσον συνεχίσει να βιώνει μέτριο ή έντονο πόνο, ή αγωνία, ή μόνιμη βλάβη. Η θανάτωση γίνεται με μέθοδο που να εξασφαλίζει τον ελάχιστο πόνο, ταλαιπωρία ή αγωνία. Σε ειδικό Παράρτημα του Προεδρικού Διατάγματος γίνεται αναφορά στις αποδεκτές μεθόδους θανάτωσης ανά είδος ζώου.

Είναι δυνατό ζώα τα οποία έχουν ήδη χρησιμοποιηθεί σε διαδικασίες να επαναχρησιμοποιηθούν, μόνο εφόσον α) οι προηγούμενες διαδικασίες ήταν «ήπιας» ή «μέτριας» δριμύτητας, β) υπάρχει έγγραφη κτηνιατρική γνωμάτευση, με την οποία βεβαιώνεται η πλήρης αποκατάσταση της γενικής κατάστασης της υγείας και ευζωίας του ζώου, γ) η δριμύτητα της επικείμενης διαδικασίας στην οποία προβλέπεται η επαναχρησιμοποίηση του ζώου κατατάσσεται ως «ήπια», «μέτρια» ή «χωρίς ανάνηψη» και δ) υπάρχει

έγκριση της επιτροπής αξιολόγησης του πρωτοκόλλου, η οποία συνεκτιμά τη συνολική εμπειρία ζωής του ζώου.

Επίσης, υπάρχει η δυνατότητα επιστροφής των ζώων που έχουν χρησιμοποιηθεί σε διαδικασίες στο αρχικό τους περιβάλλον, ή σε κατάλληλο βιότοπο, ή σε σύστημα εκτροφής κατάλληλο για το είδος, εφόσον:

1. Το επιτρέπει η κατάσταση της υγείας τους.
2. Δεν υπάρχει κίνδυνος για τη δημόσια υγεία, την υγεία του ζώου ή το περιβάλλον.
3. Έχουν ληφθεί τα κατάλληλα μέτρα για τη διαφύλαξη της ευζωίας του ζώου.

4.11. ΑΔΕΙΟΔΟΤΗΣΗ ΤΩΝ ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΕΩΝ

Οι υπεύθυνοι των εγκαταστάσεων εκτροφής, προμήθειας και χρήσης λαμβάνουν άδεια λειτουργίας από την αρμόδια περιφερειακή αρχή της Περιφέρειας στην οποία πρόκειται να ασκήσουν τις δραστηριότητές τους, διάρκειας πέντε ετών με δυνατότητα ανανέωσης. Με την άδεια χορηγείται και κωδικός έγκρισης της εγκατάστασης. Οι εγκαταστάσεις εκτροφής και προμήθειας παραγωγικών ζώων λαμβάνουν και κωδικό εκτροφής, βάσει της λοιπής κτηνιατρικής νομοθεσίας, επιπλέον των απαιτήσεων του ΠΔ 56/2013.

Οι εγκαταστάσεις που έχουν λάβει άδεια λειτουργίας διαθέτουν κατάλληλους χώρους και εξοπλισμό για τα είδη των ζώων που στεγάζονται σε αυτούς και, σε περίπτωση που διενεργούνται διαδικασίες, για την εκτέλεση των διαδικασιών. Ο σχεδιασμός, η κατασκευή και η μέθοδος λειτουργίας των χώρων και του εξοπλισμού διασφαλίζουν ότι οι διαδικασίες εκτελούνται όσο το δυνατό πιο αποτελεσματικά και αποσκοπούν στην επίτευξη αξιόπιστων αποτελεσμάτων, με τη χρήση του ελάχιστου δυνατού αριθμού ζώων και την πρόκληση σε αυτά του ελάχιστου δυνατού πόνου, ταλαιπωρίας, αγωνίας ή μόνιμης βλάβης.

4.12. ΕΠΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΠΡΟΣΩΠΙΚΟΥ

Οι εγκαταστάσεις εκτροφής, προμήθειας και χρήσης πρέπει να διαθέτουν επαρκή αριθμό προσωπικού, το οποίο να έχει λάβει την κατάλληλη πρακτική κατάρτιση και θεωρητική εκπαίδευση α) στην εκτέλεση διαδικασιών επί ζώων, β) στον σχεδιασμό διαδικασιών και πρωτοκόλλων, γ) στη φροντίδα των ζώων και δ) στη θανάτωση των ζώων.

Οι εκτροφεείς, οι προμηθευτές και οι χρήστες διαθέτουν στις εγκαταστάσεις τους υπεύθυνο κτηνίατρο, εξειδικευμένο στην ιατρική των ζώων εργαστηρίου, επιφορτισμένο με συμβουλευτικά καθήκοντα σχετικά με την ευζωία και τη μεταχείριση των ζώων.

4.13. ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ ΚΑΙ ΓΝΩΜΟΔΟΤΗΣΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΥΖΩΙΑ ΤΩΝ ΖΩΩΝ

Οι εκτροφεείς, οι προμηθευτές και οι χρήστες συνιστούν στις εγκαταστάσεις τους επιτροπή παρακολούθησης και γνωμοδότησης για την ευζωία των ζώων. Στις εγκαταστάσεις εκτροφής και προμήθειας, η επιτροπή αποτελείται από α) το ή τα άτομα που είναι υπεύθυνα για την ευζωία και τη φροντίδα των ζώων και β) τον υπεύθυνο κτηνίατρο. Στις εγκαταστάσεις χρήσης, η επιτροπή αποτελείται από α) το ή τα άτομα που είναι υπεύθυνα για την ευζωία και τη φροντίδα των ζώων, β) τον υπεύθυνο κτηνίατρο και γ) ένα μέλος από την επιστημονική κοινότητα συναφούς αντικειμένου.

Η επιτροπή είναι αρμόδια για:

1. Να παρέχει συμβουλές στο προσωπικό που ασχολείται με τα ζώα σε θέματα που αφορούν την ευζωία των ζώων, σε σχέση με την απόκτηση, παροχή στέγης, φροντίδα και χρήση τους.
2. Να συμβουλεύει το προσωπικό σχετικά με την εφαρμογή των απαιτήσεων για αντικατάσταση, μείωση και βελτίωση και να το ενημερώνει συνεχώς για τις τεχνικές και επιστημονικές εξελίξεις, σε σχέση με την εφαρμογή των απαιτήσεων αυτών.
3. Να θεσπίζει και να επανεξετάζει εσωτερικές λειτουργικές διαδικασίες σχετικές με την παρακολούθηση, την υποβολή εκθέσεων και την ανάδραση, που αφορούν την ευζωία των ζώων τα οποία στεγάζονται ή χρησιμοποιούνται στην εγκατάσταση.
4. Να παρακολουθεί την εξέλιξη και το αποτέλεσμα των πρωτοκόλλων, λαμβάνοντας υπόψη τις συνέπειες στα ζώα που χρησιμοποιούνται, και να εντοπίζει και να παρέχει συμβουλές ως προς τα στοιχεία που μπορούν να συμβάλουν περαιτέρω στην αντικατάσταση, μείωση και βελτίωση.

5. Να παρέχει συμβουλές σχετικά με τα προγράμματα επανένταξης, συμπεριλαμβανομένης της κατάλληλης κοινωνικοποίησης των ζώων που προορίζονται για επιστροφή στον αρχικό βιότοπο.

4.14. ΚΑΤΑΧΩΡΙΣΗ ΖΩΩΝ ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ

Οι υπεύθυνοι των εγκαταστάσεων εκτροφής, προμήθειας και χρήσης τηρούν στις εγκαταστάσεις τους αρχεία ζώων με τα εξής στοιχεία:

1. Αριθμός και είδος των ζώων που εκτρέφονται, αποκτώνται, προμηθεύονται, χρησιμοποιούνται σε διαδικασίες, απελευθερώνονται ή επανεντάσσονται.
2. Προέλευση των ζώων καθώς και το αν αυτά έχουν εκτραφεί για χρήση σε διαδικασίες.
3. Ημερομηνίες απόκτησης, προμήθειας, απελευθέρωσης ή επανένταξης των ζώων.
4. Από ποιον έχουν αποκτηθεί τα ζώα.
5. Όνομα και διεύθυνση του παραλήπτη των ζώων.
6. Αριθμός και είδος των ζώων που πέθαναν ή θανατώθηκαν σε κάθε εγκατάσταση – για τα ζώα που πέθαναν καταγράφεται, εφόσον είναι γνωστή, η αιτία του θανάτου.
7. Στην περίπτωση μόνο των χρηστών, τα πρωτόκολλα στα οποία χρησιμοποιήθηκαν τα ζώα.

Τα αρχεία τηρούνται υποχρεωτικά για πέντε τουλάχιστον έτη και είναι διαθέσιμα στις αρμόδιες αρχές, όταν τους ζητηθούν.

Ειδικότερα, για σκύλους, γάτες και πρωτεύοντα πλην του ανθρώπου, τηρούνται στα αρχεία οι ακόλουθες πληροφορίες:

1. Η ατομική τους σήμανση.
2. Εφόσον είναι διαθέσιμα, ο τόπος και η ημερομηνία γέννησης.
3. Αν έχουν εκτραφεί για χρήση σε διαδικασίες.
4. Στην περίπτωση πρωτεύοντων πλην του ανθρώπου, αν γεννήθηκαν ζώα τα οποία έχουν εκτραφεί σε συνθήκες αιχμαλωσίας.

Κάθε σκύλος, γάτα και πρωτεύον πλην του ανθρώπου διαθέτει ιστορικό, που συνοδεύει το ζώο για όσο διάστημα κρατείται για τους σκοπούς του παρόντος διατάγματος. Το αρχείο αυτό δημιουργείται κατά τη γέννηση του ζώου ή αμέσως μετά και περιέχει πληροφορίες σχετικά με την αναπαραγωγή, την υγεία και την κοινωνική συμπεριφορά του καθώς και τα πρωτόκολλα στα οποία έχει χρησιμοποιηθεί. Οι υπεύθυνοι των εγκαταστάσεων εκτροφής, προμήθειας και χρήσης υποχρεούνται να τηρούν αυτά τα αρχεία για τρία έτη μετά τον θάνατο ή την επανένταξη του ζώου και να τα διαθέτουν στις αρμόδιες αρχές, όταν τους ζητηθούν.

4.15. ΦΡΟΝΤΙΔΑ ΚΑΙ ΠΑΡΟΧΗ ΣΤΕΓΗΣ

Οι υπεύθυνοι των εγκαταστάσεων εκτροφής, προμήθειας και χρήσης διασφαλίζουν, όσον αφορά τη φροντίδα των ζώων και την παροχή στέγης σε αυτά, ότι:

1. Σε όλα τα ζώα παρέχεται στέγη, περιβάλλον χώρος, τροφή, νερό και φροντίδα, κατάλληλα για την υγεία και την ευζωία τους.
2. Ελαχιστοποιούνται τυχόν περιορισμοί του βαθμού ικανοποίησης των φυσιολογικών και ηθολογικών αναγκών του ζώου.
3. Οι περιβαλλοντικές συνθήκες στις οποίες εκτρέφονται, στεγάζονται ή χρησιμοποιούνται τα ζώα ελέγχονται καθημερινά.
4. Λαμβάνονται μέτρα που διασφαλίζουν ότι τυχόν δυνάμενα να αποφευχθούν ελαττώματα ή πόνο, ταλαιπωρία, αγωνία ή διαρκής βλάβη που εντοπίζονται εξαλείφονται το συντομότερο δυνατό.
5. Τα ζώα μεταφέρονται υπό κατάλληλες συνθήκες.

4.16. ΑΔΕΙΟΔΟΤΗΣΗ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΩΝ

4.16.1. Αίτηση

Για την εκτέλεση ενός πρωτοκόλλου, είναι απαραίτητη η προηγούμενη αδειοδότησή του από την αρμόδια περιφερειακή αρχή. Για τη χορήγηση άδειας πρωτοκόλλου, υποβάλλεται από το άτομο που είναι υπεύθυνο για αυτό αίτηση στην αρμόδια περιφερειακή αρχή, συνοδευόμενη από:

1. Το προτεινόμενο πρωτόκολλο με λεπτομερές πρόγραμμα εργασίας.
2. Πληροφορίες για τις διαδικασίες, το είδος ή τα είδη των ζώων που πρόκειται να χρησιμοποιηθούν, την προέλευσή τους καθώς και την ή τις εγκεκριμένες εγκαταστάσεις στις οποίες πρόκειται να πραγματοποιηθεί το πρωτόκολλο.
3. Πληροφορίες σχετικά με τα ακόλουθα:
 1. συνάφεια και αιτιολόγηση i) της χρήσης ζώων, συμπεριλαμβανομένης της καταγωγής, του εκτιμώμενου αριθμού, των ειδών και των σταδίων της ζωής τους και ii) των διαδικασιών
 2. εφαρμογή μεθόδων για την αντικατάσταση, μείωση και βελτίωση της χρήσης ζώων σε διαδικασίες
 3. προγραμματισμένη χρήση αναισθητικών, αναλγητικών και άλλων μεθόδων για την ανακούφιση του πόνου
 4. μείωση, αποφυγή και ανακούφιση κάθε μορφής ταλαιπωρίας του ζώου από τη γέννηση έως τον θάνατο, ανάλογα με την περίπτωση
 5. χρήση μη βάνουσων καταληκτικών σημείων
 6. πειραματική στρατηγική ή στρατηγική παρατήρησης και στατιστική μελέτη για την ελαχιστοποίηση του αριθμού των ζώων, του πόνου, της ταλαιπωρίας, της αγωνίας τους και των περιβαλλοντικών επιπτώσεων, ανάλογα με την περίπτωση
 7. επαναχρησιμοποίηση ζώων και οι σωρευτικές της επιπτώσεις στα ζώα
 8. προτεινόμενη κατάταξη των διαδικασιών, αναλόγως της δριμύτητας
 9. αποφυγή της αδικαιολόγητης επανάληψης των διαδικασιών, όπου απαιτείται
 10. συνθήκες στέγασης, ζωοτεχνίας και φροντίδας των ζώων
 11. μέθοδοι θανάτωσης
 12. επάρκεια των ατόμων που συμμετέχουν στο έργο.
4. Τη μη τεχνική περίληψη του πρωτοκόλλου.
5. Τη θετική εισήγηση της επιτροπής αξιολόγησης του πρωτοκόλλου.
6. Υπεύθυνη δήλωση του αιτούντος ότι είναι καθολικά υπεύθυνος για το πρωτόκολλο.

4.16.2. Αξιολόγηση πρωτοκόλλου

Για την αξιολόγηση των πρωτοκόλλων, συγκροτείται σε κάθε εγκατάσταση χρήσης, με ευθύνη του υπεύθυνου αυτής, επιτροπή αξιολόγησης των πρωτοκόλλων, αποτελούμενη από α) έναν επιστήμονα βιοϊατρικής έρευνας, ως πρόεδρο, με τον αναπληρωτή του, β) τον υπεύθυνο κτηνίατρο της εγκατάστασης με τον αναπληρωτή του, και γ) έναν βιοστατιστικό με τον αναπληρωτή του.

Η επιτροπή αξιολόγησης του πρωτοκόλλου, σε συνεδρίαση στην οποία καλείται να μετέχει και ένας εκπρόσωπος της αρμόδιας περιφερειακής αρχής με δικαίωμα ψήφου καθώς και ο ενδιαφερόμενος ή ένας εκπρόσωπός του χωρίς δικαίωμα ψήφου, εξετάζει την αίτηση και τα υποβαλλόμενα δικαιολογητικά και εκδίδει θετική ή αρνητική αξιολόγηση για αυτό, την οποία αποστέλλει στην αρμόδια για την έκδοση της άδειας περιφερειακή αρχή.

Για τη διασφάλιση της αντικειμενικότητας της αξιολόγησης από την επιτροπή και για να μην υπάρχει σύγκρουση συμφερόντων, τα μέλη της υπογράφουν υπεύθυνη δήλωση ότι δεν έχουν κανένα συμφέρον ή προσωπικό όφελος από το υπό αξιολόγηση έργο. Επίσης, υπογράφουν υπεύθυνη δήλωση για την προστασία της πνευματικής ιδιοκτησίας και των εμπιστευτικών πληροφοριών των χρηστών.

4.16.3. Αναδρομική αξιολόγηση

Σε όλα τα πρωτόκολλα που χρησιμοποιούν πρωτεύοντα πλην του ανθρώπου και εκείνα που περιλαμβάνουν διαδικασίες «βαριάς» δριμύτητας πραγματοποιείται αναδρομική αξιολόγηση από την επιτροπή αξιολόγησης πρωτοκόλλων, σε χρόνο που ορίζει η επιτροπή, οπότε, μετά την απαραίτητη τεκμηρίωση που υποβάλλει ο υπεύθυνος του έργου, αξιολογούνται α) το κατά πόσο πραγματοποιήθηκε το πρόγραμμα του πρωτοκόλλου και επιτεύχθηκαν οι στόχοι του, β) η βλάβη που προκλήθηκε στα ζώα, συμπεριλαμβανομένου του αριθμού και των ειδών των ζώων που χρησιμοποιήθηκαν και της δριμύτητας των διαδικασιών, και γ) το κατά πόσο τα

οποιαδήποτε νέα στοιχεία που τυχόν προκύπτουν μπορούν να συμβάλουν στην περαιτέρω εφαρμογή των αρχών της αντικατάστασης, μείωσης και βελτίωσης.

4.16.4. Χορήγηση άδειας πρωτοκόλλου

Η άδεια του πρωτοκόλλου χορηγείται από την αρμόδια περιφερειακή αρχή, μετά τη θετική αξιολόγηση από την επιτροπή αξιολόγησης πρωτοκόλλων, εφόσον επαληθεύσει ότι ο υπεύθυνος του πρωτοκόλλου:

1. Είναι πτυχιούχος πανεπιστημιακής εκπαίδευσης, με γνωστικό αντικείμενο που σχετίζεται με το πρόγραμμα του πρωτοκόλλου – στην περίπτωση που το πρωτόκολλο περιλαμβάνει χειρουργικές επεμβάσεις, ο υπεύθυνος του πρωτοκόλλου πρέπει να κατέχει πτυχίο Σχολής Επιστημών Υγείας (Ιατρική, Οδοντιατρική, Φαρμακευτική) ή Κτηνιατρικής Σχολής ή Σχολής Φυσικών Επιστημών (Βιολογία), με σχετική εμπειρία που έχει αποκτηθεί κατά την άσκηση του επαγγέλματός του ή από συμμετοχή σε συναφείς επιστημονικές-ερευνητικές μονάδες και μέσα στο πλαίσιο του πειραματικού πρωτοκόλλου.
2. Έχει εξειδικευμένη γνώση που σχετίζεται με τα είδη των ζώων τα οποία χρησιμοποιούνται στις διαδικασίες του πρωτοκόλλου και αποτελούν μέρος του προγράμματος αυτού.
3. Έχει την κατάλληλη εκπαίδευση και εμπειρία στον σχεδιασμό του προγράμματος του πρωτοκόλλου, το οποίο περιλαμβάνει την εφαρμογή των διαδικασιών.

Η άδεια του πρωτοκόλλου ισχύει για τρία χρόνια.

4.16.5. Μη τεχνική περίληψη πρωτοκόλλου

Με την επιφύλαξη της προστασίας της πνευματικής ιδιοκτησίας και των εμπιστευτικών πληροφοριών, η μη τεχνική περίληψη του πρωτοκόλλου περιλαμβάνει α) πληροφορίες για τους στόχους του πρωτοκόλλου, συμπεριλαμβανομένης της προβλεπόμενης βλάβης και του οφέλους, καθώς και τον αριθμό και τα είδη των ζώων που θα χρησιμοποιηθούν και β) στοιχεία που αποδεικνύουν τη συμμόρφωση στην απαίτηση για αντικατάσταση, μείωση και βελτίωση. Η μη τεχνική περίληψη του πρωτοκόλλου είναι ανώνυμη και δεν περιέχει ονόματα και διευθύνσεις του χρήστη και του προσωπικού του. Στη μη τεχνική περίληψη προσδιορίζεται το κατά πόσο ένα πρωτόκολλο πρέπει να υποβληθεί σε αναδρομική αξιολόγηση και μέχρι ποια ημερομηνία (Ανώνυμος, 2020). Με ευθύνη του υπεύθυνου της εγκατάστασης, η μη τεχνική περίληψη του πρωτοκόλλου δημοσιοποιείται με ανάρτηση σε ειδική για αυτόν τον σκοπό ιστοσελίδα στο διαδίκτυο.

4.17. ΕΘΝΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΥΖΩΙΑ ΤΩΝ ΖΩΩΝ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΓΙΑ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΥΣ ΣΚΟΠΟΥΣ

Στο Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων συστήνεται Εθνική Επιτροπή για την ευζωία των ζώων που χρησιμοποιούνται για επιστημονικούς σκοπούς, με μέλη της επιστήμονες εγνωσμένου κύρους, με αποδεδειγμένη γνώση και εμπειρία στο αντικείμενο. Έργο της επιτροπής είναι:

1. Παροχή συμβουλών στις αρμόδιες αρχές, τα όργανα παρακολούθησης και γνωμοδότησης της ευζωίας των ζώων και στις επιτροπές αξιολόγησης πρωτοκόλλων για ζητήματα που αφορούν την απόκτηση, εκτροφή, στέγαση, φροντίδα και χρήση των ζώων σε διαδικασίες και για θέματα διαρκούς εκπαίδευσης και επιμόρφωσης των προσώπων που εμπλέκονται στην εφαρμογή του παρόντος διατάγματος καθώς και η εξασφάλιση της ανταλλαγής και κοινοποίησης βέλτιστων πρακτικών.
2. Ανταλλαγή πληροφοριών σχετικά με τη λειτουργία των οργάνων παρακολούθησης και γνωμοδότησης της καλής διαβίωσης των ζώων και την αξιολόγηση των έργων από την αρμόδια κεντρική αρχή καθώς και τις βέλτιστες πρακτικές στο εσωτερικό της Ένωσης.

4.18. ΣΥΛΛΟΓΗ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΩΝ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ

Η αρμόδια κεντρική αρχή συλλέγει και δημοσιοποιεί στον ιστότοπο του ΥΠΑΑΤ (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων), σε ετήσια βάση, στατιστικές πληροφορίες σχετικά με τη χρήση ζώων εργαστηρίου σε διαδικασίες, συμπεριλαμβανομένων των πληροφοριών που αφορούν την πραγματική

δριμύτητα των διαδικασιών καθώς και την καταγωγή και τα είδη των πρωτεϊνών πλην του ανθρώπου που χρησιμοποιούνται σε διαδικασίες (Ανώνυμος, 2020).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ανώνυμος (1981). Νόμος 1197/81 (ΦΕΚ 240/τ/ Α/25-8-1981). «Περί προστασίας των ζώων»
- Ανώνυμος (1986). Οδηγία 86/609/ΕΟΚ του Συμβουλίου των ΕΚ της 24-11-86 «για την προσέγγιση των νομοθετικών, κανονιστικών και διοικητικών διατάξεων των κρατών μελών σχετικά με την προστασία των ζώων που χρησιμοποιούνται για πειραματικούς και άλλους επιστημονικούς σκοπούς» (L 358/18-12-86)
- Ανώνυμος (1991). Προεδρικό Διάταγμα 160/91 (ΦΕΚ Α' 64/3-5-1991). «Προστασία των ζώων που χρησιμοποιούνται για πειραματικούς και άλλους επιστημονικούς σκοπούς, σε συμμόρφωση προς την Οδηγία 86/609/ΕΟΚ του Συμβουλίου»
- Ανώνυμος (1992). Νόμος 2015/92 (ΦΕΚ Α' 30/27-2-1992). «Κύρωση της Ευρωπαϊκής Σύμβασης για την προστασία των σπονδυλωτών ζώων που χρησιμοποιούνται για πειραματικούς ή άλλους επιστημονικούς σκοπούς»
- Ανώνυμος (2010). Οδηγία 2010/63/ΕΕ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 22ας Σεπτεμβρίου 2010 «περί προστασίας των ζώων που χρησιμοποιούνται για επιστημονικούς σκοπούς». Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης (L 276/33/20-10-2010)
- Ανώνυμος (2013). Προεδρικό Διάταγμα 56/2013. «Προσαρμογή της ελληνικής νομοθεσίας στην Οδηγία 2010/63/ΕΕ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 22ας Σεπτεμβρίου 2010 (L 276/33/20.10.2010) “σχετικά με την προστασία των ζώων που χρησιμοποιούνται για επιστημονικούς σκοπούς”». (ΦΕΚ Α' 106/30-4-2013)
- Ανώνυμος (2020). Προεδρικό Διάταγμα 86/2020. Τροποποίηση του ΠΔ. 56/2013 «Προσαρμογή της ελληνικής νομοθεσίας στην Οδηγία 2010/63/ΕΕ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 22ας Σεπτεμβρίου 2010 (L 276/33/ 20.10.2010) “σχετικά με την προστασία των ζώων που χρησιμοποιούνται για επιστημονικούς σκοπούς”» (ΦΕΚ Α' 199/19-10-2020)

Κεφάλαιο 5

Σύνοψη

Στο κεφάλαιο αυτό περιγράφονται οι βασικές αρχές εκτροφής των ζώων εργαστηρίου. Σε αυτό περιλαμβάνονται πληροφορίες σχετικά με την απαραίτητη υποδομή που θα πρέπει να έχουν οι εγκαταστάσεις εκτροφής και χρήσης, τις απαραίτητες συνθήκες περιβάλλοντος σε επίπεδο κλουβιού και θαλάμου εκτροφής, την υγιεινή των εγκαταστάσεων (καθαριότητα, απολύμανση, αποστείρωση) και την παροχή τροφής και νερού στα ζώα εργαστηρίου. Τέλος, παρουσιάζονται σε πίνακες οι ελάχιστες απαιτήσεις για τη στέγαση διαφόρων ειδών ζώων εργαστηρίου, όπως ορίζονται στη σχετική εθνική νομοθεσία.

Προαπαιτούμενη γνώση

Κεφάλαιο 4 (Νομοθεσία).

5 ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΕΚΤΡΟΦΗΣ ΖΩΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ

5.1. ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ ΕΚΤΡΟΦΗΣ

Οι εγκαταστάσεις που στεγάζουν ζώα εργαστηρίου θα πρέπει να κατασκευάζονται έτσι, ώστε να παρέχουν περιβάλλον που να λαμβάνει υπόψη τις ανάγκες φυσιολογίας και τις ηθολογικές ανάγκες των ζώων που στεγάζονται σε αυτές. Επίσης, θα πρέπει να εξασφαλίζουν την παρεμπόδιση πρόσβασης μη εξουσιοδοτημένων ατόμων σε αυτές καθώς και της ανεξέλεγκτης εισόδου και διαφυγής ζώων (Ανώνυμος, 2013).

Ιδεωδώς, η εγκατάσταση εκτροφής βρίσκεται στο ισόγειο ξεχωριστού κτιρίου, κοντά στο κεντρικό κτίριο του ερευνητικού κέντρου. Εναλλακτικά, μπορεί να βρίσκεται σε κάποιον όροφο του κεντρικού κτιρίου, ο οποίος να είναι αποκομμένος από τα υπόλοιπα εργαστήρια. Ο χώρος της προτείνεται να έχει κτιστεί από την αρχή για τον συγκεκριμένο σκοπό και να μην προέρχεται από μετατροπές του ήδη υπάρχοντος κτιρίου.

Οι εγκαταστάσεις εκτροφής-πειραματισμού των ζώων εργαστηρίου θα πρέπει να διαθέτουν τουλάχιστον 100-1.000 θέσεις ζώων, να υπάρχει ηχομόνωση και να περιλαμβάνουν της παρακάτω βασικές μονάδες:

1. Θαλάμους συμβατικής στέγασης των ζώων.
2. Θαλάμους στέγασης ζώων με φραγμούς.
3. Θάλαμο απομόνωσης νεοεισαγόμενων ζώων.
4. Γραφείο προσωπικού και χώρο για αλλαγή ρούχων.
5. Μπάνια, τουαλέτες.
6. Θάλαμο καθαριότητας με νεροχύτες, πλυντήρια, κλίβανους υγρής και ξηρής αποστείρωσης καθώς και αποτεφρωτικό κλίβανο.
7. Αποθήκες ζωοτροφών και αναλώσιμων υλικών.
8. Αποθήκη οργάνων.
9. Αίθουσες εργαστηρίων και διδασκαλίας.
10. Διαδρόμους ανεφοδιασμού και αποκομιδής αποβλήτων.
11. Αίθουσες προετοιμασίας των ζώων για το χειρουργείο, πειραματικού χειρουργείου και μετεγχειρητικής παρακολούθησης (όταν συστεγάζεται η μονάδα πειραματισμού).

5.1.1. Διάταξη των χώρων

Η διάταξη των χώρων της μονάδας εκτροφής θα πρέπει να εξασφαλίζει κυκλική ροή εργασιών, ώστε να ελαχιστοποιείται ο κίνδυνος μετάδοσης μικροοργανισμών από τα ζώα του θαλάμου σε διπλανό θάλαμο. Επίσης, δεν θα πρέπει να έρχονται σε επαφή ακάθαρτα αντικείμενα (κλουβιά, μπουκάλια, στρωμένη κ.λπ.) και πτώματα ζώων με καθαρούς ή αποστειρωμένους χώρους ή με αποικίες υγιών ζώων.

Η κυκλοφορία εντός της εγκατάστασης μπορεί να είναι είτε κατακόρυφη, στην περίπτωση εγκαταστάσεων με περισσότερους του ενός ορόφους, είτε οριζόντια, στην περίπτωση εγκαταστάσεων ενός ορόφου. Η κυκλοφορία αφορά κυρίως τη μεταφορά κλουβιών από τους θαλάμους στέγασης των ζώων προς την αίθουσα καθαρισμού-απολύμανσης των κλουβιών και αντίστροφα.

Στην περίπτωση εγκαταστάσεων με κατακόρυφη κυκλοφορία, είναι βασικό να υπάρχουν δύο ανεγκυβερτητές: ο ένας για να εξυπηρετεί τη μεταφορά των «ρυπαρών» υλικών και ο άλλος των «καθαρών». Στις εγκαταστάσεις με οριζόντια κυκλοφορία, υπάρχουν δύο βασικοί τύποι διάταξης των χώρων: με έναν διάδρομο ή με δύο διαδρόμους (Sorensen, 1994, Hessler, 2011).

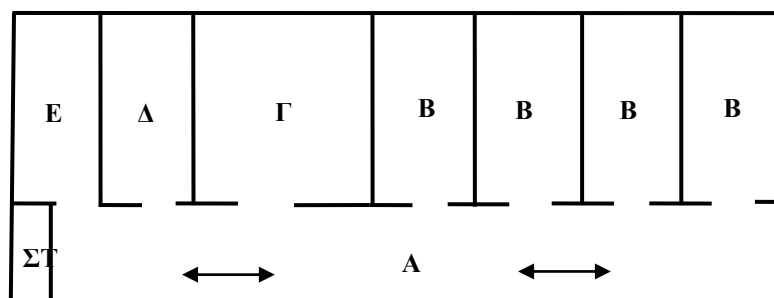
Στην πρώτη διάταξη, οι πόρτες των θαλάμων στέγασης των ζώων οδηγούν σε έναν διάδρομο (Εικόνα 5.1). Η ροή εργασιών μπορεί να είναι είτε διπλής είτε μίας κατεύθυνσης, ανάλογα με τη ροή μεταφοράς των κλουβιών μεταξύ των θαλάμων στέγασης και του θαλάμου αποστείρωσης. Με τη διάταξη αυτή, παρά το γεγονός ότι αξιοποιείται ο υπάρχων χώρος με τη μεγαλύτερη δυνατή εργονομία, υπάρχει το μειονέκτημα της πιθανότητας μετάδοσης μικροοργανισμών εκεί όπου υπάρχει κοινή διαδρομή μεταφοράς καθαρών και ρυπαρών κλουβιών. Επιπλέον, δεν υπάρχει ευρυχωρία μετακίνησης. Στη διάταξη με δύο διαδρόμους, οι θάλαμοι στέγασης των ζώων διαθέτουν δύο πόρτες, καθεμία από τις οποίες οδηγεί σε διαφορετικό διάδρομο. Ο ένας διάδρομος προορίζεται για τη μεταφορά καθαρών κλουβιών και ο άλλος για τη μεταφορά ρυπαρών κλουβιών (Εικόνα 5.2). Η ροή εργασιών είναι συνήθως προς μία κατεύθυνση, ώστε να αποφεύγεται η ανάμειξη καθαρών και ρυπαρών κλουβιών. Η διάταξη αυτή προσφέρει το πλεονέκτημα της μείωσης του κινδύνου διασποράς μικροοργανισμών εντός της εγκατάστασης. Ωστόσο, έχει αυξημένο κόστος κατασκευής, απαιτεί μεγαλύτερη επιφάνεια εγκατάστασης, καθώς επίσης απαιτείται περισσότερος χρόνος εργασίας.

Στις εγκαταστάσεις όπου πρωταρχικό μέλημα είναι η πρόληψη πιθανής μόλυνσης των ζώων από εξωτερικούς παράγοντες, όπως σε μονάδες αναπαραγωγής ή εκτροφής SPF ζώων (Specific Pathogen Free animals: ζώα ελεύθερα συγκεκριμένων παθογόνων μικροοργανισμών), εφαρμόζεται σύστημα βιοασφάλειας, το οποίο περιλαμβάνει:

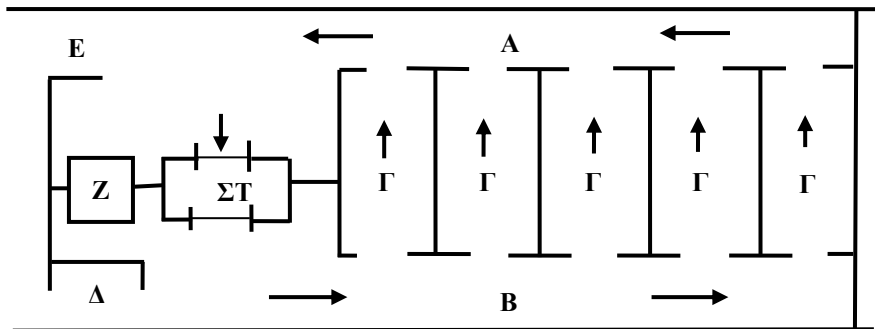
1. Ξεχωριστή είσοδο για το προσωπικό, το οποίο θα πρέπει να κάνει ντους και να φορά ρούχα εργασίας.
2. Ξεχωριστή είσοδο για τα ζώα.
3. Υγρό κλίβανο για την αποστείρωση της στρωμνής, των ρούχων εργασίας και άλλων κλιβανισμών υλικών.
4. Εγκατάσταση για αποστείρωση με φορμαλδεΰδη των μη κλιβανισμών υλικών (πλαστικών κλουβιών, δοχείων νερού κ.λπ.).
5. Σύστημα εξαερισμού με ειδικά φίλτρα αέρα.

Στις εκτροφές όπου επιζητείται η αποφυγή μετάδοσης μικροοργανισμών από τα ζώα της, στο εξωτερικό περιβάλλον εφαρμόζεται διάταξη χώρων που να αποτρέπει τη διαφυγή μικροοργανισμών προς τα έξω.

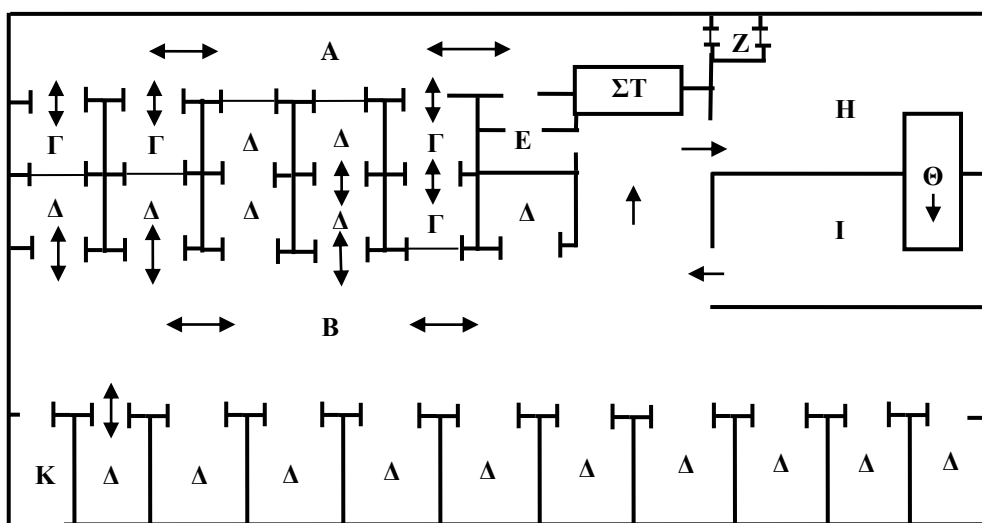
Μια διάταξη που συνδυάζει τους δύο βασικούς τύπους διάταξης θαλάμων περιλαμβάνει δύο διαδρόμους, ώστε να εμποδίζεται η μετάδοση μικροοργανισμών μεταξύ των θαλάμων, χωρίς ωστόσο να εφαρμόζεται μόνιμο σύστημα βιοασφάλειας (Εικόνα 5.3). Σύμφωνα με τη διάταξη αυτή, η είσοδος στους θαλάμους μπορεί να γίνεται από τον «καθαρό» διάδρομο (σύστημα βιοασφάλειας) ή τον «ρυπαρό» διάδρομο (συμβατικό σύστημα). Με τη διάταξη αυτή, παρέχεται η δυνατότητα εύκολης μετατροπής του επιπέδου βιοασφάλειας με το άνοιγμα ή κλείσιμο της πόρτας. Για την αποφυγή διασποράς μικροοργανισμών, προϋπόθεση αποτελεί η ύπαρξη θαλάμων στους οποίους επικρατεί αρνητική πίεση αέρα.



Εικόνα 5.1 Διάταξη εγκατάστασης εκτροφής με έναν διάδρομο. Α: Διάδρομος. Β: Θάλαμοι στέγασης ζώων. Γ: Θάλαμος καθαρισμού κλουβιών. Δ: Αποθήκη. Ε: Γραφείο προσωπικού. ΣΤ: Αποστείρωση (Sorensen, 1994).



Εικόνα 5.2 Διάταξη εγκατάστασης εκτροφής με δύο διαδρόμους. Α: «Ρυπαρός» διάδρομος. Β: «Καθαρός» διάδρομος. Γ: Θάλαμοι στέγασης ζώων. Δ: «Καθαρή» είσοδος προσωπικού. Ε: «Ρυπαρή» είσοδος/έξοδος προσωπικού. ΣΤ: Υγρός κλίβανος. Ζ: Αποστείρωση με φορμαλδεϋδη (Sorensen, 1994).



Εικόνα 5.3 Διάταξη εγκατάστασης εκτροφής με δύο διαδρόμους, με δυνατότητα εφαρμογής αυστηρού συστήματος βιοασφάλειας σε συνδυασμό με συμβατικό επίπεδο βιοασφάλειας (συμβατική διάταξη). Α: «Καθαρός» διάδρομος. Β: «Ρυπαρός» διάδρομος. Γ: «Καθαρός» θάλαμος στέγασης ζώων. Δ: «Ρυπαρός» θάλαμος στέγασης ζώων. Ε: «Καθαρή» είσοδος προσωπικού. ΣΤ: Υγρός κλίβανος. Ζ: Αποστείρωση με φορμαλδεϋδη. Η: Θάλαμος πλύσης κλουβιών. Θ: Πλυντήριο κλουβιών. Ι: Αποθήκη. Κ: Θάλαμος αναισθησίας (Sorensen, 1994).

5.1.2. Θάλαμοι στέγασης των ζώων

Οι θάλαμοι στέγασης των ζώων θα πρέπει να έχουν τοιχώματα και δάπεδα καλυμμένα από ιδιαίτερα ανθεκτική επένδυση, ώστε να είναι ανθεκτικά στις εργασίες καθαρισμού και απολύμανσης. Το υλικό της επένδυσης θα πρέπει να είναι αβλαβές για τα ζώα και να μην επιτρέπει τον τραυματισμό τους.

Δεν στεγάζονται στον ίδιο θάλαμο είδη ζώων τα οποία είναι ασύμβατα μεταξύ τους, π.χ. θηρευτές και θηράματα, ή είδη ζώων των οποίων η εκτροφή απαιτεί διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες. Τα ζώα, με εξαίρεση εκείνα τα οποία είναι εκ φύσεως μονήρη, στεγάζονται σε σταθερές ομάδες συμβατών ατόμων, λαμβάνοντας υπόψη τις δέουσες κοινωνικές συνθήκες.

Ανάλογα με τον τρόπο καθαρισμού των κλουβιών των ζώων, οι θάλαμοι στέγασης μπορούν να χωριστούν σε δύο βασικούς τύπους: α) εκείνον που στεγάζει ζώα σε κλουβιά στα οποία χρησιμοποιείται στρωμή και αφορά μικρά ζώα εργαστηρίου, όπως τρωκτικά ή κουνέλια, και β) εκείνον που στεγάζει ζώα των οποίων τα κλουβιά/κελιά καθαρίζονται με τη χρήση νερού υπό πίεση και αφορά σκύλους, μικρά παραγωγικά ζώα και πρωτεύοντα πλην ανθρώπου. Εναλλακτικά, μπορούν να σχεδιαστούν θάλαμοι οι οποίοι να καλύπτουν τις ανάγκες και των δύο κατηγοριών.

Ανάλογα με τις προδιαγραφές για τη διασφάλιση του επιθυμητού επιπέδου βιοασφάλειας, οι θάλαμοι στέγασης χωρίζονται σε α) θαλάμους συμβατικής στέγασης και β) θαλάμους με φραγμούς.

5.1.2.1. Θάλαμοι συμβατικής στέγασης (conventional units)

Οι θάλαμοι αυτοί θα πρέπει να είναι καθαροί, φωτεινοί και να αερίζονται καλά. Σε κάθε θάλαμο συστήνεται η στέγαση ενός μόνο είδους ζώου, για την αποφυγή πρόκλησης στρες, λόγω π.χ. μετάδοσης οσμής ενός άλλου είδους, που θα μπορούσε ωστόσο να αποφευχθεί με τη χρήση κλουβιών IVC (Individually Ventilated Cages). Στους θαλάμους τοποθετούνται κλουβιά για την εκτροφή ή και την αναπαραγωγή των ζώων. Το δάπεδο είναι λείο, αλλά όχι ολισθηρό, αδιάβροχο, από υλικό ανθεκτικό στην εφαρμογή ισχυρών απολυμαντικών ουσιών. Τα σημεία επαφής του δαπέδου με τους τοίχους είναι αποστρογγυλεμένα, ώστε να καθαρίζονται εύκολα. Οι εσωτερικοί τοίχοι και η οροφή είναι επίσης λείοι και αδιάβροχοι. Οι αποχετεύσεις είναι καλυμμένες με σχάρες για την αποφυγή έμφραξης τους ή πιθανής διαφυγής ζώων, και με σήτες για την αποφυγή εισόδου εντόμων. Οι σωλήνες, τα καλώδια, οι ηλεκτρικοί διακόπτες, οι συσκευές εξαερισμού κ.λπ. έχουν τέλεια εφαρμογή, χωρίς κενά. Οι πόρτες έχουν πολύ καλή εφαρμογή, κλείνουν αυτόματα, φέρουν μικρό παράθυρο στο πάνω τμήμα τους για την παρακολούθηση του θαλάμου, μεταλλική κάλυψη στο κάτω τμήμα τους για την αποτροπή διαφυγής κάποιου ζώου, ενώ οι χειρολαβές τους εισέχουν (Εικόνα 5.4).



Εικόνα 5.4 Θάλαμος συμβατικής στέγασης τροκτικών.

5.1.2.2. Θάλαμοι με φραγμούς (barrier units)

Η έννοια του «φραγμού» αφορά τον σχεδιασμό της εγκατάστασης κατά τέτοιον τρόπο, ώστε να προστατεύονται τα ζώα από ανεπιθύμητα μικρόβια. Η εφαρμογή φραγμού μπορεί να γίνει σε επίπεδο κλουβιού, θαλάμου, τομέα εντός της εγκατάστασης ή να αφορά το σύνολο της εγκατάστασης.

Οι θάλαμοι με φραγμούς είναι πιο πολύπλοκοι από εκείνους της συμβατικής στέγασης. Στην πιο απλή μορφή τους, περιλαμβάνουν τη διέλευση του προσωπικού από αβαθή τάφρο με απολυμαντικό υγρό, που τοποθετείται στην είσοδο. Σε μια πιο εξειδικευμένη μορφή, ακολουθούνται διαδικασίες, όπως ντους του προσωπικού και ένδυσή του με αποστειρωμένα ρούχα πριν από την είσοδό του στους θαλάμους. Επίσης, η τροφή, το νερό, η στρωμνή, ο αέρας κ.λπ. αποστειρώνονται. Ο εισερχόμενος αέρας φιλτράρεται από ειδικά φίλτρα HEPA (High Efficiency Particulate Air), που συγκρατούν μικροσωματίδια και μικροοργανισμούς, ενώ στο δωμάτιο διατηρείται θετική πίεση αέρα (Εικόνα 5.5). Στους χώρους αυτούς στεγάζονται διάφορες κατηγορίες ζώων, ανάλογα με τη μικροβιολογική τους κατάσταση.



Εικόνα 5.5 Τύπος θαλάμου με φραγμούς.

A. Ζώα ελεύθερα κάθε μικροοργανισμού (germ-free animals ή αξενικά ζώα)

Τα αξενικά ζώα είναι απαλλαγμένα από κάθε μικροοργανισμό (βακτήριο, ιό, μύκητα ή παράσιτο). Τα ζώα αυτά λαμβάνονται με καισαρική τομή υπό άσηπτες συνθήκες και διατηρούνται σε αποστειρωμένο χώρο. Εκτρέφονται μέσα σε αποστειρωμένους πλαστικούς ή μεταλλικούς απομονωτήρες (isolators) (Εικόνα 5.6). Η φροντίδα τους γίνεται υπό στείρες συνθήκες, με στολή ή γάντια που είναι προσαρμοσμένα στον απομονωτήρα και προβάλλουν προς το εσωτερικό του. Κάθε υλικό που εισέρχεται στον απομονωτήρα (τροφή, νερό, στρωμή κ.λπ.) είναι αποστειρωμένο. Τα αξενικά ζώα δεν πρέπει να έρχονται σε επαφή με οποιονδήποτε μικροοργανισμό.



Εικόνα 5.6 Απομονωτήρες.

B. Ζώα που φέρουν έναν ή περισσότερους γνωστούς μικροοργανισμούς (defined flora animals ή gnotobiotic animals)

Προέρχονται από αξενικά ζώα, στα οποία ενοφθαλμίζονται κάποια είδη αβλαβών βακτηρίων, για τη δημιουργία εντερικής χλωρίδας που διευκολύνει την πέψη. Τα ζώα αυτά διατηρούνται σε απομονωτήρες.

Γ. Ζώα ελεύθερα ειδικών παθογόνων μικροοργανισμών (SPF animals: Specific Pathogen Free animals)

Τα ζώα αυτά εξετάζονται τακτικά με ορολογικές εξετάσεις, για να ελεγχθεί το γεγονός ότι είναι απαλλαγμένα από ειδικούς παθογόνους μικροοργανισμούς. Στεγάζονται είτε σε απομονωτήρες είτε σε θαλάμους κάθετης ή οριζόντιας νηματικής ροής αέρα (LAF – Laminar Air Flow units).

5.1.2.3. Θάλαμος απομόνωσης

Ο θάλαμος αυτός είναι απομονωμένος από τους υπόλοιπους και σε αυτόν διατηρούνται τα νεοεισαγόμενα ζώα. Εκεί, παρακολουθούνται τα ζώα για ενδεχόμενες μεταβολές της υγείας τους, ώστε να αντιμετωπιστεί έγκαιρα πιθανή νόσος και να ελαχιστοποιηθεί ο κίνδυνος μετάδοσής της στα υπόλοιπα ζώα της εκτροφής ή

και στον άνθρωπο. Ωστόσο, αξίζει να σημειωθεί ότι τα ζώα που εισάγονται στην εγκατάσταση εκτροφής και προέρχονται είτε από εγκαταστάσεις προμήθειας είτε από άλλες εγκαταστάσεις εκτροφής υφίστανται λεπτομερή έλεγχο της υγείας τους πριν από την αποστολή τους, με αποτέλεσμα να ελαχιστοποιείται ο απαιτούμενος χρόνος καραντίνας. Ο χρόνος παραμονής και παρακολούθησής τους στον θάλαμο απομόνωσης καθορίζεται από τον κτηνίατρο, ανάλογα με το είδος του ζώου, την προέλευση και την κατάσταση της υγείας του (Πίνακας 5.1).

Πίνακας 5.1 Κατευθυντήριες οδηγίες για περιόδους καραντίνας νεοεισαγόμενων ζώων.

Είδος	Διάρκεια (ημέρες)
Μυς	5-15
Επίμυς	5-15
Γέρβιλος	5-15
Ινδικό χοιρίδιο	5-15
Χάμστερ	5-15
Κουνέλι	20-30
Γάτα	20-30
Σκύλος	20-30
Πρωτεύοντα πλην ανθρώπου	40-60

5.1.3. Αίθουσα πειραματικού χειρουργείου

Στο δάπεδο της εισόδου της αίθουσας αυτής υπάρχει αβαθής τάφρος ή πανί εμποτισμένο με φορμόλη, κρεολίνη ή άλλη απολυμαντική ουσία, που απολυμαίνει τα παπούτσια όσων εισέρχονται και εξέρχονται από τον χώρο. Στην αίθουσα αυτή πραγματοποιούνται εργασίες όπως:

1. Αιμοληψίες, απλές διαγνωστικές δοκιμές, εξετάσεις πριν από τον θάνατο, συλλογή δειγμάτων ή παθολογικών υλικών κ.λπ. Στο δωμάτιο αυτό υπάρχουν όλα τα απαραίτητα εργαλεία και υλικά για τη χορήγηση ουσιών στα ζώα.
2. Χειρουργικές επεμβάσεις. Υπάρχει ο απαραίτητος εξοπλισμός για τη διενέργεια χειρουργικών επεμβάσεων. Για την αποστείρωση των επιφανειών, μπορούν να χρησιμοποιηθούν λάμπες υπεριώδους ακτινοβολίας.
3. Νεκροτομές. Διενεργούνται οι νεκροτομές και οι εξετάσεις των ζώων μετά τον θάνατο.

5.2. ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

Τα ζώα που χρησιμοποιούνται στην έρευνα είναι συνήθως θηλαστικά, δηλαδή ομοιόθερμα ζώα, που έχουν την ικανότητα να αντιδρούν και να προσαρμόζονται στις μεταβολές των συνθηκών του περιβάλλοντος, όπως τις μεταβολές της θερμοκρασίας, της διάρκειας του ημερήσιου φωτός, της υγρασίας, της κίνησης του αέρα και του θορύβου. Η προσαρμογή αυτή μπορεί να εκδηλωθεί με τροποποίηση της συμπεριφοράς και των φυσιολογικών λειτουργιών, όπως του μεταβολικού ρυθμού, του ρυθμού πρόσληψης τροφής, της θερμοκρασίας του σώματος, της αναπαραγωγικής δραστηριότητας κ.λπ. Οι αρχές ηθικής και δεοντολογίας χρησιμοποίησης των ζώων σε πειραματισμούς όσο και η ανάγκη για διενέργεια αξιόπιστων πειραμάτων σε ζώα τα οποία βρίσκονται υπό συνθήκες όσο το δυνατό πιο κοντά στο φυσικό περιβάλλον τους επιβάλλουν τη σταθεροποίηση των συνθηκών του περιβάλλοντος.

Το περιβάλλον ενός ζώου συνίσταται α) στο μακρο-περιβάλλον του, που καθορίζεται από τις συνθήκες που επικρατούν στον θάλαμο, και β) στο μικρο-περιβάλλον του, που καθορίζεται από τις συνθήκες που επικρατούν στο κλουβί. Έχει διαπιστωθεί ότι το μικροπεριβάλλον των ζώων παίζει σημαντικό ρόλο. Παράμετροι, όπως το μέγεθος του κλουβιού, το υλικό κατασκευής του, ο τύπος δαπέδου του, η παροχή ή μη υλικών για την κατασκευή φωλιάς καθώς και η φύση της, ο αριθμός των ζώων ανά κλουβί και η θέση του κλουβιού σε σχέση με τα υπόλοιπα, μπορεί να δημιουργήσουν πολλούς διαφορετικούς τύπους μικροπεριβάλλοντος μέσα στον ίδιο θάλαμο (Raynor et al., 1983).

Ο ερευνητής οφείλει να γνωρίζει και να ελέγχει τους παράγοντες εκείνους που θα μπορούσαν να επηρεάσουν, αρχικά, το ζώο και, τελικά, τα αποτελέσματα του πειράματος. Τα πιο αξιόπιστα αποτελέσματα

προέρχονται από μελέτες στις οποίες χρησιμοποιούνται ζώα υγιή και προσαρμοσμένα στο περιβάλλον τους, το οποίο έχει διαμορφωθεί ανάλογα με τις ανάγκες τους. Συνεπώς, ο τρόπος συντήρησης των ζώων εργαστηρίου είναι σημαντικός τόσο για τη λήψη αξιόπιστων αποτελεσμάτων όσο και για την ευζωία των ίδιων των ζώων.

5.2.1. Κλουβιά

Η αγορά κλουβιών είναι συνήθως δαπανηρή, γι' αυτό θα πρέπει να εξυπηρετούν τις ανάγκες του ζώου, του ερευνητή και της πειραματικής διαδικασίας. Η βασική λειτουργία του κλουβιού είναι ο περιορισμός του ζώου, αλλά ταυτόχρονα θα πρέπει να του παρέχει και επαρκή άνεση και κινητικότητα. Τα ζώα έχουν ιδιαίτερα αναπτυγμένη την ικανότητα διαφυγής, και γι' αυτό θα πρέπει να δίνεται προσοχή στην ακεραιότητα των κλουβιών και την ασφάλισή τους. Η διαφυγή ενός ή περισσότερων ζώων μπορεί να οδηγήσει, πέρα από την πιθανότητα εξόδου τους από το δωμάτιο ή τη δύσκολη σύλληψή τους, στον τερματισμό της πειράματος, λόγω αδυναμίας επαναταυτοποίησής τους ή επανομαδοποίησής τους. Τέλος, δεν αποκλείεται ακόμη και ο τραυματισμός τους.

Τα κλουβιά θα πρέπει να είναι από ανθεκτικό υλικό, όχι μόνο προκειμένου να συγκρατούν επαρκώς τα ζώα, αλλά και για να αντέχουν τους διάφορους χειρισμούς κατά τη διαδικασία του καθαρισμού τους, π.χ. την αποστείρωση σε υγρό κλίβανο.

Τα υλικά που χρησιμοποιούνται για την κατασκευή τους είναι συνήθως το μέταλλο και το πλαστικό (πολυανθρακικά, πολυπροπυλένιο, πολυστυρένιο). Τα μεταλλικά κλουβιά κατασκευάζονται από γαλβανισμένο χάλυβα, ανοξείδωτο χάλυβα ή αλουμίνιο. Ο ανοξείδωτος χάλυβας είναι το μέταλλο εκλογής, επειδή, πέρα από το ότι παρέχει μεγάλη αντοχή και στερεότητα, δεν διαβρώνεται εύκολα. Για τα κλουβιά ορισμένων κατώτερων σπονδυλωτών μπορεί να χρησιμοποιηθεί και γυαλί.

Το δάπεδο των κλουβιών μπορεί να είναι είτε συμπαγές με στρωμένη είτε σχαρωτό, ανάλογα με το είδος του ζώου, τις ανάγκες του πειράματος και το χρονικό διάστημα που προβλέπεται να παραμείνει το ζώο στο κλουβί. Το σχαρωτό δάπεδο μπορεί επίσης να φέρει οπές μεγέθους ανάλογου με το είδος ζώου που στεγάζεται ή να αποτελείται από δικτυωτό σύρμα. Το τελευταίο έχει το πλεονέκτημα της απρόσκοπτης αποχέτευσης των ούρων και των κοπράνων κάτω ακριβώς από το κλουβί, από όπου αυτά συλλέγονται εύκολα. Ωστόσο, η λανθασμένη επιλογή διαμέτρου οπών μπορεί να αποτελέσει αιτία τραυματισμού ή ακόμη και μόλυνσης των άκρων του ζώου, ιδιαίτερα σε μακροχρόνια παραμονή του. Το σχαρωτό δάπεδο ενδείκνυται για ζώα στα οποία εφαρμόζεται νηστεία, δεδομένου ότι στην περίπτωση τοποθέτησης στρωμένης θα μπορούσε αυτή να καταναλωθεί ως τροφή. Η στρωμένη στα κλουβιά με συμπαγές δάπεδο θα πρέπει, για λόγους υγιεινής, να αλλάζεται συχνά. Τα μικρά τρωκτικά, λόγω του υπόγειου τρόπου διαβίωσής τους, σταβλίζονται σε κλουβιά με συμπαγές δάπεδο και στρωμένη.

Η στρωμένη θα πρέπει να είναι από μη τοξικό υλικό και να μην έχει θρεπτική αξία. Είναι συνήθως άχυρο ή ροκανίδι. Επίσης, σε ζώα σε μετεγχειρητική περίοδο μπορεί ως στρωμένη να χρησιμοποιηθεί διηθητικό χαρτί. Σε ζώα έγκυα ή σε γαλουχία ή ακόμη σε όσα χρειάζονται επιπλέον ζέστη (π.χ. άτριχα ποντίκια, ζώα σε μετεγχειρητική περίοδο κ.λπ.) θα πρέπει να παρέχονται υλικά για την κατασκευή φωλιάς, όπως άχυρο, ψιλοκομμένο χαρτί, βαμβάκι κ.λπ.

5.2.1.1. Μέγεθος κλουβιών

Οι διαστάσεις των κλουβιών ποικίλλουν, ανάλογα με το είδος και τον αριθμό των ζώων που στεγάζονται σε αυτά. Οι διαστάσεις τους περιγράφονται με λεπτομέρεια στη σχετική Εθνική Νομοθεσία (Πίνακας 5.2). Ο τρόπος ομαδοποίησης των ζώων εξαρτάται από το μέγεθος των κλουβιών, το είδος του ζώου και τις απαιτήσεις του πειράματος. Τα κλουβιά θα πρέπει να έχουν επαρκές μέγεθος, ώστε να επιτρέπουν την εκδήλωση συνήθων δραστηριοτήτων των ζώων, όπως ανάπαυση, αναζήτηση, απόκρυψη και αυτοπεριποίηση.

Ο συνωστισμός των ζώων μπορεί να επηρεάσει τη συμπεριφορά τους, να οδηγήσει σε εκδήλωση επιθετικότητας, ασφυξία και μείωση της γονιμότητας, καθώς επίσης να αυξήσει το ποσοστό θνησιμότητας των νεογέννητων.

Γενικά, τα ζώα θα πρέπει να χωρίζονται σε σταθερές και αρμονικές ομάδες. Ζώα που ζουν σε αγέλες, όπως οι μύες και οι επίμυες, δείχνουν εμφανή δυσφορία αν στεγαστούν ατομικά, ιδιαίτερα αν δεν μπορούν να αισθανθούν την παρουσία άλλων ζώων ή να μυρίσουν άλλα ζώα του ίδιου είδους, οπότε βιώνουν το στρες της απομόνωσης. Οι μικρές ομάδες προτιμώνται σε σχέση με τις μεγάλες. Ωστόσο, σε ορισμένες περιπτώσεις, συστήνεται η ατομική στέγαση, όπως μετεγχειρητικά, κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης σε ορισμένα είδη

τροφικών κ.λπ. Τα χάμστερ, για παράδειγμα, προτιμούν να έχουν τον δικό τους χώρο και συχνά μαλώνουν στην παρουσία άλλου ζώου, εκτός αν βρίσκονται μαζί από τη γέννησή τους. Αλλά ακόμη και σε αυτήν την περίπτωση, όταν φτάσουν σε ηλικία σεξουαλικής ωριμότητας, αυξάνεται η επιθετικότητά τους. Παρομοίως, τα κουνέλια είναι προτιμότερο να στεγάζονται ατομικά, είτε είναι θηλυκά είτε αρσενικά. Είναι, εξάλλου, συχνό το φαινόμενο εμφάνισης ψευδοκύησης σε θηλυκά που σταβλίζονται ομαδικά. Οι πίθηκοι συχνά σταβλίζονται ατομικά, για τη δική τους ασφάλεια. Ωστόσο, για την εξασφάλιση στοιχειώδους κοινωνικής συναναστροφής, θα πρέπει τα κλουβιά να τοποθετούνται σε τέτοια θέση, ώστε να είναι δυνατή τουλάχιστον η θέα των ζώων μεταξύ τους και, όποτε σχηματίζονται αρμονικές και σταθερές ομάδες, να εφαρμόζεται συστέγαση.

Ο παράγοντας που λαμβάνεται σοβαρά υπόψη κατά την κατασκευή ενός κλουβιού είναι η ευκολία και η ασφάλεια με την οποία μπορεί ένα ζώο να εξαχθεί και να επιστραφεί σε αυτό. Τα περισσότερα κλουβιά φέρουν είτε πόρτα στο πρόσθιο τμήμα είτε καπάκι. Σε καμία περίπτωση δεν θα πρέπει να επιχειρείται η σύλληψη του ζώου μέσα από στενό άνοιγμα, δεδομένου ότι μπορεί να οδηγήσει σε τραυματισμό τόσο του ζώου όσο και του χειριστή. Για την ευκολότερη σύλληψη του ζώου, μπορεί να υπάρχει εξοπλισμός στο κλουβί του, π.χ. κινούμενη επιφάνεια, που μετακινεί υποχρεωτικά το ζώο προς την έξοδο (Baker and Morris, 1980) (Εικόνα 5.7).



Εικόνα 5.7 Κλουβί περιορισμού με κινούμενη κάθετη επιφάνεια.

Όλα τα κλουβιά θα πρέπει να φέρουν ταμπέλα, όπου αναγράφεται ο αριθμός του κλουβιού, η ταυτότητα των ζώων, το πείραμα στο οποίο χρησιμοποιούνται και ο αριθμός άδειας του πειραματισμού.

Συνηθίζεται τα κλουβιά να τοποθετούνται σε κινητή ράμπα ή, αν βρίσκονται πάνω σε ράφια, με τρόπο ώστε να μπορούν να αποσυνδέονται όποτε χρειάζεται να καθαριστούν. Το ύψος της συστοιχίας των κλουβιών δεν θα πρέπει να ξεπερνάει κατά πολύ το ύψος ενός ανθρώπου, προκειμένου να είναι εύκολη η σύλληψη των ζώων και ταυτόχρονα να είναι δυνατή η θέα τους.

Ο σχεδιασμός των κλουβιών θα πρέπει να είναι τέτοιος, ώστε να μην επιτρέπεται η παγίδευση ή/και ο τραυματισμός τους, π.χ. στις ταϊστρες ή σε άλλα σημεία του κλουβιού. Θα πρέπει να παρέχεται επαρκής χώρος, ώστε κάθε ζώο να μπορεί να στέκεται όρθιο, να ξαπλώνει άνετα, να τεντώνεται, να αυτοπεριοποιείται, να έχει πρόσβαση σε κοινό χώρο ανάπαυσης (στην περίπτωση ομαδικού σταβλισμού) και να έχει επαρκή χώρο για πρόσληψη τροφής. Το ύψος του κλουβιού θα πρέπει επίσης να επιτρέπει την άνετη διεξαγωγή επίβασης για αναπαραγωγή και να δίνει τη δυνατότητα στο ζώο να στέκεται όρθιο, όπως στα τρωκτικά. Το δάπεδο του κλουβιού δεν θα πρέπει να οδηγεί σε απώλεια θερμότητας του ζώου.

Ανάλογα με τις απαιτήσεις του πρωτοκόλλου, ιδιαίτερα κατά τη μετεγχειρητική περίοδο, έχουν σχεδιαστεί ειδικές κατασκευές κλουβιών εντατικής παρακολούθησης, που καλύπτουν τις ανάγκες των ζώων ως προς τη θερμοκρασία του κλουβιού (με την προσθήκη θερμαινόμενων δαπέδων), τη σχετική υγρασία, τον εμπλουτισμό με οξυγόνο του περιβάλλοντος αέρα (με την τοποθέτηση πόρτας οξυγόνου) κ.λπ. (Εικόνα 5.8).



Εικόνα 5.8 Κλουβιά εντατικής παρακολούθησης.

Τα μεγαλύτερα ζώα εργαστηρίου (μικρά μηρυκαστικά, χοίροι, σκύλοι, γάτες) δεν θα πρέπει να διατηρούνται σε κλουβιά, παρά μόνο για ελάχιστο χρονικό διάστημα, ανάλογο με τις απαιτήσεις του πειραματικού πρωτοκόλλου. Τον υπόλοιπο χρόνο θα πρέπει να σταβλίζονται σε κελιά μεγαλύτερων διαστάσεων (Εικόνα 5.9). Σε κελιά σταβλίζονται επίσης τα μεγάλα ζώα αγροκτήματος (βοοειδή, άλογα).



Εικόνα 5.9 Κελιά μικρών μηρυκαστικών, χοίρων, σαρκοφάγων.

5.2.1.2. Εμπλουτισμός του περιβάλλοντος

Σύμφωνα με την ισχύουσα νομοθεσία, ο εμπλουτισμός του περιβάλλοντος είναι υποχρεωτικός. Στα ζώα θα πρέπει να παρέχεται επαρκής χώρος κατάλληλης πολυπλοκότητας, που να τους επιτρέπει να εκφράζουν ευρύ φάσμα των φυσιολογικών τους συμπεριφορών. Επίσης, θα πρέπει να τους εξασφαλίζεται συγκεκριμένος βαθμός ελέγχου και επιλογής του περιβάλλοντός τους, ώστε να μειώνεται κάθε αγχώδης συμπεριφορά. Για τους παραπάνω λόγους, χρησιμοποιούνται μέσα εμπλουτισμού του περιβάλλοντος, τα οποία παράλληλα προωθούν τη φυσική άσκηση, τις συλλεκτικές, τις χειραγωγικές και γνωστικές δραστηριότητες, ανάλογα με το βιολογικό είδος. Τα υλικά που χρησιμοποιούνται ποικίλλουν ανά είδος και μπορεί να είναι π.χ. χαρτονένιοι κύλινδροι, ξύλινα ραβδάκια για μάσημα και ροκάνισμα, μπάλες, ράφια κ.λπ. (Εικόνα 5.10).



Εικόνα 5.10 Στοιχεία εμπλουτισμού περιβάλλοντος.

5.2.2. Θερμοκρασία

Το εύρος θερμοκρασίας περιβάλλοντος που συστήνεται για κάθε είδος ζώου βρίσκεται μέσα στη θερμοουδέτερη ζώνη του, ώστε να μην παρατηρείται απώλεια ή πρόσληψη θερμότητας από το ζώο (Πίνακας 5.3). Η θερμοκρασία περιβάλλοντος μπορεί να αποκλίνει κατά ± 2 °C από τη συνιστώμενη θερμοκρασία. Όταν επικρατούν συνθήκες όπου το ζώο μπορεί να χάσει προσωρινά τη θερμορρυθμιστική του ικανότητα (π.χ. σε περίπτωση λήψης ορισμένων φαρμάκων ή κατά τη μετεγχειρητική περίοδο), μπορεί να αυξήσουμε τη θερμοκρασία περιβάλλοντος. Για τον σκοπό αυτόν, χρησιμοποιούνται αερόθερμα ή άλλες συσκευές θέρμανσης ή προστίθεται περισσότερη στρωμνή στο δάπεδο του κλουβιού. Σε πειραματόζωα που διατηρούνται στο εξωτερικό περιβάλλον θα πρέπει να παρέχεται σκιά το καλοκαίρι και καταφύγιο με επιπλέον θέρμανση και φαγητό τον χειμώνα.

5.2.3. Σχετική υγρασία

Η σχετική υγρασία είναι παράμετρος στην οποία συχνά δεν δίνεται η ανάλογη προσοχή. Ωστόσο, έχει σημαντική επίδραση στη θερμορρυθμιστική ικανότητα του ζώου. Ιδιαίτερη ευαισθησία παρουσιάζουν οι μύες και οι επίμυες σε συνθήκες χαμηλής υγρασίας (<40%). Οι πίθηκοι του Νέου Κόσμου είναι συνηθισμένοι να ζουν σε περιβάλλον με υψηλή υγρασία, όπως τα τροπικά δάση του Ισημερινού, αλλά με τη μακροχρόνια εκτροφή τους σε συνθήκες εργαστηρίου μειώνεται σταδιακά αυτή η ανάγκη.

Οι συνθήκες υψηλής υγρασίας ευνοούν την επιβίωση μικροοργανισμών που διαβιούν στον αέρα. Γι' αυτό, συστήνεται, σε γενικές γραμμές, η σχετική υγρασία να κυμαίνεται στο $55 \pm 10\%$ και να μη μειώνεται για μεγάλες περιόδους κάτω από 40% ούτε να υπερβαίνει το 70%. Οι όρνιθες παρουσιάζουν μεγαλύτερη ανοχή στις διακυμάνσεις της υγρασίας, η οποία μπορεί να κυμαίνεται από 40% έως 60% (Πίνακας 5.3).

5.2.4. Αερισμός

Ο όγκος αέρα που ανανεώνεται κάθε ώρα στον θάλαμο στέγασης των ζώων εξαρτάται από το μέγεθος του θαλάμου και τον συνολικό αριθμό των ζώων. Συνήθως, ο αέρας ανανεώνεται 12-20 φορές ανά ώρα.

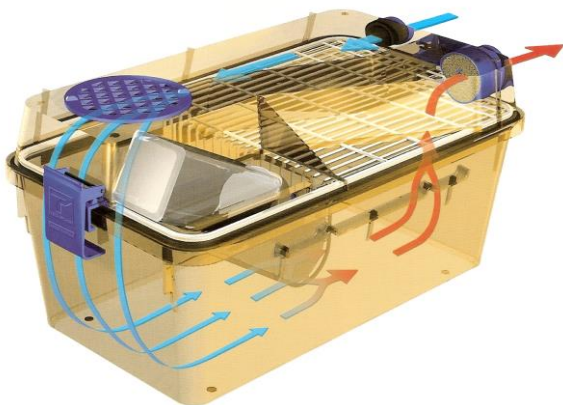
Αν και για τη μείωση του κόστους μπορεί να τοποθετηθεί σύστημα ανακύκλωσης του αέρα, αυτό εμπεριέχει κινδύνους, γι' αυτό δεν συνιστάται. Για την αποφυγή αερογενούς μετάδοσης μικροοργανισμών, είναι σημαντικό να ελέγχεται η ροή του αέρα με το σύστημα εξαερισμού. Θα πρέπει η ροή να ρυθμίζεται έτσι, ώστε να αποφεύγεται η κίνηση του αέρα από «ρυπαρούς» προς «καθαρούς» θαλάμους. Ο έλεγχος της μόλυνσης μπορεί να επιτευχθεί με την ύπαρξη προθαλάμων στην είσοδο και την έξοδο της εκτροφής καθώς και πριν από τον θάλαμο.

Σε επίπεδο θαλάμου, οι εξαεριστήρες τοποθετούνται σε τέτοια θέση, ώστε ο αέρας να κινείται σε όλον τον θάλαμο και σε κάθε κλουβί, ανεξάρτητα από τη θέση του. Η φορά του αέρα θα πρέπει να είναι από το κέντρο της οροφής προς τα κλουβιά και να απάγεται από τα πλευρικά τοιχώματα του δωματίου. Ιδανικά, ο αέρας απάγεται σε επίπεδα, ανάλογα με το ύψος της κάθε σειράς κλουβιών.

Σε επίπεδο κλουβιών, μπορεί να χρησιμοποιηθεί σύστημα ατομικώς αεριζόμενων κλουβιών (IVC), για τον καλύτερο έλεγχο του μικροπεριβάλλοντος. Με το σύστημα IVC ρυθμίζεται η ροή του αέρα και φιλτράρεται, διαμέσου φίλτρων HEPA, ο αέρας ανά κλουβί (Εικόνα 5.11). Η πίεση που επικρατεί σε επίπεδο κλουβιού μπορεί να ρυθμιστεί να είναι θετική, ώστε να ενισχυθεί η προστασία των ζώων από λοιμώξεις, ή αρνητική, ώστε να αποφευχθεί η εξαγωγή αλλεργιογόνων ή μικροοργανισμών που μπορεί να επιμολύνουν το περιβάλλον του θαλάμου. Η δυνατότητα επίτευξης υψηλού ρυθμού ανανέωσης αέρα μέσα στο κλουβί (π.χ. 60 ανανεώσεις ανά ώρα) επιτρέπει τη μείωση της συχνότητας αλλαγής της στρωμνής (Reeb-Whitaker et al., 2001) καθώς και τη σημαντική μείωση των επιπέδων αμμωνίας στο περιβάλλον του κλουβιού (Höglund and

Renström, 2001). Επίσης, συστήνεται η τοποθέτηση φωλιάς στο κλουβί, για την παροχή δυνατότητας προφύλαξης των ζώων από το ρεύμα αέρα που δημιουργείται.

(A)



(B)



Εικόνα 5.11 (A) Ατομικός αεριζόμενο κλουβί τρωκτικών. (B) Σύστημα ατομικός αεριζόμενων κλουβιών.

5.2.5. Φωτισμός

Ο έλεγχος της διάρκειας του ημερήσιου φωτός (φωτοπερίοδος) είναι σημαντικός για τη φυσιολογική εξέλιξη της αναπαραγωγικής δραστηριότητας των ζώων, ιδιαίτερα των θηλυκών. Με την εξασφάλιση κατάλληλων συνθηκών και την ανεξαρτητοποίηση από τις εξωτερικές συνθήκες περιβάλλοντος, τα περισσότερα ζώα εργαστηρίου μπορούν να αναπαράγονται όλον τον χρόνο.

Ο έλεγχος της φωτοπεριόδου γίνεται εύκολα και με μικρό κόστος, με την παρεμβολή ενός χρονοδιακόπτη στην παροχή ηλεκτρικού ρεύματος του τεχνητού φωτισμού. Ο πιο συχνά εφαρμοζόμενος ημερήσιος κύκλος φωτός είναι 12 ώρες φως και 12 ώρες σκοτάδι. Για τον απόλυτο έλεγχο της φωτοπεριόδου, προτείνεται ο θάλαμος να μην έχει παράθυρα ή, αν έχει, αυτά να είναι καλυμμένα.

Η ένταση του φωτός θα πρέπει να είναι τέτοια, ώστε να επιτρέπεται η άνετη και ασφαλής εργασία του προσωπικού, ενώ ταυτόχρονα να μην προκαλεί παρενέργειες στα ζώα. Σε μερικά εργαστήρια η ένταση του φωτός κατά τη διάρκεια της «ημέρας» είναι χαμηλή και αυξάνεται μόνο όποτε εργάζεται το προσωπικό. Ο φωτισμός υψηλής έντασης μπορεί να προκαλέσει βλάβη στον αμφιβληστροειδή χιτώνα των αλφιστικών ζώων. Η ένταση του φωτός στον θάλαμο των ζώων θα πρέπει είναι 350-400 lux, ενώ στα κλουβιά των τρωκτικών δεν θα πρέπει να ξεπερνάει τα 60 lux. Θα πρέπει να δίνεται προσοχή, ώστε να μην ανάβει το φως, έστω και για μικρή περίοδο, κατά τη διάρκεια της «νύχτας». Αν αυτό είναι απαραίτητο για κάποιον λόγο, προτιμάται φως σκούρου κόκκινου χρώματος, δεδομένου ότι δεν είναι ορατό από τα περισσότερα είδη ζώων εργαστηρίου.

5.2.6. Θόρυβος

Οι θάλαμοι στέγασης των ζώων εργαστηρίου θα πρέπει να κατασκευάζονται με ηχομόνωση. Θα πρέπει να αποφεύγονται οι απότομοι θόρυβοι, που προκαλούνται συνήθως από τους ανθρώπους, γι' αυτό θα πρέπει να αποφεύγεται η αιφνίδια είσοδος τους στον θάλαμο των ζώων, καθώς επίσης να γίνονται προσεκτικοί χειρισμοί των κλουβιών, ιδιαίτερα των μεταλλικών.

Η ακουστική ικανότητα ποικίλλει μεταξύ των διάφορων ειδών ζώων, και έτσι είναι δύσκολο να δοθούν ακριβείς οδηγίες για τα επιτρεπτά όρια έντασης ήχου σε έναν θάλαμο με ζώα. Μια αποδεκτή ένταση ήχου

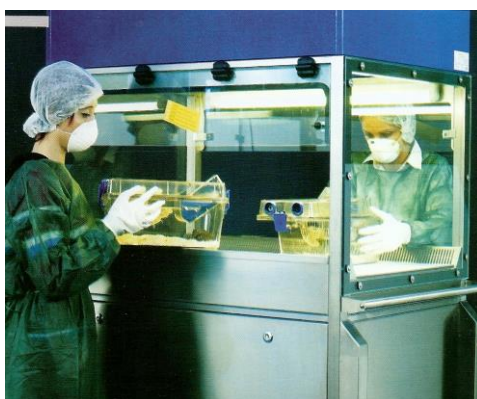
είναι εκείνη η οποία δεν ξεπερνάει τα 50 dB. Θα πρέπει επίσης να δίνεται προσοχή στην παρουσία ηχογόνων συσκευών σε γειτονικά δωμάτια, που μπορεί να εκπέμπουν υπερήχους. Η συχνότητα των ήχων αυτών μπορεί να μη γίνεται αντιληπτή από εμάς, αλλά να γίνεται από τα ζώα και να τους προκαλεί εκνευρισμό και ίσως απρόβλεπτη συμπεριφορά. Ακόμη, προτείνεται, να αποφεύγεται η εγκατάσταση σειρήνων συναγερμού κοντά στον θάλαμο των ζώων και, αν αυτό δεν είναι εφικτό, η συχνότητα των ήχων που εκπέμπουν να κυμαίνεται μεταξύ 430 και 470 Hz.

5.3. ΥΓΙΕΙΝΗ ΤΩΝ ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΕΩΝ

5.3.1. Καθαριότητα

Με την καθαριότητα, απομακρύνεται το μεγαλύτερο τμήμα των μικροοργανισμών από τα αντικείμενα και τους χώρους που χρησιμοποιούνται και αποτρέπεται έτσι η πρόκληση λοιμώξεων. Για την καθαριότητα του περιβάλλοντος των ζώων (δάπεδο, τοίχοι, πάγκοι εργασίας, κλουβιά, ταΐστρες κ.λπ.), χρησιμοποιείται νερό υπό πίεση και απορρυπαντικό, το οποίο στη συνέχεια ξεπλένεται με νερό υψηλής θερμοκρασίας.

Η συχνότητα καθαριότητας των κλουβιών εξαρτάται από τον αριθμό των ζώων ανά κλουβί, το είδος της στρωμνής και το μέγεθος του κλουβιού. Για την αποφυγή μετάδοσης αερομεταφερόμενων μικροοργανισμών και αλλεργιογόνων ουσιών, χρησιμοποιούνται σταθμοί αλλαγής της στρωμνής των κλουβιών (Εικόνα 5.12), όπου συστήματα απαγωγής αέρα ή κάθετης νηματικής ροής εμποδίζουν τη διασπορά σκόνης και μικροοργανισμών στο εξωτερικό περιβάλλον. Για το πλύσιμο των κλουβιών, μπορούν να χρησιμοποιηθούν αυτόματα πλυντήρια με νερό υψηλής θερμοκρασίας και πίεσης (Εικόνα 5.13).



Εικόνα 5.12 Σταθμός αλλαγής στρωμνής κλουβιών τρωκτικών.



Εικόνα 5.13 Πλυντήριο κλουβιών.

5.3.2. Απολύμανση

Με τη διαδικασία της απολύμανσης, μειώνεται σημαντικά ο αριθμός των παθογόνων μικροοργανισμών σε αβλαβή επίπεδα. Οι απολυμαντικές ουσίες που χρησιμοποιούνται, ανάλογα με την ισχύ τους, μπορεί να είναι βακτηριοστατικές, βακτηριοκτόνες ή σποροκτόνες. Συνήθως, έχουν μεγάλη ισχύ και γι' αυτό χρησιμοποιούνται μόνο για την απολύμανση του περιβάλλοντος και όχι των ζώων. Θα πρέπει να συνδυάζονται με τη χρήση απορρυπαντικών ουσιών. Η συγκέντρωσή τους θα πρέπει να είναι υψηλή και η διάρκεια χρήσης του διαλύματός τους μικρή, επειδή διαλυόμενες χάνουν προοδευτικά την ισχύ τους. Συνήθως, χρησιμοποιούνται φαινόλες και τα παράγωγά τους, αλκοόλες (αιθυλική, ισοπροπυλική), αλδεΐδες (φορμαλδεΐδη, γλουταραλδεΐδη) και παράγωγα του ιωδίου, του χλωρίου και του αμμωνίου.

5.3.3. Αποστείρωση

Με τη διαδικασία της αποστείρωσης, επιτυγχάνεται η καταστροφή όλων των ζωντανών μικροοργανισμών (πρωτόζωα, βακτήρια και οι σπόροι τους, ιοί, μύκητες και οι σπόροι τους). Μπορούν να αποστειρωθούν κλουβιά, στρωμή, στολές, εργαλεία κ.λπ., ανάλογα με τις απαιτήσεις του κάθε πειραματικού πρωτοκόλλου.

Μια μέθοδος αποστείρωσης που χρησιμοποιείται συχνά είναι η έκθεση των αντικειμένων σε ατμούς υψηλής θερμοκρασίας και πίεσης σε ειδικούς κλίβανους (αυτόκαυστα). Η μέθοδος είναι ταχεία και σχετικά φθηνή, ενώ με την εφαρμογή της αποφεύγεται η χρησιμοποίηση τοξικών χημικών ουσιών. Ο απαιτούμενος χρόνος κλιβανισμού εξαρτάται από το μέγεθος και το είδος του αντικειμένου προς αποστείρωση καθώς και τον βαθμό μόλυνσής του. Ο ελάχιστος χρόνος που απαιτείται για αποστείρωση είναι 15 min σε πίεση 15 psi και θερμοκρασία 121 °C. Ο υπερθερμασμένος ατμός διεισδύει στα αντικείμενα και τα αποστειρώνει.

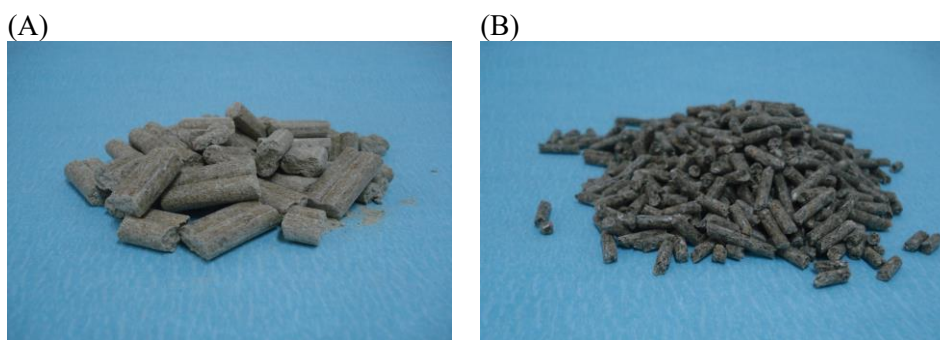
Για την αποστείρωση, μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν κλίβανοι υψηλής θερμοκρασίας (ξηροί κλίβανοι). Οι θερμοκρασίες που χρησιμοποιούνται είναι συνήθως μεγαλύτερες από 160 °C για 45 min. Η μέθοδος αυτή προτιμάται για την αποστείρωση μεταλλικών αντικειμένων.

Όσα αντικείμενα δεν αντέχουν σε υψηλές θερμοκρασίες ή πιέσεις μπορούν να αποστειρωθούν με μεθόδους που περιλαμβάνουν τη χρησιμοποίηση αερίου αιθυλενοξειδίου (γάντια, τραχειοσωλήνες), φορμαλδεΐδης, ακτινοβολίας-γ (σύριγγες, ράμματα), το φιλτράρισμα υγρών κ.λπ.

5.4. ΠΑΡΟΧΗ ΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ ΝΕΡΟΥ

5.4.1. Τροφή

Η τροφή που παρέχεται στα ζώα θα πρέπει να καλύπτει τις διατροφικές ανάγκες τους, να είναι γευστική και να μην είναι μολυσμένη. Παρέχεται, κατά κύριο λόγο, βιομηχανοποιημένη (τυποποιημένη) τροφή που περιέχει όλα τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά. Συνήθως, έχει μορφή συμπήκτων (pellets) (Εικόνα 5.14) ή κύβων, ενώ αποφεύγεται η μορφή σκόνης, επειδή μεγάλο τμήμα της μπορεί να σπαταληθεί και να λερωθεί από τα ζώα και η κατανομή της μεταξύ των ζώων δεν είναι ισότιμη. Η τροφή παρατίθεται σε τιάστρες ή καλάθια, που προσαρμόζονται στο εξωτερικό του κλουβιού και προέχουν προς το εσωτερικό, ή σταθεροποιούνται σε συγκεκριμένο σημείο στο εσωτερικό, ή περιλαμβάνουν τμήμα του μεταλλικού καλύμματος του κλουβιού.



Εικόνα 5.14 Τροφή υπό μορφή συμπήκτων για (A) τρωκτικά και (B) κουνέλια.

Οι τροφές παρασκευάζονται με βάση τη σύνθεση ορθολογιστικών σιτηρεσίων. Η σύνθεση αυτή ισχύει με την προϋπόθεση ότι η τροφή αποθηκεύεται σωστά και χρησιμοποιείται πριν από την ημερομηνία λήξης της. Για

τις εύκρατες χώρες, η περίοδος κατανάλωσης της τροφής είναι συνήθως έξι μήνες από την ημερομηνία παρασκευής της. Οι τροφές θα πρέπει να αποθηκεύονται σε δροσερό, ξηρό και, αν είναι δυνατό, σκοτεινό χώρο, ώστε να εξασφαλίζεται η ελάχιστη δυνατή μείωση της θρεπτικής τους αξίας μέχρι την κατανάλωσή τους.

Τροφές που παρασκευάζονται από φυσικά συστατικά μπορεί να μολυνθούν από μικροοργανισμούς δυνητικά παθογόνους για τα ζώα εργαστηρίου. Η παστερίωση, που αποτελεί ένα από τα στάδια παρασκευής των τροφών, δεν μειώνει επαρκώς το μικροβιακό φορτίο της τροφής που προορίζεται για SPF, αξενικά ή ανοσοκατασταλμένα ζώα, στα οποία και η παραμικρή μόλυνση έχει δραματικές επιπτώσεις. Η αποστείρωση της τροφής με έκθεσή της σε ακτινοβολία γάμμα με απορροφούμενη δόση 25-50 kGy έχει ικανοποιητικά αποτελέσματα. Ωστόσο, παρουσιάζει το μειονέκτημα ότι καταστρέφει σημαντικό ποσοστό των πρωτεϊνών και των βιταμινών της τροφής. Προκειμένου να αντισταθμιστεί αυτή η μείωση, προβλέπεται μεγαλύτερη αρχική συγκέντρωση πρωτεϊνών και προσθήκη βιταμινών, που όμως αυξάνει το κόστος της τροφής.

Οι απαιτήσεις σε θρεπτικά συστατικά ποικίλλουν για κάθε είδος ζώου. Σε ορισμένα είδη και κατηγορίες ζώων παρατηρούνται ιδιαιτερότητες ως προς τις απαιτήσεις τους σε θρεπτικά συστατικά. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο οργανισμός του ινδικού χοιριδίου, όπως και των πρωτευόντων, δεν συνθέτει βιταμίνη C, επομένως αυτή θα πρέπει να χορηγείται εξωγενώς καθημερινά. Η βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ) είναι ιδιαίτερα σημαντική για τα έγκυα ζώα καθώς και για εκείνα που γαλουχούν. Τα SPF και τα αξενικά ζώα δεν έχουν φυσιολογική εντερική χλωρίδα και επομένως δεν έχουν τα απαραίτητα βακτήρια για τη σύνθεση ορισμένων βιταμινών, κυρίως της K και εκείνων του συμπλέγματος B. Ως εκ τούτου, θα πρέπει να λαμβάνεται ιδιαίτερη μέριμνα για τη συμπληρωματική χορήγησή της. Επιπλέον, σε μεγαλύτερα είδη ζώων, όπως τους πιθήκους, είναι απαραίτητη η χορήγηση συμπληρωμάτων διατροφής. Έτσι, η συμπυκνωμένη τροφή συνήθως συνοδεύεται με φρούτα, λαχανικά ή και σκευάσματα βιταμινών. Σε μερικά είδη ζώων, όπως τον μυ, τον επίμυ, το κουνέλι και το ινδικό χοιρίδιο, παρατηρείται το φαινόμενο της κοπροφαγίας, σύμφωνα με το οποίο το ζώο καταναλώνει κόπρανα που λαμβάνει απευθείας από το απευθυμένο του. Η διαδικασία αυτή είναι απαραίτητη για τη διατήρηση στον οργανισμό των αναγκαίων επιπέδων νερού και βιταμινών του συμπλέγματος B καθώς και για την ορθότερη αξιοποίηση των πρωτεϊνών.

Ανάλογα με το είδος του ζώου, η τροφή παρατίθεται για κατά βούληση (*ad libitum*) κατανάλωση ή σε καθορισμένη ημερήσια ποσότητα. Η κατά βούληση κατανάλωση, αν και παρέχει σημαντικές ευκολίες, μπορεί συχνά να οδηγήσει σε παχυσαρκία, ειδικά στις περιπτώσεις όπου δεν δίνεται η δυνατότητα στο ζώο να ασκηθεί. Στην πράξη, στα ζώα που στεγάζονται ομαδικά δεν μπορεί να εφαρμοστεί άλλος τρόπος παράθεσης της τροφής, παρά μόνο εκείνος της κατά βούληση κατανάλωσης, αν και υπάρχει ο κίνδυνος ανισομερούς κατανάλωσης από τα πιο ισχυρά ζώα σε βάρος των υπολοίπων. Όπου εφαρμόζεται ατομική στέγαση, είναι δυνατή η καθημερινή χορήγηση τροφής καθορισμένης ποσότητας. Έχει παρατηρηθεί ότι η χορήγηση καθορισμένης ημερήσιας ποσότητας τροφής στους μυς και τους επίμυς μπορεί να μειώσει τη συχνότητα εμφάνισης νεοπλασιών (Coneybeare, 1980).

Ανάλογα με τη φάση της ζωής που διανύει το ζώο, του παρέχεται διαφορετικός τύπος τροφής. Έτσι, σε περίοδο αναπαραγωγής αυξάνεται η ενέργεια της τροφής καθώς και η συγκέντρωση των πρωτεϊνών, ενώ σε περίοδο συντήρησης χορηγείται τροφή με θρεπτικά συστατικά σε φυσιολογικά επίπεδα. Ζώα που βρίσκονται σε μετεγχειρητική περίοδο χρειάζονται βοήθεια για την επανάκτηση της όρεξής τους. Έτσι, στις γάτες μπορεί να χορηγηθεί τροφή με έντονη οσμή ως κίνητρο για την κατανάλωσή της.

5.4.2. Νερό

Θα πρέπει να υπάρχει πάντα στη διάθεση των ζώων άφθονο, καθαρό και φρέσκο νερό για κατά βούληση κατανάλωση, εκτός αν το πειραματικό πρωτόκολλο απαιτεί την προσωρινή διακοπή της παροχής του, π.χ. σε ζώα σε προ- ή μετεγχειρητική περίοδο. Η υδροδότηση γίνεται με νερό είτε απευθείας από τη βρύση είτε μετά από μεσολάβηση συστήματος χλωρίωσης, αποχλωρίωσης ή αποστείρωσης. Το νερό παρέχεται είτε με ημιαυτόματες πλαστικές ποτίστρες είτε με αυτόματο δίκτυο, το οποίο καταλήγει σε ποτίστρες που λειτουργούν με βαλβίδα (Εικόνα 5.15). Ακόμη, είναι δυνατό να χορηγείται σε ανοικτές πλαστικές ή μεταλλικές κούπες, αλλά έτσι μπορεί εύκολα να λερωθεί ή να χυθεί. Οι αυτόματες ποτίστρες έχουν το πλεονέκτημα της εύκολης και διαρκούς υδροδότησης. Ωστόσο, θα πρέπει να λαμβάνεται μέριμνα, ώστε οι βαλβίδες τους να μη στάζουν, οι σωλήνες παροχής νερού να τοποθετούνται εξωτερικά του κλουβιού και να γίνεται τακτικός έλεγχος της λειτουργίας τους. Ακόμη, έχουν το μειονέκτημα ότι δεν υπάρχει η δυνατότητα χορήγησης φαρμακευτικών ή άλλων ουσιών διαλυμένων στο νερό στο κάθε ζώο χωριστά ούτε παρακολούθησης του ημερήσιου ρυθμού λήψης του νερού, ο οποίος αποτελεί χρήσιμη ένδειξη για την

κατάσταση της υγείας του ζώου. Ο έλεγχός τους μπορεί να γίνει εύκολα, με την παροχή νερού σε πλαστικές διαφανείς ποτίστρες ή μπουκάλια.

Η ποσότητα νερού που καταναλώνεται ημερησίως από κάθε είδος ζώου αναφέρεται σε διάφορα συγγράμματα. Για παράδειγμα, ένας ενήλικας επίμυς σωματικού βάρους 250 g καταναλώνει 25-35 mL νερού ημερησίως. Δεδομένου ότι τα περισσότερα ζώα εργαστηρίου διατρέφονται με ξηρή τροφή (<14% νερό), χρειάζεται να έχουν στη διάθεσή τους σημαντικές ποσότητες νερού. Συστήνεται η εγκατάσταση ντεπόζιτου νερού, για την αντιμετώπιση της περίπτωσης διακοπής της υδροδότησης της μονάδας.

Το νερό αποτελεί υπόστρωμα για την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό μικροοργανισμών, γι' αυτό θα πρέπει να λαμβάνεται μέριμνα για την περιοδική απολύμανση του δικτύου ύδρευσης. Οι πλαστικές ποτίστρες πρέπει να καθαρίζονται τακτικά με απορρυπαντικό και στη συνέχεια να ξεπλένονται καλά. Όπου υπάρχει υποψία μόλυνσης, θα πρέπει να εφαρμόζεται μηχανική ή χημική απολύμανση. Για να ελαχιστοποιηθεί ο κίνδυνος μετάδοσης νοσημάτων, κάθε ποτίστρα, μετά τον καθαρισμό της, επιστρέφεται στο ίδιο κλουβί.

(A)



(B)



Εικόνα 5.15 Τύποι ποτίστρας. (A) Πλαστικό μπουκάλι. (B) Ποτίστρα με βαλβίδα.

Πίνακας 5.2 Διαστάσεις καταλυμάτων ζώων εργαστηρίου.

		Σωματικό βάρος (g)	Ελάχιστο μέγεθος καταλύματος (cm²)	Εμβαδό δαπέδου ανά ζώο (cm²)	Ελάχιστο ύψος καταλύματος (cm)	
ΜΥΕΣ	Σε απόθεμα και κατά τις διαδικασίες	≤20	330	60	12	
		20-25	330	70	12	
		25-30	330	80	12	
		>30	330	100	12	
	Σε αναπαραγωγή		330 ⁽¹⁾			
	Σε απόθεμα σε εκτροφεία. ⁽²⁾ Μέγεθος καταλύματος 950 cm ²	≤20	950	40	12	
	Μέγεθος κλωβού 1.500 cm ²	≤20	1.500	30	12	
	<p>⁽¹⁾ Για ένα μονογαμικό ζευγάρι ή για τρία. Για κάθε επιπλέον θηλυκό με νεογνά, επιπλέον 180 cm².</p> <p>⁽²⁾ Οι απογαλακτισμένοι μύες επιτρέπεται να διατηρούνται σε αυτές τις υψηλότερες πυκνότητες πληθυσμού κατά τη σύντομη περίοδο μετά τον απογαλακτισμό έως την ενηλικίωση, εφόσον τα ζώα στεγάζονται σε μεγαλύτερα καταλύματα με κατάλληλο εμπλουτισμό και αυτές οι συνθήκες στέγασης δεν πρέπει να προκαλούν απώλεια ευζωίας, αυξημένα επίπεδα επιθετικότητας, νοσηρότητα και θνησιμότητα, στερεοτυπίες και άλλες διαταραχές συμπεριφοράς, απώλεια βάρους ή άλλες μεταβολές της φυσιολογίας ή της συμπεριφοράς λόγω άγχους.</p>					
	ΕΠΙΜΥΕΣ	Σε απόθεμα και κατά τις διαδικασίες ⁽¹⁾	≤200	800	200	18
			200-300	800	250	18
300-400			800	350	18	
400-600			800	450	18	
>600			1.500	600	18	
Σε αναπαραγωγή			800 ⁽²⁾		18	
Σε απόθεμα στα εκτροφεία. ⁽³⁾ Μέγεθος καταλύματος 1.500 cm ²		≤50	1.500	100	18	
		50-100	1.500	125	18	
		100-150	1.500	150	18	
		150-200	1.500	175	18	
Σε απόθεμα στα εκτροφεία. ⁽³⁾ Μέγεθος καταλύματος 2.500 cm ²		≤100	2.500	100	18	
		100-150	2.500	125	18	
		150-200	2.500	150	18	
<p>⁽¹⁾ Σε μακροχρόνιες μελέτες, στις περιπτώσεις όπου, προς το τέλος της μελέτης, ο διαθέσιμος χώρος ανά ζώο είναι χαμηλότερος από τον προαναφερόμενο και δίνεται προτεραιότητα στη διατήρηση σταθερών κοινωνικών δομών.</p> <p>⁽²⁾ Μητέρα και νεογνά. Για κάθε επιπλέον ενήλικο, επιπλέον 400 cm².</p> <p>⁽³⁾ Οι απογαλακτισμένοι επίμυες επιτρέπεται να διατηρούνται σε αυτές τις υψηλότερες πυκνότητες πληθυσμού κατά τη σύντομη περίοδο μετά τον απογαλακτισμό έως την ενηλικίωση, εφόσον τα ζώα στεγάζονται σε μεγαλύτερα καταλύματα με κατάλληλο εμπλουτισμό και αυτές οι συνθήκες στέγασης δεν πρέπει να προκαλούν απώλεια ευζωίας, αυξημένα επίπεδα επιθετικότητας, νοσηρότητα και θνησιμότητα, στερεοτυπίες και άλλες διαταραχές συμπεριφοράς, απώλεια βάρους ή άλλες μεταβολές της φυσιολογίας ή της συμπεριφοράς λόγω άγχους.</p>						

Συνεχίζεται...

...συνέχεια Πίνακα 5.2

		Σωματικό βάρος (g)	Ελάχιστο μέγεθος καταλύματος (cm ²)	Εμβαδό δαπέδου ανά ζώο (cm ²)	Ελάχιστο ύψος καταλύματος (cm)
ΓΕΡΒΙΛΟΙ	Σε απόθεμα και κατά τις διαδικασίες	≤40	1.200	150	18
		>40	1.200	250	18
	Σε αναπαραγωγή		1.200 ⁽¹⁾		18
	⁽¹⁾ Μονογαμικό ζευγάρι ή τρίο με απογόνους.				
ΚΡΙΚΗΤΟΙ	Σε απόθεμα και κατά τις διαδικασίες	≤60	800	150	14
		60-100	800	200	14
		>100	800	250	14
	Σε αναπαραγωγή		800 ⁽¹⁾		14
	Σε απόθεμα στα εκτροφεία ⁽²⁾	≤60	1.500	100	14
⁽¹⁾ Μητέρα ή μονογαμικό ζευγάρι με νεογνά. ⁽²⁾ Οι απογαλακτισμένοι κρικητοί επιτρέπεται να διατηρούνται σε αυτές τις υψηλότερες πυκνότητες πληθυσμού κατά τη σύντομη περίοδο μετά τον απογαλακτισμό έως την ενηλικίωση, εφόσον τα ζώα στεγάζονται σε μεγαλύτερα καταλύματα με κατάλληλο εμπλουτισμό και αυτές οι συνθήκες στέγασης δεν πρέπει να προκαλούν απώλεια ευζωίας, αυξημένα επίπεδα επιθετικότητας, νοσηρότητα και θνησιμότητα, στερεοτυπίες και άλλες διαταραχές συμπεριφοράς, απώλεια βάρους ή άλλες μεταβολές της φυσιολογίας ή της συμπεριφοράς λόγω άγχους.					
ΙΝΔΙΚΑ ΧΟΙΡΙΑ	Σε απόθεμα και κατά τις διαδικασίες	≤200	1.800	200	23
		200-300	1.800	350	23
		300-450	1.800	500	23
		450-700	2.500	700	23
		>700	2.500	900	23
	Σε αναπαραγωγή		2.500 ⁽¹⁾		23
⁽¹⁾ Ζευγάρι με νεογνά. Για κάθε επιπλέον θηλυκό αναπαραγωγής, επιπλέον 1.000 cm ² .					
ΝΥΦΙΤΣΕΣ	Ενήλικα αρσενικά	≤600	4.500	1.500	50
		>600	4.500	3.000	50
	Κουναβομητέρα και νεογνά		6.000	6.000	50
			5.400	5.400	50

Συνεχίζεται...

ΚΟΥΝΕΛΙΑ				
Ηλικία		Ελάχιστο μέγεθος καταλύματος (cm²)	Ελάχιστο εμβαδό δαπέδου ανά ζώο (cm²)	Ελάχιστο ύψος (cm)
<10 εβδ.	Απογαλακτ. – 7 εβδ.	4.000	800	40
	7-10 εβδομάδων	4.000	1.200	40
>10 εβδ.	Τελικό σωματικό βάρος (kg)	Ελάχιστο εμβαδό δαπέδου (cm²) ⁽¹⁾		Ελάχιστο ύψος (cm)
	≤3	3.500		45
	3-5	4.200		45
	>5	5.400		60
⁽¹⁾ Για ένα ή δύο ζώα. Για το 3ο, 4ο, 5ο και 6ο επιπλέον κουνέλι, επιπλέον 3.000 cm ² ανά κουνέλι. Για κάθε επιπλέον κουνέλι μετά το 6ο, επιπλέον τουλάχιστον 2.500 cm ² .				
	Βάρος κονικλομητέρας (kg)	Ελάχιστο μέγεθος καταλύματος (cm²)	Επιπλέον εμβαδό για τα κιβώτια εμφώλευσης (cm²)	Ελάχιστο ύψος (cm)
Κονικλομητέρα και νεογνά	≤3	3.500	1.000	45
	3-5	4.200	1.200	45
	>5	5.400	1.400	60

Διαστάσεις υπερυψωμένων περιοχών για καταλύματα κουνελιών			
Ηλικία	Τελικό σωματικό βάρος (kg)	Βέλτιστο μέγεθος (cm × cm)	Βέλτιστο ύψος από το δάπεδο του καταλύματος (cm)
<10 εβδ.		τουλάχιστον 55 × 5	
>10 εβδ.	≤ 3	55 × 25	25
	3-5	55 × 30	25
	> 5	60 × 35	30
Εντός του καταλύματος πρέπει να υπάρχει ένας υπερυψωμένος χώρος, ο οποίος να επιτρέπει στο ζώο να ξαπλώνει, να κάθεται και να κινείται εύκολα από κάτω, αλλά να μην καλύπτει περισσότερο από το 40% του εμβαδού του δαπέδου. Αν υπάρχουν επιστημονικοί ή κτηνιατρικοί λόγοι για να μη χρησιμοποιηθεί υπερυψωμένος χώρος, τότε το κατάλυμα είναι μεγαλύτερο κατά 33% ή 60% για ένα ή δύο κουνέλια, αντίστοιχα.			

ΣΚΥΛΟΙ				
	Βάρος (kg)	Ελάχιστο μέγεθος καταλύματος (m²)	Ελάχιστο εμβαδό δαπέδου (m²)	Ελάχιστο ύψος (m)
Απογαλακτισμένα ζώα σε απόθεμα	≤5	4	0,5 ανά ζώο	2
	5-10	4	1,0	2
	10-15	4	1,5	2
	20-25	4	2	2
	>20	8	4	2
				για 1 ή 2 ζώα
Συνεχίζεται...				

...συνέχεια Πίνακα 5.2

Ενήλικα	≤20	4	4 ⁽¹⁾	2
	>20	8	8 ⁽²⁾	2

(1) Για κάθε πρόσθετο ζώο, επιπλέον 2 m².
(2) Για κάθε πρόσθετο ζώο, επιπλέον 4 m².
Σκύλοι που στεγάζονται κατά ζεύγη ή ομαδικά ενδέχεται να διαβιώσουν στο μισό εμβαδό (2 m² για σκύλο μικρότερο των 20 kg, 4 m² για σκύλο μεγαλύτερο των 20 kg), όταν υποβάλλονται σε διαδικασία για χρονικό διάστημα που δεν πρέπει να υπερβαίνει τις 4 ώρες κάθε φορά.
Ένα θηλυκό σε γαλουχία και τα νεογνά του διαθέτουν τον ίδιο χώρο με ένα μεμονωμένο θηλυκό ισοδύναμου βάρους. Το κελί αναπαραγωγής είναι σχεδιασμένο με τρόπο που το θηλυκό να μπορεί να μετακινηθεί σε ένα πρόσθετο διαμέρισμα ή ανυψωμένη περιοχή, μακριά από τα κουτάβια.

ΓΑΤΕΣ	Δάπεδο (m ²) ⁽¹⁾	Γείσωμα (m ²)	Ύψος (m)
Ενήλικα	1,5	0,5	2
Για κάθε επιπλέον ζώο προστίθενται	0,75	0,25	-

(1) Εμβαδό δαπέδου χωρίς γεισώματα.
Το ελάχιστο εμβαδό διαβίωσης για μητέρα με νεογνά είναι το απαιτούμενο για μία μεμονωμένη γάτα, αυξανόμενο βαθμιαία, ώστε όταν τα γατάκια φθάσουν στην ηλικία των τεσσάρων μηνών να έχουν κατάλυμα σύμφωνο με τις ανωτέρω απαιτήσεις εμβαδού για ενήλικες.
Οι περιοχές διατροφής και καθαριότητας απέχουν μεταξύ τους 0,5 m τουλάχιστον και δεν εναλλάσσονται.

ΒΟΟΕΙΔΗ	Ελάχιστο μέγεθος καταλύματος (m ²)	Ελάχιστο εμβαδό δαπέδου ανά ζώο (m ² /ζώο)	Πλάτος θέσης στην ταϊστρα για σίτιση κατά βούληση αποκερατωθέντων βοοειδών (m/ζώο)	Πλάτος θέσης στην ταϊστρα για περιορισμένη σίτιση αποκερατωθέντων βοοειδών (m/ζώο)
Σωματικό βάρος (kg)				
≤100	2,50	2,30	0,10	0,30
100-200	4,25	3,40	0,15	0,50
200-400	6,00	4,80	0,18	0,60
400-600	9,00	7,50	0,21	0,70
600-800	11,00	8,75	0,24	0,80
>800	16,00	10,00	0,30	1,00

ΑΙΓΟΠΡΟΒΑΤΑ	Ελάχιστο μέγεθος καταλύματος (m ²)	Ελάχιστο εμβαδό δαπέδου ανά ζώο (m ² /ζώο)	Ελάχιστο ύψος χωρίσματος (m)	Πλάτος θέσης στην ταϊστρα για σίτιση κατά βούληση (m/ζώο)	Πλάτος θέσης στην ταϊστρα για περιορισμένη σίτιση (m/ζώο)
Σωματικό βάρος (kg)					
≤20	1,0	0,7	1,0	0,10	0,25
20-35	1,5	1,0	1,2	0,10	0,30
35-60	2,0	1,5	1,2	0,12	0,40
>60	3,0	1,8	1,5	0,12	0,50

Συνεχίζεται...

ΧΟΙΡΟΙ ΚΑΙ ΝΑΝΟΜΟΡΦΟΙ ΧΟΙΡΟΙ	Σωματικό βάρος (kg)	Ελάχιστο μέγεθος καταλύματος (m ²) ⁽¹⁾	Ελάχιστο εμβαδόν δαπέδου ανά ζώο (m ² /ζώο)	Ελάχιστος χώρος ανάπαυσης ανά ζώο (σε θερμοκρασιακά ουδέτερες συνθήκες) (m ² /ζώο)
Ενήλικοι (συμβατικοί) κάπροι	<5	2,0	0,20	0,10
	5-10	2,0	0,25	0,11
	10-20	2,0	0,35	0,18
	20-30	2,0	0,50	0,24
	30-50	2,0	0,70	0,33
	50-70	3,0	0,80	0,41
	70-100	3,0	1,00	0,53
	100-150	4,0	1,35	0,70
	>150	5,0	2,50	0,95
		7,5		1,30

⁽¹⁾ Οι χοίροι είναι δυνατό να διατηρούνται σε μικρότερα καταλύματα για σύντομο χρονικό διάστημα, χωρίζοντας για παράδειγμα με παραπετάσματα τον κύριο χώρο, για κτηνιατρικούς ή πειραματικούς λόγους, π.χ. όταν απαιτείται ατομική σίτιση των ζώων.

Ύψος ακρωμίου (m)	Ελάχιστο εμβαδό δαπέδου ανά ζώο (m ² /ζώο)			
	Για κάθε ζώο στεγαζόμενο μόνο του ή σε ομάδες ≤ 3 ζώων	Για κάθε ζώο στεγαζόμενο σε ομάδες ≥ 4 ζώων	Κελί τοκετού / φοράδα με πουλάρι	Ελάχιστο ύψος καταλύματος (m)
1,00-1,40	9,0	6,0	16	3,00
1,40-1,60	12,0	9,0	20	3,00
>1,60	16,0	(2 × ΥΑ) ⁽¹⁾	20	3,00

⁽¹⁾ Για να εξασφαλιστεί ευρυχωρία, ο καθορισμός του διαθέσιμου για κάθε μεμονωμένο ζώο χώρου βασίζεται στο ύψος ακρωμίου (ΥΑ). Η χαμηλότερη πλευρά έχει ύψος τουλάχιστον 1,5 φορά το ύψος ακρωμίου του ζώου. Το ύψος των εσωτερικών χώρων επιτρέπει στα ιπποειδή να αναπτυχθούν πλήρως.

ΜΑΡΜΟΖΕΤ ΚΑΙ ΤΑΜΑΡΙΝΟΙ	Ελάχιστο εμβαδό δαπέδου καταλυμάτων για 1 ⁽¹⁾ ή 2 ζώα και για τους μέχρι ηλικίας 5 μηνών απογόνους τους (m ²)	Ελάχιστος όγκος ανά πρόσθετο ζώο πέραν των 5 μηνών (m ³)	Ελάχιστο ύψος καταλύματος (m) ⁽²⁾
Μάρμοζετ	0,5	0,2	1,5
Ταμαρίνοι	1,5	0,2	1,5

⁽¹⁾ Τα ζώα διατηρούνται ατομικά μόνο κατ' εξαίρεση.

⁽²⁾ Η κορυφή του καταλύματος βρίσκεται σε ύψος τουλάχιστον 1,8 m από το δάπεδο.

Τα μάρμοζετ και οι ταμαρίνοι δεν πρέπει να απομακρύνονται από τη μητέρα τους πριν από την ηλικία των 8 μηνών.

Συνεχίζεται...

...συνέχεια Πίνακα 5.2

ΣΑΪΜΙΡΙΑ	Ελάχιστο εμβαδό δαπέδου για 1 ⁽¹⁾ ή 2 ζώα (m²)	Ελάχιστος όγκος ανά πρόσθετο ζώο ηλικίας πέραν των 6 μηνών (m³)	Ελάχιστο ύψος καταλύματος (m)	
	2,0	0,5	1,8	
<p>⁽¹⁾ Τα ζώα διατηρούνται ατομικά μόνο κατ' εξαίρεση. Τα σαΐμια δεν πρέπει να απομακρύνονται από τη μητέρα τους πριν από την ηλικία των 6 μηνών.</p>				
ΜΑΚΑΚΟΙ ΚΑΙ ΚΕΡΚΟΠΙΘΗΚΟΙ	Ελάχιστο μέγεθος καταλύματος (m²)	Ελάχιστος όγκος καταλύματος (m³)	Ελάχιστος όγκος ανά ζώο (m³)	Ελάχιστο ύψος καταλύματος (m)
Ηλικία				
κάτω των 3 ετών ⁽¹⁾	2,0	3,6	1,0	1,8
από 3 ετών και άνω ⁽²⁾	2,0	3,6	1,8	1,8
Ζώα που διατηρούνται για αναπαραγωγικούς σκοπούς ⁽³⁾			3,5	2,0
<p>Τα ζώα διατηρούνται ατομικά μόνο κατ' εξαίρεση. Οι μακάκοι και οι κερκοπίθηκοι δεν πρέπει να απομακρύνονται από τη μητέρα τους πριν από την ηλικία των 8 μηνών.</p> <p>⁽¹⁾ Ένα κατάλυμα ελάχιστων διαστάσεων μπορεί να φιλοξενήσει μέχρι 3 ζώα. ⁽²⁾ Ένα κατάλυμα ελάχιστων διαστάσεων μπορεί να φιλοξενήσει μέχρι 2 ζώα. ⁽³⁾ Σε αναπαραγωγικές αποικίες δεν απαιτείται πρόσθετος χώρος/όγκος για τα νεαρά ζώα ηλικίας μέχρι 2 ετών που συζούν με τη μητέρα τους.</p>				
ΜΠΑΜΠΟΥΙΝΟΙ	Ελάχιστο μέγεθος καταλύματος (m²)	Ελάχιστος όγκος καταλύματος (m³)	Ελάχιστος όγκος ανά ζώο (m³)	Ελάχιστο ύψος καταλύματος (m)
Ηλικία				
Ζώα ⁽¹⁾ ηλικίας <4 ετών	4,0	7,2	3,0	1,8
Ζώα ⁽¹⁾ ηλικίας >4 ετών	7,0	1,26	6,0	1,8
Ζώα ⁽²⁾ που διατηρούνται για αναπαραγωγικούς σκοπούς			1,20	2,0
<p>Τα ζώα διατηρούνται ατομικά μόνο κατ' εξαίρεση. ⁽¹⁾ Ένα κατάλυμα ελάχιστων διαστάσεων μπορεί να φιλοξενήσει μέχρι 2 ζώα. ⁽²⁾ Σε αναπαραγωγικές αποικίες δεν απαιτείται πρόσθετος χώρος/όγκος για τα νεαρά ζώα ηλικίας μέχρι 2 ετών που συζούν με τη μητέρα τους. Οι μπαμπούινοι δεν πρέπει να απομακρύνονται από τη μητέρα τους πριν από την ηλικία των 8 μηνών.</p>				

Πίνακας 5.3 Συνθήκες περιβάλλοντος θαλάμων στέγασης ζώων που χρησιμοποιούνται στη βιοϊατρική έρευνα.

	Θερμοκρασία (°C)	Σχετική υγρασία (%)	Αερισμός (ανανεώσεις αέρα / ώρα)	Φωτοπερίοδος (ώρες)
Μυς	20-24	50-60	10-15	12-14
Επίμυς	20-24	60	10-15	12-14
Χάμστερ	20-24	50-60	10-15	12-14
Γέριβιλος	18-26	45-55	15-20	12
Ινδικό χοιρίδιο	18-26	30-70	10-15	12-14
Κουνέλι	15-21	40-60	12-15	14-16 (θηλυκά) 8-10 (αρσενικά)
Σκύλος	15-21	40-60	20-80	
Γάτα	15-21	40-60	20-80	
Χοίρος	10-24	40-60	100-180	
Πρόβατο/Αίγα	10-24	40-60	100-150	
Όρνιθα	15-21	40-60	7/kg	14
Περιστέρι	15-21	60-80		14
Ορτύκι	20-24	40-60		14
Πρωτεύοντα πλην ανθρώπου				
Marmoset	22-28	40-60	9-12	13
Cynomolgus	20-24	50-70	9-12	13
Rhesus monkey	20-24	50-70	9-12	13
Chimpanzees	20-24	50-70	9-12	13

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Baker, B.A., & Morris, G.F. (1980). A new crush-cage with rotating squeeze-back for restraining large primates. *Laboratory Animals*, 14, 113-115. <http://doi.org/10.1258/002367780780942908>
- Conybeare, G. (1980). Effect of quality and quantity of diet on survival and tumour incidence in outbred Swiss mice. *Food and Cosmetics Toxicology*, 18:65-75. [http://doi.org/10.1016/0015-6264\(80\)90013-9](http://doi.org/10.1016/0015-6264(80)90013-9)
- Hessler, J.R. (2011). Laboratory animal facilities and equipment for conventional, barrier and containment housing systems. In J. Hau & S.J. Shapiro (Eds.), *Handbook of laboratory animal science*. 3rd edition. Volume I. Essential Principles and Practices (pp. 145-208). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b10416>
- Höglund, A.U., & Renström, A. (2001). Evaluation of individually ventilated cage systems for laboratory rodents: cage environment and animal health aspects. *Laboratory Animals*, 35, 51-57, <http://doi.org/10.1258/0023677011911372>
- Raynor, T.H., Steinhagen, H., & Hamm, T.E.Jr. (1983). Differences in the microenvironment of a polycarbonate caging system: bedding vs raised wire floors. *Laboratory Animals*, 17, 85-98. <http://doi.org/10.1258/002367783780959330>
- Reeb-Whitaker, C.K., Paigen, B., Beamer, W.G., Bronson, R.T., Churchill, G.A., Schweitzer, I.B., & Myers, D.D. (2001). The impact of reduced frequency of cage changes on the health of mice housed in ventilated cages. *Laboratory Animals*, 35, 58-73. <http://doi.org/10.1258/0023677011911381>
- Sorensen, D. Laboratory Animal Facilities (1994). In P. Svendsen & J. Hau (Eds.), *Handbook of Laboratory Animal Science*. Volume I. Selection and handling of animals in biomedical research (pp. 79-88). CRC Press. ISBN-13: 978-0849343780
- Ανώνυμος (2013). Προεδρικό Διάταγμα 56/2013. «Προσαρμογή της ελληνικής νομοθεσίας στην Οδηγία 2010/63/ΕΕ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 22ας Σεπτεμβρίου 2010 (L 276/33/20.10.2010) “σχετικά με την προστασία των ζώων που χρησιμοποιούνται για επιστημονικούς σκοπούς”». (ΦΕΚ Α' 106/30-4-2013)

Κεφάλαιο 6

Σύνοψη

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται οι βασικές μέθοδοι χορήγησης ουσιών στα ζώα εργαστηρίου, χωρίς να γίνεται εξειδίκευση ανά είδος ζώου.

Προαπαιτούμενη γνώση

Δεν είναι απαραίτητη.

6 ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΟΥΣΙΩΝ

Φάρμακα ή άλλες ουσίες μπορούν να χορηγηθούν στα ζώα εργαστηρίου για θεραπευτικούς, διαγνωστικούς ή άλλους ερευνητικούς σκοπούς. Στο κεφάλαιο αυτό περιγράφονται οι τεχνικές που θα προκαλέσουν τη μικρότερη δυνατή καταπόνηση στα ζώα, εξασφαλίζοντας την ορθή και ασφαλή χορήγηση ουσιών σε αυτά. Η επιλογή της καλύτερης δυνατής οδού χορήγησης μιας ουσίας εξαρτάται από τις φυσικές της ιδιότητες, όπως το pH, το ιξώδες και τη θερμοκρασία, καθώς και τις φαρμακοκινητικές της ιδιότητες (Baumans et al., 1993, Dontas et al., 2011). Μερικές ουσίες είναι ερεθιστικές, λόγω π.χ. του χαμηλού ή υψηλού pH, γι' αυτό θα πρέπει να αραιώνονται σε φυσιολογικό ορό ή water for injection πριν από την έγχυσή τους. Προτιμάται να χορηγούνται ενδοφλέβια, ώστε να διαλύονται άμεσα στο αίμα.

Τα προτεινόμενα μεγέθη βελονών ή καθετήρων και ο όγκος των χορηγούμενων διαλυμάτων για κάθε οδό χορήγησης σε διάφορα είδη ζώων παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.1 (Baumans and Pekow, 2011). Η χορήγηση ουσιών σε μεγάλες ποσότητες προτιμάται να γίνεται ενδοφλέβια (μεγάλα ζώα), ενδοπεριτοναϊκά ή από το στόμα, ανάλογα με το πειραματικό πρωτόκολλο. Η έγχυση γίνεται πάντα αργά, ιδιαίτερα η ενδοφλέβια, για την αποφυγή πόνου και σοκ.

Η ουσία μεταφέρεται από την περιοχή έγχυσης, μέσω της αιματικής κυκλοφορίας, στον ιστό-στόχο. Η ταχύτητα αυτής της διαδικασίας εξαρτάται από την οδό χορήγησης. Η ταχύτερη οδός είναι η ενδοφλέβια, ενώ η βραδύτερη είναι εκείνη από το στόμα.

Για τη χορήγηση ουσιών, είναι απαραίτητη η κατάλληλη συγκράτηση του ζώου ή ηρέμηση ή εφαρμογή τοπικής ή γενικής αναισθησίας, ανάλογα με τη μέθοδο και το είδος ζώου.

Παρακάτω περιγράφονται οι βασικές αρχές χορήγησης ουσιών για κάθε οδό χορήγησης. Στο Ειδικό Μέρος περιγράφονται αναλυτικά οι οδοί χορήγησης ουσιών για κάθε είδος ζώου ξεχωριστά.

6.1. ΟΔΟΙ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΟΥΣΙΩΝ

6.1.1. Χορήγηση από το στόμα (per os, p.o.)

Μια ουσία χορηγούμενη από το στόμα καταλήγει στον γαστρεντερικό σωλήνα. Η πιο απλή μέθοδος χορήγησης από το στόμα είναι εκείνη με την ανάμιξη ή την ενσωμάτωση της ουσίας στην τροφή ή με τη διάλυση ή αραιώσή της (αν πρόκειται για υγρό) στο πόσιμο νερό. Η μέθοδος αυτή δεν εφαρμόζεται για ουσίες με δυσάρεστη γεύση ή για εκείνες που είναι ερεθιστικές για τον γαστρικό βλεννογόνο. Οι ουσίες που διαλύονται στο νερό θα πρέπει να είναι χημικά σταθερές. Η μέθοδος αυτή έχει το πλεονέκτημα της αποφυγής πρόκλησης στρες στο ζώο. Ωστόσο, παρουσιάζει μειονεκτήματα, όπως δυσκολία υπολογισμού της ποσότητας της προσλαμβανόμενης ποσότητας της ουσίας, καθότι θα πρέπει να μετράται η καταναλισκόμενη τροφή ή το νερό. Ειδικά στις περιπτώσεις συστέγασης με άλλα ζώα στο ίδιο κλουβί, η μέτρηση της καταναλισκόμενης τροφής ή/και νερού ανά ζώο δεν είναι δυνατό να γίνει με ακρίβεια, αλλά μόνο κατά προσέγγιση. Επιπλέον, η μέθοδος αυτή είναι δύσκολο να εφαρμοστεί σε πρωτόκολλα όπου προβλέπεται η χορήγηση της ουσίας σε συγκεκριμένο χρονικό σημείο εντός της ημέρας. Εξάλλου, οι ουσίες που χορηγούνται διαλυμένες στο νερό μπορεί να επηρεάσουν την ημερήσια ποσότητα καταναλισκόμενου νερού, ανάλογα με την τροποποίηση που μπορεί να προκαλέσουν στη γεύση του.

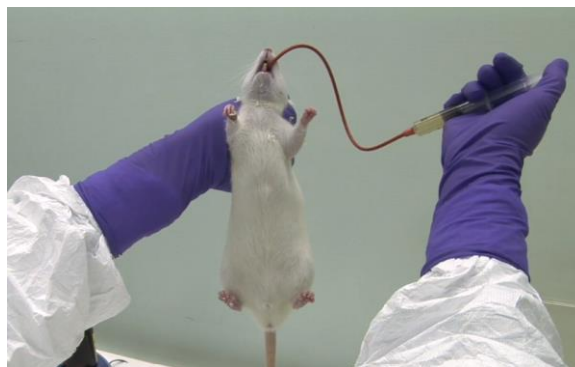
Μια άλλη μέθοδος είναι η χορήγηση της ουσίας απευθείας στο στόμα είτε διαλυμένη είτε σε στερεή μορφή. Αυτό μπορεί να γίνει με τη βοήθεια σύριγγας σε ελεύθερα κινούμενα ζώα μετά από εκπαίδευση, σε ζώα που υφίστανται κατάλληλη συγκράτηση (Εικόνα 6.1) ή με τη βοήθεια κατάλληλου προωθητήρα στερεών ουσιών. Η γεύση και η οσμή της ουσίας μπορεί να προκαλέσουν αντιδραστική συμπεριφορά στο ζώο.



Εικόνα 6.1 Χορήγηση διαλυμένης ουσίας απευθείας στο στόμα του κουνελιού με τη βοήθεια σύριγγας (Bishops Stortford Veterinary Hospital, 2021).

6.1.2. Ενδογαστρική οδός (gavage)

Μια ακριβής μέθοδος χορήγησης μιας ουσίας είναι με την ενδογαστρική οδό. Μπορεί να πραγματοποιηθεί με τη βοήθεια εύκαμπτου στοματογαστρικού καθετήρα (Εικόνα 6.2). Η διάμετρος του καθετήρα ποικίλλει, ανάλογα με το είδος του ζώου (Πίνακας 6.2).

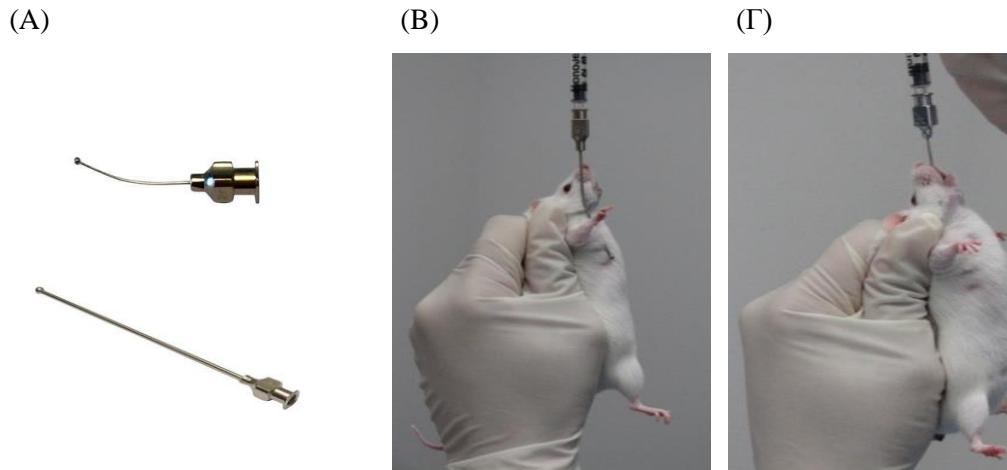


Εικόνα 6.2 Χορήγηση ουσίας με εύκαμπτο στοματογαστρικό καθετήρα στον επίμυ (Anonymous, 2022).

Πίνακας 6.1 Προτεινόμενη διάμετρος στοματογαστρικού καθετήρα σε διάφορα είδη ζώων.

Είδος	Διάμετρος στοματογαστρικού καθετήρα (mm)
Μυς	0,8
Επίμυς	1-2
Ινδικό χοιρίδιο	1,5-2
Κουνέλι / Γάτα	3-5
Σκύλος	5-7

Για μικρόσωμα είδη ζώων εργαστηρίου μπορεί να χρησιμοποιηθεί σύριγγα με ευθεία ή κεκαμμένη βελόνα κατάλληλης διαμέτρου, με αμβλύ ελεύθερο άκρο (Εικόνα 6.3A), η οποία εισάγεται μέσω του στόματος στον στομάχο, μετά από κατάλληλη συγκράτηση του ζώου. Το μήκος της βελόνας που είναι απαραίτητο να εισαχθεί προϋπολογίζεται, με μέτρηση της απόστασης από το ρύγχος έως την τελευταία πλευρά (Εικόνα 6.3B). Ακολουθεί η εισαγωγή της ουσίας, με το ζώο να συγκρατείται σε κατακόρυφη στάση (Εικόνα 6.3Γ). Στις γάτες, τα πρωτεύοντα και τα άλογα είναι προτιμότερο να εισάγεται εύκαμπτος καθετήρας διαμέσου του ενός ρώθωνα (ρινογαστρικός καθετήρας). Η τυχόν εισαγωγή του στην τραχεία αντί του οισοφάγου υποδηλώνεται με εκδήλωση βήχα ή με έξοδο αέρα από το ελεύθερο άκρο του, ταυτόχρονα με την εκπνοή του ζώου.



Εικόνα 6.3 (Α) Τύποι στοματογαστρικού μεταλλικού καθετήρα τρωκτικών. (Β) Μέτρηση του μήκους της βελόνας που είναι απαραίτητο να εισαχθεί. (Γ) Εισαγωγή της βελόνας, με το ζώο να συγκρατείται σε κατακόρυφη στάση.

6.1.3. Ενδοδερμική έγχυση (i.d.)

Είναι απαραίτητο το ξύρισμα της περιοχής πριν από την έγχυση. Συνήθως, εκτελείται στην περιοχή της ράχης με τη βοήθεια βελόνας μικρής διαμέτρου. Η βελόνα εισάγεται με κλίση, σχεδόν παράλληλα με το δέρμα. Η επιτυχής εκτέλεσή της διαπιστώνεται από τη δημιουργία μικρής διόγκωσης στην επιδερμίδα, μετά την έγχυση του υγρού.

6.1.4. Υποδόρια έγχυση (s.c.)

Η έγχυση γίνεται στον υποδόριο ιστό, μετά από έλξη πτυχής του δέρματος, συνήθως στην περιοχή του τραχήλου ή της ράχης. Η απορρόφηση είναι σχετικά αργή.

6.1.5. Ενδομυϊκή έγχυση (i.m.)

Η έγχυση γίνεται βαθιά στη μυϊκή μάζα, συνήθως του μηρού ή του τραχήλου, ανάλογα με το είδος του ζώου. Στα μικρά ζώα εργαστηρίου (τρωκτικά, κόνικλοι) πρέπει να αποφεύγεται το ισχιακό νεύρο. Επίσης, η ενδομυϊκή έγχυση δεν προτείνεται στους μυς, λόγω πρόκλησης πόνου κατά την έγχυση ακόμη και μικρού όγκου υγρού στις μικρές μυϊκές μάζες του μηρού. Πριν από την προώθηση του υγρού προς έγχυση, είναι σημαντικό να εκτελείται αναρρόφηση, για έλεγχο πιθανής τρώσης κάποιου αγγείου. Η απορρόφηση είναι ταχεία.

6.1.6. Ενδοπεριτοναϊκή έγχυση (i.p.)

Η έγχυση γίνεται μέσα στην περιτοναϊκή κοιλότητα, με παρακέντηση στο δεξιό ή αριστερό οπίσθιο τεταρτημόριο της κοιλιακής χώρας, μετά από κατάλληλη συγκράτηση. Προτιμάται το δεξιό τεταρτημόριο, προς αποφυγή τρώσης του παχέος εντέρου. Πριν από την προώθηση του διαλύματος, εκτελείται αναρρόφηση, για έλεγχο πιθανής τρώσης αγγείου ή του εντέρου. Συστήνεται να μην εκτελείται περισσότερες από μία φορές την ημέρα. Η απορρόφηση είναι ταχεία.

6.1.7. Ενδοφλέβια έγχυση (i.v.)

Η έγχυση μπορεί να γίνει σε διάφορες φλέβες, ανάλογα με το είδος του ζώου (βλ. Ειδικό Μέρος). Για επαναλαμβανόμενες εγχύσεις, συστήνεται η τοποθέτηση ενδοφλέβιων καθετήρων. Ανάλογα με το είδος του ζώου, μπορεί να χρειαστεί η προηγούμενη πρόκληση αγγειοδιαστολής, με την τοποθέτηση ισχαιμης περιόδου κεντρικά της φλέβας προς παρακέντηση ή με τοπική θέρμανση της περιοχής, π.χ. της ουράς στον μυ και στον επίμυ. Πριν από την προώθηση της ουσίας, εκτελείται αναρρόφηση, για να επιβεβαιωθεί η εισαγωγή της βελόνας εντός της φλέβας. Η απορρόφηση είναι ταχεία.

6.1.8. Επίθεση ουσίας στο δέρμα (επιδερμικά) ή στον βλεννογόνο

Η μέθοδος αυτή δεν είναι ακριβής, επειδή δεν είναι σταθερός ο ρυθμός και ο βαθμός απορρόφησης της ουσίας. Είναι δυνατό να προκαλέσει ενόχληση στο ζώο, αν η ουσία είναι ερεθιστική.

6.1.9. Χορήγηση από τον πρωκτό

Γίνεται με υπόθετα ή χορήγηση ουσίας σε υγρή μορφή.

6.2. ΕΙΔΙΚΕΣ ΟΔΟΙ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΟΥΣΙΩΝ

6.2.1. Με εισπνοή

Η ουσία χορηγείται υπό μορφή aerosol ή ως ατμοί πτητικής ουσίας, μετά από τοποθέτηση του ζώου σε κατάλληλο αεροστεγές κλουβί. Εναλλακτικά, ανάλογα με το είδος του ζώου, εισάγεται το ρύγχος του ζώου σε ειδικά διαμορφωμένα προσωπίδα, μέσω της οποίας γίνεται εισπνοή της ουσίας (π.χ. για τη χορήγηση εισπνευστικής αναισθητικής ουσίας).

6.2.2. Ενδορινική

Η χορήγηση γίνεται στους ρώθωνες υπό μορφή σταγόνων ή εκνεφώματος.

6.2.3. Ενδοτραχειακή

Η έγχυση γίνεται σε ζώα υπό ενδοτραχειακή διασωλήνωση.

6.2.4. Ενδοπνευμονική

Η έγχυση εκτελείται υπό γενική αναισθησία, μετά από ενδοτραχειακή διασωλήνωση.

6.2.5. Οφθαλμική

Η χορήγηση γίνεται υπό μορφή σταγόνων στο κάτω βλέφαρο.

6.2.6. Κάτω από το βλέφαρο

Αναστρέφεται το άνω βλέφαρο με τη βοήθεια ανατομικής λαβίδας και εισάγεται λεπτή βελόνα κάτω από τον επιπεφυκότα, σε απόσταση 2 mm από το ελεύθερο χείλος του βλεφάρου όπου γίνεται η έγχυση.

6.2.7. Ενδοραχιαία

Η έγχυση γίνεται στον σπονδυλικό σωλήνα (επισκληρίδιο χώρο), στο ύψος μεταξύ του τελευταίου ιερού και του πρώτου κοκκυγικού σπονδύλου. Η μέθοδος εφαρμόζεται συνήθως στα μεγάλα ζώα.

6.2.8. Ενδοκρανιακή

Η έγχυση εκτελείται υπό γενική αναισθησία.

6.2.9. Ενδοκαρδιακή

Η έγχυση εκτελείται υπό γενική αναισθησία.

6.2.10. Ενδομαστική

Η έγχυση γίνεται στον εκφορητικό πόρο του μαστικού αδένου που εκβάλλει στη θηλή του μαστού.

6.2.11. Ενδοκολπική

Γίνεται επάλειψη αλοιφών ή εισαγωγή υποθέτων.

6.2.12. Ενδομητρική

Η έγχυση γίνεται στην κοιλότητα της μήτρας, διαμέσου συνήθως του τραχήλου, με τη βοήθεια κατάλληλων καθετήρων.

Πίνακας 6.2 Προτεινόμενα μεγέθη βελόνων/καθετήρων και όγκου χορηγούμενων ουσιών ανά οδό χορήγησης σε διάφορα είδη ζώων (Baumans and Pekow, 2011).

Είδος	Υποδόρια		Ενδοπεριτοναϊκή		Ενδομυϊκή		Ενδοφλέβια		Από του στόματος		
	Διάμετρος βελόνας (G)	Όγκος (mL)	Διάμετρος βελόνας (G)	Όγκος (mL)	Διάμετρος βελόνας (G)	Όγκος (mL)	Διάμετρος βελόνας (G)	Όγκος (mL)	Όγκος με αργή έγχυση (mL)	Διάμετρος βελόνας ή σωλήνα	Όγκος
Μυς 25 g	26	0,25	25	0,5	27	0,05	26	0,2	0,3 (mL/kg)	20	0,25
Επίμυς 200 g	25	1	25	2,0	25	0,1	25	1	4 (20 mL/kg)	18	1
Χάμστερ 30 g	26	0,5	25	1	26	0,05	27	0,3	0,5	20	0,5
Ινδικό χοιρίδιο 200 g	25	1	25	2	25	0,1	26	1	4	18	1
Κουνέλι 4 kg	23	4	23	20	25	1	23	5	40 (10 mL/kg)	13	7,55
Χοίρος 25 kg	22	25	20	25	23	6,25	23	62,5	125 (5 mL/kg)	22	150

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Anonymous (2022). Research animal training. Oral gavage in the rat. (2021). <https://researchanimaltraining.com/articles/oral-gavage-in-the-rat/>
- Baumans, V., Den Berg, R.G.M., Bertens, A.P.M.G., Hackbarth, H.J., & Timmerman, A. (1993). Experimental procedures. In L.F.M. van Zutphen, V. Baumans, & A.C. Beyen (Eds.), *Principles of Laboratory Animal Science. A contribution to the humane use and care of animals and to the quality of experimental results* (pp. 299-318). Elsevier. ISBN-13: 978-0444812704
- Baumans, V., & Pekow, C. Common nonsurgical techniques and procedures. In J. Hau & S.J. Shapiro (Eds.), *Handbook of laboratory animal science*. 3rd edition. Volume I. Essential Principles and Practices (pp. 401-446). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b10416>
- Bishops Stortford Veterinary Hospital. Giving medicines to your rabbit. <https://www.stortvet.com/giving-medicines-to-your-rabbit/>
- Dontas, I., Hau, J., Marinou, K., & Nevalainen, T. Basic procedures: dosing, sampling and immunisation. In J. Hau & S.J. Shapiro (Eds.), *Handbook of laboratory animal science*. 3rd edition. Volume I. Essential Principles and Practices (pp. 257-286). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b10416>

Κεφάλαιο 7

Σύνοψη

Στο κεφάλαιο παρουσιάζονται οι βασικές αρχές συλλογής σωματικών υγρών. Η συλλογή σωματικών υγρών περιλαμβάνει την αιμοληψία (παρακέντηση φλέβας, αρτηρίας, αγγείων οφθαλμικού κόγχου, καρδιάς, αιμοληψία από την ουρά, καθετηριασμός φλέβας ή αρτηρίας και αφαιμάζηση), τη συλλογή κοπράνων και ούρων (μεταβολικά κλουβιά, καθετηριασμός και παρακέντηση ουροδόχου κύστης) και άλλων σωματικών υγρών.

Προαπαιτούμενη γνώση

Δεν είναι απαραίτητη.

7 ΣΥΛΛΟΓΗ ΣΩΜΑΤΙΚΩΝ ΥΓΡΩΝ

7.1. ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ

Δείγματα αίματος μπορούν να συλλεχθούν από διάφορα σημεία του σώματος, όπως τις φλέβες, τις αρτηρίες, τα αγγεία του οφθαλμικού κόγχου, απευθείας από την καρδιά, από την ουρά ή μετά από αποκεφαλισμό. Η επιλογή της μεθόδου αιμοληψίας εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως τον σκοπό της αιμοληψίας, την ανάγκη λήψης φλεβικού ή αρτηριακού αίματος, τη συχνότητα της αιμοληψίας και το αν προβλέπεται ή όχι η επιβίωση του ζώου μετά την αιμοληψία. Στα μικρόσωμα ζώα εργαστηρίου συχνά εφαρμόζεται αναισθησία, για επίτευξη της καλύτερης δυνατής ακινητοποίησης και τη μείωση του πόνου και της ταλαιπωρίας. Στις τεχνικές αιμοληψίας από μη αναισθητοποιημένα ζώα, θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη το προκαλούμενο στρες, το οποίο μπορεί να επηρεάσει διάφορες υπό μελέτη παραμέτρους.

Στις περιπτώσεις που απαιτούνται επανειλημμένες αιμοληψίες, συνιστάται η τοποθέτηση ενδοφλέβιων ή ενδοαρτηριακών καθετήρων, ενώ σε εκείνες όπου απαιτείται λήψη μεγάλης ποσότητας αίματος εκτελείται αφαιμάζηση (Baumans et al., 2011).

7.1.1. Μέγιστος επιτρεπόμενος όγκος αίματος που συλλέγεται

Ο συνολικός όγκος αίματος ενός ζώου ανέρχεται περίπου στο 8% του σωματικού του βάρους (ΣΒ). Ο όγκος αίματος που μπορεί να συλλεχθεί χωρίς δυσμενείς επιπτώσεις για την υγεία του ζώου, π.χ. υποογκαιμικό σοκ, δεν υπερβαίνει το 10% του συνολικού όγκου αίματος του ζώου ή αλλιώς 8 mL αίματος / kg ΣΒ. Η αιμοληψία συστήνεται να γίνεται σε μεσοδιαστήματα όχι μικρότερα των 2 εβδομάδων (Diehl et al., 2001).

7.1.2. Παρακέντηση φλέβας

Η παρακέντηση των φλεβών προτιμάται για αιμοληψία, λόγω του ότι βρίσκονται επιφανειακά, κοντά στο δέρμα και μπορούν εύκολα να διαταθούν με πίεσή τους κεντρικά. Οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες φλέβες είναι η σφαγιτιδα φλέβα, η μηριαία φλέβα, η κεφαλική φλέβα (στη ραχιαία πλευρά του πρόσθιου άκρου), η σαφηνής φλέβα (στην πλάγια πλευρά του οπίσθιου άκρου), οι περιφερικές ωτιαίες φλέβες (κουνέλια), η πλάγια ουραία ή κοκκυγική φλέβα (μύες, επίμυες) και η προσωπική φλέβα (μύες).

Για τις διαδερμικές αιμοληψίες, αρχικά κουρεύεται ή ξυρίζεται η περιοχή παρακέντησης και ακολουθεί τοπική αντισηψία. Στη συνέχεια, προκαλείται αγγειοδιαστολή με πίεση της φλέβας κεντρικά ή με τοποθέτηση ίσχαμης περίδεσης κεντρικά, αν πρόκειται για λήψη από άκρο. Η βελόνα διαπερνά το δέρμα και εισάγεται υπό γωνία στη φλέβα, με στραμμένη την οπή της προς τα επάνω. Μόλις εισαχθεί η βελόνα στη φλέβα, προωθείται παράλληλα προς το δέρμα.

Για την αιμοληψία, μπορεί να χρησιμοποιηθεί κοινή σύριγγα, πεταλούδα, φλεβοκαθετήρας, γυάλινο ή πλαστικό σωληνάριο υπό κενό (vacutainer), στο οποίο προσαρμόζεται βελόνα, ή τριχοειδικό σωληνάριο. Άλλες φορές συλλέγεται το αίμα στάγδην. Ανάλογα με τον σκοπό της αιμοληψίας, μπορεί το σωληνάριο αιμοληψίας να περιέχει ή όχι αντιπηκτική ουσία:

1. Δεν περιέχει αντιπηκτική ουσία: για δείγματα στα οποία πρόκειται να ληφθεί ορός μετά από φυγοκέντρηση.
2. Περιέχει αντιπηκτική ουσία: ηπαρινικό Li (προτιμάται σε βιοχημικές αναλύσεις), potassium EDTA (προτιμάται σε αιματολογικές αναλύσεις), oxalate/fluoride (προτιμάται σε προσδιορισμό της συγκέντρωσης της γλυκόζης).

Μετά την αιμοληψία, ασκείται ήπια πίεση στο σημείο παρακέντησης για 30-60 sec, προκειμένου να προκληθεί αιμόσταση.

Άλλες διαδικασίες ακολουθούνται ανάλογα με την περίπτωση (π.χ. αιμοληψία από την προσωπική φλέβα στον μυ), οι οποίες θα περιγραφούν αναλυτικά στο Ειδικό Μέρος.

7.1.3. Παρακέντηση αρτηρίας

Η μέθοδος εφαρμόζεται στις περιπτώσεις όπου επιθυμείται η λήψη οξυγονωμένου αίματος, αλλά και στις υπόλοιπες περιπτώσεις. Χρησιμοποιούνται η μηριαία αρτηρία, η καρωτίδα, η μέση ωτιαία αρτηρία (κουνέλι) ή η κοκκυγική αρτηρία (μυς, επίμυς).

7.1.4. Παρακέντηση αγγείων του οφθαλμικού κόγχου

Η μέθοδος εφαρμόζεται στα μικρόσωμα τρωκτικά. Το ζώο αναισθητοποιείται και στη συνέχεια μια αποστειρωμένη γυάλινη πιπέτα Pasteur τοποθετείται στον έσω ή έξω κανθό του οφθαλμού και προωθείται ήπια με κυκλικές κινήσεις προς το οπισθοβολβικό πλέγμα, μέχρι να αιμορραγήσει (Εικόνα 7.1). Το αίμα αναρροφάται στην πιπέτα με βάση το τριχοειδικό φαινόμενο. Επιπλοκές που μπορεί να παρουσιαστούν είναι αιμορραγία, φλεγμονή ή ακόμη και τύφλωση.



Εικόνα 7.1 Αιμοληψία με παρακέντηση των αγγείων του οφθαλμικού κόγχου στον μυ (Hoff, 2000).

7.1.5. Καρδιακή παρακέντηση

Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, συλλέγεται αίμα απευθείας από την καρδιά αναισθητοποιημένων ζώων. Η μέθοδος προτιμάται να εφαρμόζεται στα μικρόσωμα ζώα εργαστηρίου ή στα πτηνά. Υπάρχει κίνδυνος πρόκλησης αιμοπερικαρδίου, γι' αυτό εφαρμόζεται στις περιπτώσεις όπου δεν επιθυμείται η παραπέρα επιβίωση του ζώου.

7.1.6. Αιμοληψία από την ουρά

Στα μικρόσωμα τρωκτικά η λήψη μικρών ποσοτήτων αίματος μπορεί να γίνει μετά από αποκοπή του άκρου της ουράς τους. Στη συνέχεια, ασκείται τοπικά πίεση μέχρι τη διακοπή της αιμορραγίας. Η μέθοδος εφαρμόζεται με ή χωρίς γενική αναισθησία.

Μπορεί να παρακεντηθεί μία πλάγια κοκκυγική φλέβα (Εικόνα 7.2) ή η κοκκυγική αρτηρία του μυός και του επίμυος. Το ζώο είτε τελεί υπό γενική αναισθησία είτε τοποθετείται σε ειδική συσκευή συγκράτησης (Εικόνα 7.3). Τα αγγεία διαστέλλονται, αφού προηγουμένως προθερμανθεί ολόκληρο το ζώο ή μόνο η ουρά, με εμβάπτισή της σε νερό 38 °C ή με τρίψιμο αυτής με αλκοολούχο διάλυμα.



Εικόνα 7.2 Αιμοληψία από την πλάγια κοκκυγική φλέβα στον επίμυ (Anonymous, 2021).



Εικόνα 7.3. Συσκευές συγκράτησης τρωκτικών για αιμοληψία.

7.1.7. Καθετηριασμός φλέβας ή αρτηρίας

Για τακτικές αιμοληψίες, μπορεί να τοποθετηθεί καθετήρας σε μία φλέβα ή αρτηρία, ανάλογα με την περίπτωση. Προτιμάται ο καθετηριασμός της πρόσθιας κοίλης φλέβας, διαμέσου της σφαγίτιδας φλέβας, ή της οπίσθιας κοίλης φλέβας, διαμέσου της μηριαίας φλέβας. Στο κουνέλι μπορεί να καθετηριαστεί η μέση ωτιαία αρτηρία (Εικόνα 7.4) ή μία περιφερική ωτιαία φλέβα. Στα μικρόσωμα τρωκτικά το ελεύθερο άκρο του καθετήρα προωθείται υποδόρια και εκβάλλει στην κορυφή της κεφαλής τους, όπου σταθεροποιείται.



Εικόνα 7.4 Καθετηριασμός της μέσης ωτιαίας αρτηρίας του κουνελιού.

7.1.8. Αφαίμαξη

Η μέθοδος εφαρμόζεται στις περιπτώσεις όπου επιθυμείται συλλογή μεγάλων ποσοτήτων αίματος. Μπορούν να ληφθούν περίπου 30 mL αίματος / kg ΣΒ ή μέχρι το 50% του συνολικού όγκου αίματος. Η αφαίμαξη πραγματοποιείται υπό γενική αναισθησία, μετά από αποκεφαλισμό του ζώου ή με παρακέντηση της καρδιάς ή μεγάλων αγγείων, όπως της αορτής και της οπίσθιας κοίλης φλέβας, μετά από λαπαροτομή, ή από την οφθαλμική αρτηρία, μετά από εξαίρεση του οφθαλμικού βολβού (σε μικρά τρωκτικά).

7.2. ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΟΠΡΑΝΩΝ ΚΑΙ ΟΥΡΩΝ

7.2.1. Μεταβολικά κλουβιά

Για τη συλλογή του συνόλου των κοπράνων και ούρων μικρόσωμων ζώων εργαστηρίου, αυτά τοποθετούνται ατομικά σε ειδικά σχεδιασμένα μεταβολικά κλουβιά, τα οποία φέρουν σχαρωτό δάπεδο πάνω από χοάνη, προκειμένου να διαχωρίζονται τα κόπρανα από τα ούρα (Εικόνα 7.5).



Εικόνα 7.5 Μεταβολικό κλουβί τρωκτικών.

7.2.2. Καθετηριασμός της ουροδόχου κύστης

Για την άσηπτη λήψη ούρων, μπορεί να καθετηριαστεί η ουροδόχος κύστη με εισαγωγή εύκαμπτου καθετήρα διαμέσου της ουρήθρας.

7.2.3. Παρακέντηση της ουροδόχου κύστης

Για την άσηπτη λήψη ούρων, μπορεί να παρακεντηθεί διαδερμικά η ουροδόχος κύστη. Προηγουμένως, ξυρίζεται και εκτελείται αντισηψία της περιοχής παρακέντησης.

7.2.4. Άλλες μέθοδοι

Οι μύες και οι επίμυες συνήθως ουρούν και αφοδεύουν μόλις συλληφθούν, οπότε και δίνεται η ευκαιρία συλλογής ούρων και κοπράνων. Εναλλακτικά, ούρα μπορούν να συλλεχθούν από μικρά τρωκτικά με τοποθέτησή τους ατομικά σε κλουβιά, των οποίων το δάπεδο είναι καλυμμένο με πλαστικό φιλμ, μέχρι να αποβάλουν ούρα, τα οποία στη συνέχεια αναρροφώνται με σύριγγα (Dontas et al., 2011).

7.3. ΣΥΛΛΟΓΗ ΑΛΛΩΝ ΣΩΜΑΤΙΚΩΝ ΥΓΡΩΝ

Αν χρειαστεί, συλλέγονται, με κατάλληλες τεχνικές, εγκεφαλονωτιαίο υγρό, χολή, λέμφος, ασκитικό υγρό ή άλλα σωματικά υγρά (π.χ. σπέρμα).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Baumans, V., & Pekow, C. (2011). Common nonsurgical techniques and procedures. In J. Hau & S.J. Shapiro (Eds.), *Handbook of laboratory animal science*. 3rd edition. Volume I. Essential Principles and Practices (pp. 401-446). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b10416>
- Diehl, K.H., Hull, R., Morton, D., Pfister, R., Rabemampianina, Y., Smith, D., Vidal, J.M., & Van de Vorstenbosch, C. (2001). 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. *Journal of Applied Toxicology*, 21, 15-23. <http://doi.org/10.1002/jat.727>
- Dontas, I., Hau, J., Marinou, K., & Nevalainen, T. (2011). Basic procedures: dosing, sampling and immunisation. In B. Howard, T. Nevalainen, & G. Perretta (Eds.), *The COST manual of laboratory animal care and use. Refinement, Reduction and Research* (pp. 257-286). CRC Press. ISSN: 978-1-4398-2492-4

Κεφάλαιο 8

Σύνοψη

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται οι βασικές αρχές της αναισθησίας που εφαρμόζεται στα ζώα εργαστηρίου. Δίνονται γενικές πληροφορίες για την τοπική και τη γενική αναισθησία, χωρίς να εξειδικεύονται ανά είδος ζώου.

Προαπαιτούμενη γνώση

Γενικές γνώσεις φυσιολογίας και φαρμακολογίας.

8 ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ

8.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι πειραματισμοί στα ζώα μπορεί να προκαλέσουν ταλαιπωρία και πόνο που, τόσο για ηθικούς όσο και για επιστημονικούς λόγους, θα πρέπει να ελαχιστοποιούνται ή να εξαφανίζονται. Η αναισθησία επιδιώκεται να είναι μια αναστρέψιμη και ελεγχόμενη κατάσταση, που αποτρέπει τη μετάδοση ερεθισμάτων πόνου από το κεντρικό νευρικό σύστημα. Οι επιστημονικοί λόγοι εφαρμογής αναισθησίας σχετίζονται με τις φυσιολογικές αντιδράσεις του ζώου στο αίσθημα του πόνου και την επίδρασή τους στη λειτουργία των συστημάτων του οργανισμού. Η μείωση ή η εξαφάνιση του πόνου μειώνει το μέγεθος της επίδρασης αυτής, αυξάνοντας παράλληλα την αξία των αποτελεσμάτων.

Ωστόσο, ακόμη και οι ίδιες οι αναισθητικές ουσίες μπορεί να επηρεάσουν τη λειτουργία των συστημάτων του οργανισμού, γι' αυτό θα πρέπει να επιλέγονται με προσοχή. Τα κριτήρια για την επιλογή μιας αναισθητικής ουσίας είναι τα παρακάτω (Wolfensohn and Lloyd, 1994):

1. Εξασφάλιση επαρκούς ακινητοποίησης του ζώου.
2. Εξασφάλιση επαρκούς αναλγησίας.
3. Εξασφάλιση ικανοποιητικού βαθμού μυοχάλασης.
4. Ευκολία χορήγησης.
5. Διατήρηση σταθερών των φυσιολογικών παραμέτρων του ζώου.
6. Σταθερή και επαναλήψιμη επίδραση στον οργανισμό του ζώου.
7. Ελάχιστες δυνατές παρενέργειες.
8. Μεγάλο περιθώριο ασφάλειας.
9. Επιστροφή του ζώου στην αρχική του κατάσταση, μετά το πέρας της δράσης της.
10. Απουσία παρέμβασης στα αποτελέσματα του πειραματισμού.

Για την επιλογή της κατάλληλης αναισθητικής μεθόδου, θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη το είδος, η φυλή, το φύλο και η φυσική κατάσταση του ζώου, η διάρκεια, το σημείο και ο σκοπός του πειραματισμού, ο προορισμός του ζώου μετά τον πειραματισμό και ο διαθέσιμος αναισθητικός εξοπλισμός.

Ανεξάρτητα από την αναισθητική ουσία ή τη μέθοδο που θα επιλεγεί, είναι απαραίτητο να τηρούνται τα παρακάτω, για την εξασφάλιση επιτυχούς αναισθησίας:

1. Εφαρμογή κατάλληλης διάρκειας προαναισθητικής στέρησης τροφής και νερού (όπου απαιτείται).
2. Ήπιοι χειρισμοί του ζώου, ιδιαίτερα κατά την εγκατάσταση της αναισθησίας.
3. Διατήρηση ανοικτής της αεροφόρου οδού και αποτροπή της υποξίας.
4. Αποτροπή εκδήλωσης υποθερμίας.
5. Συνεχής παρακολούθηση του ζώου κατά τη διάρκεια της αναισθησίας καθώς και κατά τη διάρκεια της ανάνηψης.

8.2. ΕΙΔΗ ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑΣ

Η αναισθησία μπορεί να εφαρμοστεί με τη χορήγηση ουσιών που προκαλούν είτε αναισθητοποίηση συγκεκριμένων τμημάτων του σώματος (τοπική αναισθησία) είτε απώλεια της συνείδησης (γενική αναισθησία).

8.2.1. Τοπική αναισθησία

Με την εφαρμογή τοπικής αναισθησίας, αναισθητοποιείται μέρος μόνο του σώματος, ενώ το ζώο διατηρεί τη συνείδησή του. Τα τοπικά αναισθητικά μπορούν να χορηγηθούν με διάφορους τρόπους, προκαλώντας ποικίλου βαθμού αναισθησία (Flecknell, 2015):

1. Τελική αναισθησία
 1. Αναισθησία επιφάνειας: Γίνεται επίθεση τοπικού αναισθητικού υπό μορφή gel ή spray στον βλεννογόνο ή υπό μορφή κρέμας στο δέρμα (εφαρμόζεται σε μικρές επεμβάσεις, π.χ. για καθετηριασμό της ουρήθρας ή τοποθέτηση φλεβοκαθετήρων).
 2. Αναισθησία με διήθηση: Γίνεται τοπική έγχυση αναισθητικού, προκειμένου να αναισθητοποιηθούν βαθύτεροι ιστοί (εφαρμόζεται σε μικρές χειρουργικές επεμβάσεις, π.χ. βιοψία δέρματος).
 3. Ενδοφλέβια αναισθησία: Μετά από ίσχαιμη περίδεση ενός άκρου, γίνεται έγχυση τοπικού αναισθητικού σε προσιτή επιφανειακή φλέβα, περιφερικά της περιδέσης.
2. Περιφερική αναισθησία

Εγχύεται τοπικό αναισθητικό στην πορεία ενός νεύρου που νευρώνει μια συγκεκριμένη περιοχή του σώματος, αναισθητοποιώντας έτσι την αντίστοιχη περιοχή. Σε αυτήν περιλαμβάνονται:

 1. Αναισθησία κεφαλής.
 2. Περιφερική αναισθησία άκρων.
 3. Παραρραχιαία αναισθησία: Αφορά τα νωτιαία νεύρα.
3. Ραχιαία αναισθησία

Εγχύεται τοπικό αναισθητικό στον υπαραχνοειδή (*υπαραχνοειδής αναισθησία*) ή στον επισκληρίδιο χώρο (*επισκληρίδια αναισθησία*) του σπονδυλικού σωλήνα. Οι τοπικές αναισθητικές ουσίες που χρησιμοποιούνται συνήθως είναι η ξυλοκαΐνη, η προκαΐνη (νοβοκαΐνη), η μπουπιβακαΐνη και η πριλοκαΐνη.

8.2.2. Γενική αναισθησία

Η γενική αναισθησία χαρακτηρίζεται από αναλγησία, απώλεια συνείδησης, καταστολή των αντανακλαστικών και χάλαση των σκελετικών μυών. Μπορεί να εφαρμοστεί με τη χορήγηση μίας ουσίας ή συνδυασμού ουσιών.

8.2.2.1. Προετοιμασία του ζώου

Της γενικής αναισθησίας προηγείται προετοιμασία του ζώου, που περιλαμβάνει τη διενέργεια κλινικής εξέτασης και εργαστηριακού ελέγχου, νηστεία (αν απαιτείται) και προνάρκωση.

Η κλινική εξέταση και ο εργαστηριακός έλεγχος γίνονται προκειμένου να εκτιμηθεί η κατάσταση της υγείας του ζώου και να επιλεγθεί το κατάλληλο αναισθητικό σχήμα. Κατά την εγκατάσταση της αναισθησίας ή την ανάνηψη, ορισμένα είδη ζώων κάνουν έμετο, με κίνδυνο εισρόφησης, γι' αυτό συστήνεται η στέρηση τροφής ή και νερού για 12-16 ώρες (σκύλος, γάτα, χοίρος, πρωτεύοντα). Για τα μικρόσωμα τρωκτικά και τα κουνέλια δεν κρίνεται απαραίτητη.

Η προνάρκωση γίνεται για τους παρακάτω λόγους:

1. Μειώνεται ο φόβος και η ανησυχία του ζώου.
2. Μειώνεται η δόση της αναισθητικής ουσίας.
3. Γίνεται ηπιότερη η ανάνηψη από την αναισθησία.
4. Ελαττώνονται οι εκκρίσεις του ζώου.
5. Μειώνεται ο μετεγχειρητικός πόνος.

Οι προναρκωτικές ουσίες χωρίζονται στις παρακάτω βασικές κατηγορίες:

1. Αντιχολινεργικές ουσίες: Συνήθως χρησιμοποιείται η ατροπίνη, που μειώνει τη σιελόρροια και τις βρογχικές εκκρίσεις, ενώ προλαμβάνει τη βραδυκαρδία.
2. Αναλγητικά: Μορφίνη, πεθιδίνη, μεθαδόνη κ.λπ.

3. Ηρεμιστικά: Είναι χρήσιμα για την ηρέμηση του ζώου και τη δραστική μείωση της δόσης της αναισθητικής ουσίας. Τα κυριότερα είναι:
 1. Φαινοθειαζίνες (προμαζίνη, ακετυλοπρομαζίνη, χλωροπρομαζίνη, προπιονυλική προμαζίνη κ.λπ.)
 2. Βουτυροφαινόλες (φλουαζιόνη κ.λπ.)
 3. Βενζοδιαζεπίνες (διαζεπάμη, μιδαζολάμη κ.λπ.)
 4. Ξυλαζίνη
 5. Μεδετομιδίνη/Δεξμεδετομιδίνη
 6. Ναρκωτικά αναλγητικά.

8.2.2.2. Εγκατάσταση και διατήρηση της αναισθησίας

Η γενική αναισθησία μπορεί να εγκατασταθεί με ενδοφλέβια, ενδομυϊκή ή ενδοπεριτοναϊκή έγχυση μίας ή περισσότερων γενικών αναισθητικών ουσιών ή με την εισπνοή εισπνευστικών αναισθητικών ουσιών. Στα μικρόσωμα ζώα ($\Sigma B < 1$ kg) η εγκατάσταση με εισπνευστικά αναισθητικά μπορεί να πραγματοποιηθεί με τοποθέτηση του ζώου σε ειδικό γυάλινο ή πλαστικό θάλαμο, όπου διοχετεύεται αέριο αναισθητικό. Στα μεγάλα ζώα δεν συνιστάται η εγκατάσταση γενικής αναισθησίας με χορήγηση εισπνευστικών ουσιών, λόγω των έντονων αντιδράσεων του ζώου.

Η διατήρηση της γενικής αναισθησίας γίνεται με την κατά διαστήματα, τη στάγδην ή τη συνεχή έγχυση ενέσιμων αναισθητικών ή με τη συνεχή χορήγηση εισπνευστικών αναισθητικών. Τα εισπνευστικά αναισθητικά γενικά έχουν το πλεονέκτημα ότι επιτρέπουν τον εύκολο έλεγχο του βάθους της αναισθησίας, γεγονός που τα κάνει πιο ασφαλή στη χρήση τους. Ακόμη, η ανάνηψη μετά την παύση της χορήγησής τους είναι γρήγορη. Για τους παραπάνω λόγους, τα εισπνευστικά είναι τα αναισθητικά εκλογής για τη διατήρηση της γενικής αναισθησίας.

8.2.2.3. Οδοί χορήγησης των γενικών αναισθητικών

Τα γενικά αναισθητικά μπορούν να χορηγηθούν με τους παρακάτω τρόπους:

1. Από την αεροφόρο οδό.
2. Ενδοφλέβια.
3. Ενδομυϊκά
4. Ενδοπεριτοναϊκά.

8.2.2.4. Αναισθητικές ουσίες

Οι αναισθητικές ουσίες χωρίζονται σε α) ενέσιμες και β) εισπνευστικές (Hedenqvist and Flecknell, 2011).

α. Ενέσιμες αναισθητικές ουσίες

Κεταμίνη-Μεδετομιδίνη

Η κεταμίνη είναι διαχωριστική κυκλοξαμίνη. Προκαλεί καλή αναλγησία στα πρωτεύοντα πλην ανθρώπου, αλλά έχει μικρή αναλγητική δράση στα κουνέλια και τα τρωκτικά, στα οποία προκαλεί ηρέμηση και ακινητοποίηση, αλλά ανεπαρκή αναλγησία για χειρουργικές επεμβάσεις. Μερικές από τις παρενέργειές της είναι η σιελόρροια, η αύξηση του μυϊκού τόνου και οι αυτόματες κινήσεις. Συνδυάζεται με τη μεδετομιδίνη (α_2 αδρενεργικός αγωνιστής), η οποία βελτιώνει την αναλγησία και τη μυοχάλαση. Ο συνδυασμός τους μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε επεμβατικές διαδικασίες μικρής έως μέσης διάρκειας σε πολλά είδη, συμπεριλαμβανομένων των κουνελιών και των επιμύων.

Κεταμίνη-Ακετυλοπρομαζίνη

Ο συνδυασμός τους προκαλεί χειρουργική αναισθησία στα κουνέλια, αλλά μπορεί να μην έχει το ίδιο αποτέλεσμα στα τρωκτικά.

Κεταμίνη-Ξυλαζίνη

Η κεταμίνη μπορεί να συνδυαστεί με την ξυλαζίνη (α_1 - α_2 αδρενεργικός αγωνιστής), για την πρόκληση χειρουργικής αναισθησίας στα κουνέλια και τα τρωκτικά. Στους μύς έχει αμφιλεγόμενα αποτελέσματα, γι' αυτό μερικοί ερευνητές προτείνουν την προσθήκη ακετυλοπρομαζίνης στο αναισθητικό σχήμα. Στις παρενέργειες της κεταμίνης-ξυλαζίνης περιλαμβάνονται η υπόταση, η μείωση της καρδιακής παροχής, το αναστρέψιμο οίδημα του κερατοειδούς και η υποξία.

Φεντανύλη-Φλουανιζόνη-Μιδαζολάμη

Η χορήγηση του συνδυασμού του αγωνιστή οπιοειδών φεντανύλη και των ηρεμιστικών φλουανιζόνη και μιδαζολάμη είναι ίσως το πιο ασφαλές εναλλακτικό σχήμα αντί της κεταμίνης-μεδετομιδίνης, για την πρόκληση χειρουργικής αναισθησίας σε τρωκτικά και κουνέλια. Μπορεί να χορηγηθεί υποδόρια ή ενδοπεριτοναϊκά. Για να μειωθεί ο χρόνος ανάνηψης, η επίδραση της φεντανύλης μπορεί να αντιστραφεί, με τη χορήγηση ενός μεικτού αγωνιστή/ανταγωνιστή των οπιοειδών, όπως η βουτορφανόλη ή η μπουπρενορφίνη, ενώ διατηρείται η αναλγητική δράση του σχήματος.

Προποφόλη

Η προποφόλη είναι μια αλκυλοφαινόλη, η οποία χορηγείται ενδοφλεβίως. Η διατήρηση της αναισθησίας απαιτεί επαναλαμβανόμενη ή συνεχή ενδοφλέβια χορήγηση. Υφίσταται ταχύ μεταβολισμό στο ήπαρ, γεγονός που επιτρέπει την ταχεία ανάνηψη του ζώου. Προτείνεται να συνδυάζεται με ένα οπιοειδές, για την επίτευξη ικανοποιητικών επιπέδων αναλγησίας. Σε αυτήν την περίπτωση, συνιστάται η μηχανική υποστήριξη της αναπνοής, μετά από ενδοτραχειακή διασωλήνωση, λόγω του ενδεχομένου πρόκλησης καταστολής του αναπνευστικού κέντρου.

Βαρβιτουρικά

Βαρβιτουρικά υπερ-βραχείας δράσης, όπως η θειοπεντάλη, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εγκατάσταση της αναισθησίας με ενδοφλέβια χορήγηση και τη διατήρησή της στη συνέχεια με εισπνευστικά αναισθητικά. Το μεσαίας δράσης βαρβιτουρικό πεντοβαρβιτάλη, όταν χορηγείται ενδοπεριτοναϊκά στα τρωκτικά, προκαλεί απώλεια συνείδησης, όχι όμως χειρουργική αναισθησία. Η δόση που προκαλεί χειρουργική αναισθησία βρίσκεται κοντά στη θανατηφόρο δόση και προκαλεί καταστολή του αναπνευστικού και καρδιαγγειακού κέντρου. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε πειράματα στα οποία δεν επιθυμείται η επιβίωση του ζώου, με χορήγησή της ενδοφλεβίως και σε συνδυασμό με έναν οπιοειδή αγωνιστή, για να επιτευχθεί καλή αναλγησία. Είναι απαραίτητη η μηχανική υποστήριξη της αναπνοής, επειδή μπορεί να προκαλέσει καταστολή του αναπνευστικού κέντρου. Το μακράς δράσης βαρβιτουρικό θειοβουταρβιτάλη μπορεί να χορηγηθεί ενδοπεριτοναϊκά στα τρωκτικά, για την πρόκληση αναισθησίας μεγάλης διάρκειας.

β. Εισπνευστικές αναισθητικές ουσίες

Αν και πολλές ουσίες έχουν χρησιμοποιηθεί για την αναισθησία των ζώων εργαστηρίου, μερικές από αυτές (μεθοξυφλουράνιο, αλοθάνιο) δεν είναι πλέον διαθέσιμες στην Ευρώπη. Το δεσφλουράνιο χρησιμοποιείται στην Ιατρική, αλλά σπάνια στην πειραματική έρευνα. Οι δύο ουσίες που συστήνονται για χρήση είναι το ισοφλουράνιο και το σεβοφλουράνιο.

Ισοφλουράνιο

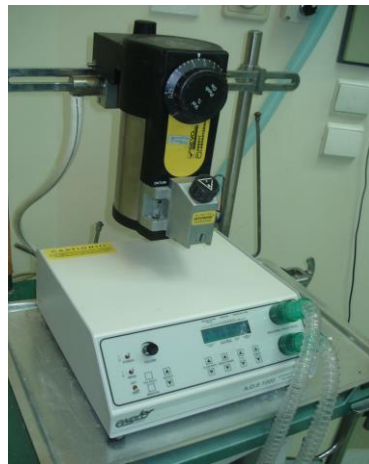
Είναι ισχυρό αναισθητικό, το οποίο προκαλεί ασφαλή και αποτελεσματική αναισθησία με ταχεία εγκατάσταση και ανάνηψη. Όπως όλες οι πτητικές ουσίες, καταστέλλει το αναπνευστικό κέντρο με δοσοεξαρτώμενο τρόπο. Διατηρεί την καρδιακή παροχή σε φυσιολογικά επίπεδα.

Σεβοφλουράνιο

Το βασικό πλεονέκτημα του σεβοφλουρανίου είναι η ταχεία εγκατάσταση της αναισθησίας και η ταχεία ανάνηψη (ταχύτερες από εκείνες του ισοφλουρανίου). Η επίδρασή του στο αναπνευστικό και το καρδιαγγειακό σύστημα είναι παρόμοιες με εκείνες που προκαλεί το ισοφλουράνιο.

8.2.2.5. Μέθοδοι χορήγησης εισπνευστικών αναισθητικών

Για τη χορήγηση μείγματος εισπνευστικού αναισθητικού και οξυγόνου, είναι απαραίτητη η χρήση ειδικών συσκευών (συσκευές χορήγησης εισπνευστικών αναισθητικών) (Εικόνα 8.1). Η παροχή στο κύκλωμα της επιθυμητής συγκέντρωσης του εισπνευστικού αναισθητικού γίνεται μέσω ειδικών για κάθε αναισθητικό εξαερωτήρων. Βασική προϋπόθεση για την ορθή λειτουργία των συσκευών χορήγησης εισπνευστικών αναισθητικών είναι η επαρκής χορήγηση οξυγόνου καθώς και η επαρκής απομάκρυνση του διοξειδίου του άνθρακα και του πλεονάζοντος αναισθητικού από τον εκπνεόμενο αέρα, διαμέσου απαγωγών σωλήνων (scavenging).



Εικόνα 8.1 Συσκευές χορήγησης εισπνευστικών αναισθητικών – αναπνευστήρες.

Το μείγμα αναισθητικού και οξυγόνου χορηγείται στο ζώο α) με διοχέτευσή του σε ειδικά αεροστεγή κλουβιά από plexiglas, εντός των οποίων τοποθετείται το ζώο (Εικόνα 8.2), β) με τη βοήθεια ελαστικής προσωπίδας, η οποία προσαρμόζεται στο ρύγχος του ζώου, ή γ) μετά από ενδοτραχειακή διασωλήνωση (Hedenqvist and Flecknell, 2011). Στην περίπτωση εφαρμογής προσωπίδας, ο ρυθμός χορήγησης του μείγματος αερίων θα πρέπει να είναι τουλάχιστον τριπλάσιος του κατά λεπτό όγκου αέρα του ζώου [αναπνεόμενος όγκος αέρα (περίπου 15 mL / kg ΣΒ) × αριθμό αναπνοών ανά λεπτό]. Στην περίπτωση διασωλήνωσης της τραχείας, ο ρυθμός μειώνεται σε 2,2 × κατά λεπτό όγκο αέρα (ανοικτό σύστημα), ενώ όταν ο εκπνεόμενος αέρας ανακυκλώνεται (κλειστό σύστημα) ο ρυθμός μειώνεται ακόμη περισσότερο (Bertens et al., 1993). Για λόγους ασφάλειας του προσωπικού, η χορήγηση αναισθητικού με τη βοήθεια προσωπίδας συστήνεται να πραγματοποιείται εντός ειδικών θαλάμων με απαγωγό αερίων (ventilated hood).



Εικόνα 8.2 Αεροστεγής κλωβός εγκατάστασης αναισθησίας τρωκτικών.

Για αναισθησία μικρής διάρκειας (<1 min) σε μικρά τρωκτικά (μύες, επίμυες), η αναισθησία μπορεί να διατηρηθεί με την τοποθέτηση του ρύγχος του ζώου στο ελεύθερο άκρο ενός σωληναρίου falcon ή μιας σύριγγας 50 mL, εντός των οποίων έχει τοποθετηθεί προηγουμένως βαμβάκι ή γάζα εμποτισμένη με το εισπνευστικό αναισθητικό. Σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (20 °C) και πίεση 1 atm, έχει υπολογιστεί ότι 1 mL ισοφλουρανίου αποδίδει συγκέντρωση 4% της ουσίας σε αέρια μορφή. Η μέθοδος, αν και πρακτική, δεν παρέχει χορήγηση της αναισθητικής ουσίας σε ακριβή συγκέντρωση. Η μέθοδος θα πρέπει να εκτελείται, για λόγους ασφαλείας, σε ειδικό θάλαμο με απαγωγό αερίων.

8.2.2.6. Υπολογισμός της χορηγούμενης ποσότητας του ενέσιμου αναισθητικού

Για τον υπολογισμό της ποσότητας της αναισθητικής ουσίας που θα χορηγηθεί, θα πρέπει να είναι γνωστά: το σωματικό βάρος του ζώου, η δόση της αναισθητικής ουσίας και η συγκέντρωση του διαλύματος του αναισθητικού που έχουμε στη διάθεσή μας.

Παράδειγμα: Σε κουνέλι με σωματικό βάρος 4 kg επιθυμούμε να χορηγήσουμε ενδομυϊκά κεταμίνη σε δόση 35 mg / kg ΣΒ. Η κεταμίνη είναι διαθέσιμη σε διάλυμα με συγκέντρωση 10%. Πόσα mL διαλύματος κεταμίνης θα χρησιμοποιήσουμε;

Αν για 1 kg ΣΒ χρησιμοποιούμε 35 mg κεταμίνης, τότε για 4 kg ΣΒ θα χρησιμοποιήσουμε 140 mg (4×35 mg).

10% διάλυμα κεταμίνης σημαίνει ότι 10 g (ή 10.000 mg) κεταμίνης περιέχονται σε 100 mL διαλύματος.

Άρα, τα 140 mg κεταμίνης θα περιέχονται σε $140 \times 100 / 10.000 = 1,4$ mL διαλύματος κεταμίνης 10%.

8.2.2.7. Διασωλήνωση της τραχείας και τεχνητός αερισμός

Η διασωλήνωση της τραχείας, δηλαδή η εισαγωγή καθετήρα (τραχειοσωλήνα) στην τραχεία, πραγματοποιείται μόνο σε αναισθητοποιημένα ζώα, στα οποία έχει κατασταλεί το αντανακλαστικό της κατάποσης (Εικόνα 8.3). Πραγματοποιείται σε ζώα στα οποία θα διατηρηθεί η αναισθησία με χορήγηση εισπνευστικών αναισθητικών. Επίσης, χρησιμοποιείται προκειμένου να διατηρηθεί ανοικτή η αεροφόρος οδός ή όπου χρειάζεται υποβοήθηση της αναπνοής με τεχνητό αερισμό των πνευμόνων. Το μέγεθος του τραχειοσωλήνα ποικίλλει, ανάλογα με το είδος και το μέγεθος του ζώου του (Πίνακας 8.1).



Εικόνα 8.3 Διασωληνωμένο κουνέλι.

Πίνακας 8.1 Διαστάσεις τραχειοσωλήνα για διάφορα είδη ζώων εργαστηρίου.

Είδος ζώου	Εξωτερική διάμετρος (mm)	Εσωτερική διάμετρος (mm)	Μήκος (cm)
Μυς	1,0	0,5	3
Επίμυς	0,8	1,0	13
Χάμστερ	1,6	1,0	8
Ινδικό χοιρίδιο	2,0	1,5	10
Κουνέλι	2,0-3,5	1,8-3,3	15

Κατά τον τεχνητό αερισμό των πνευμόνων, διοχετεύεται αέρας στους πνεύμονες, διαμέσου του τραχειοσωλήνα, με ρυθμό και σε όγκο ανάλογο με το είδος του ζώου (Πίνακας 8.2). Εφαρμόζεται σε περιπτώσεις όπου διανοίγεται η θωρακική κοιλότητα, χορηγείται μυοχαλαρωτική ουσία ή διατηρείται η αναισθησία για μεγάλα χρονικά διαστήματα.

Πίνακας 8.2 Παράμετροι τεχνητού αερισμού σε διάφορα είδη ζώων εργαστηρίου.

Είδος ζώου	Αριθμός αναπνοών ανά min	Αναπνεόμενος όγκος (mL)	Χρόνος εισπνοής/εκπνοής (%)	Πίεση αέρα (cm H ₂ O)
Μυς	100-130	0,5-1	36/65	5-15
Επίμυς	50-80	3-10	35/65	5-15
Ινδικό χοιρίδιο	30-50	8-20	35/65	5-15
Κουνέλι	30-50	40-60	35/65	5-15

8.2.2.8. Στάδια γενικής αναισθησίας

Η γενική αναισθησία έχει χωριστεί, για εκπαιδευτικούς λόγους, σε 4 στάδια. Τα στάδια της αναγνωρίζονται εύκολα, όταν δεν προηγείται προνάρκωση (Παπαδόπουλος, 1986).

1ο στάδιο (στάδιο αναλγησίας): Το ζώο διατηρεί τη συνείδησή του, ενώ παρουσιάζει ελαφρά αναλγησία και ηρέμηση.

2ο στάδιο (στάδιο διέγερσης): Επέρχεται απώλεια συνείδησης, αυξάνονται τα αντανακλαστικά και η κίνηση των μυών, διαστέλλεται η κόρη του οφθαλμού και αυξάνονται οι εκκρίσεις.

3ο στάδιο (στάδιο χειρουργικής αναισθησίας): Μειώνεται η συχνότητα και αυξάνεται το βάθος των αναπνοών, εξαφανίζονται το βλεφαριδικό αντανακλαστικό και το αντανακλαστικό του κερατοειδούς, ενώ μειώνεται ο μυϊκός τόνος.

4ο στάδιο (στάδιο προμηκικής παράλυσης ή υπερδοσίας): Καταστέλλονται τα ζωτικά κέντρα του εγκεφάλου, με αποτέλεσμα την παύση της αναπνευστικής και της καρδιακής λειτουργίας, ενώ οι κόρες των οφθαλμών διαστέλλονται πλήρως.

8.2.2.9. Έλεγχος του βάθους της αναισθησίας

Ο έλεγχος του βάθους της αναισθησίας είναι σημαντικός, για τη διαπίστωση του σταδίου αναισθησίας. Ο καθορισμός του βάθους της αναισθησίας μπορεί να γίνει με έλεγχο της κατάργησης των αντανακλαστικών, των μεταβολών του τύπου, του ρυθμού και του βάθους της αναπνοής καθώς και των μεταβολών του καρδιακού ρυθμού και της πίεσης του αίματος. Οι μεταβολές των παραπάνω παραμέτρων στα διάφορα στάδια της αναισθησίας ποικίλλουν μεταξύ διαφόρων ειδών ζώων καθώς και ανάλογα με τη χρησιμοποιούμενη αναισθητική ουσία. Για τα περισσότερα πειράματα απαιτείται στάδιο χειρουργικής αναισθησίας. Τα αντανακλαστικά που χρησιμοποιούνται, κυρίως για τον έλεγχο του επιθυμητού σταδίου αναισθησίας, είναι:

1. Αντανακλαστικό της επανόρθωσης.
2. Ποδικό αντανακλαστικό.
3. Αντανακλαστικό της κατάποσης.
4. Βλεφαριδικό αντανακλαστικό.
5. Αντανακλαστικό του κερατοειδούς.
6. Αντανακλαστικό νύξης της ουράς (μικρόσωμα τρωκτικά).
7. Αντανακλαστικό νύξης του πτερυγίου του ωτός (κουνέλια).

8.2.2.10. Έλεγχος ζωτικών σημείων

Κατά τη διάρκεια της αναισθησίας, είναι σημαντικό να ελέγχονται οι ζωτικές λειτουργίες του ζώου και να βεβαιώνεται ότι αυτές διατηρούνται μέσα σε αποδεκτά όρια. Ανάλογα με τα διαθέσιμα όργανα, μετρώνται και καταγράφονται ο καρδιακός ρυθμός, ο αναπνευστικός ρυθμός, η χροιά των βλεννογόνων, η θερμοκρασία του σώματος, τα αντανακλαστικά, η αρτηριακή πίεση, τα αέρια αίματος, γίνεται ηλεκτροκαρδιογράφημα (ΗΚΓ), ηλεκτροεγκεφαλογράφημα (ΗΕΓ) κ.λπ.

8.2.2.11. Επιπλοκές της γενικής αναισθησίας

Οι συνηθέστερες επιπλοκές της γενικής αναισθησίας είναι:

1. Καταστολή του αναπνευστικού κέντρου, με αποτέλεσμα την άρρυθμη αναπνοή ή και την άπνοια.
2. Καταστολή του καρδιαγγειακού κέντρου, με αποτέλεσμα την καρδιακή αρρυθμία, την ανακοπή της καρδιακής λειτουργίας ή την υπόταση.
3. Εισρόφηση.
4. Υποθερμία.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Bertens, A.P.M.G., Booij, L.H.D.J., Flecknell, P.A., & Lagerweij, E. (1993). Anaesthesia, analgesia and euthanasia. In L.E.M., Van Zutphen, V. Baumans, & A.C. Beynen (Eds.), *Principles of Laboratory Animal Science. A contribution to the humane use and care of animals and to the quality of experimental results* (pp. 267-298). Elsevier. ISBN-13: 978-0444812704
- Flecknell, P. (2015). *Laboratory animal anesthesia*. 4th edition. Academic Press. ISBN: 9780128000366
- Hedenqvist, P., & Flecknell, P. (2011). Anesthesia and analgesia. In B. Howard, T. Nevalainen, & G. Perretta (Eds.), *The COST manual of laboratory animal care and use. Refinement, Reduction and Research* (pp. 313-332). CRC Press. ISSN: 978-1-4398-2492-4
- Wolfensohn, S., Lloyd, M. (1994). *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare*. Oxford University Press. ISBN-13: 9780198548331

Κεφάλαιο 9

Σύνοψη

Το κεφάλαιο αυτό πραγματεύεται την αναγνώριση του πόνου και της ταλαιπωρίας των ζώων, την εκτίμηση των καταληκτικών σημείων, μετά την εκτέλεση ενός πειραματισμού, και τους τρόπους με τους οποίους μπορεί να αντιμετωπιστεί ο πόνος, προτού καταλήξει ο ερευνητής στη διενέργεια ευθανασίας.

Προαπαιτούμενη γνώση

Βασικές γνώσεις φυσιολογίας και συμπεριφοράς των ζώων.

9 ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΚΑΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ ΠΟΝΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ ΤΑΛΑΙΠΩΡΙΑΣ

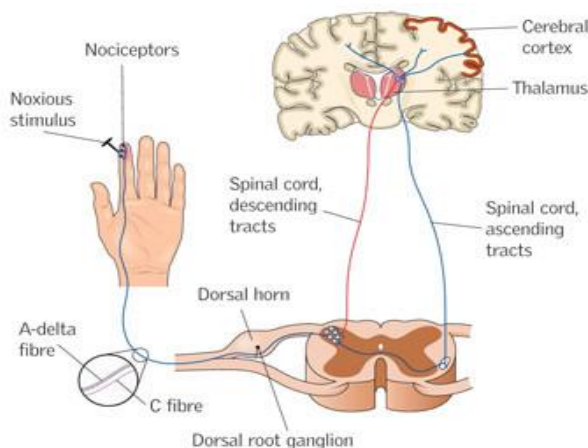
Στον κώδικα ηθικής και δεοντολογίας που αφορά τη χρησιμοποίηση ζώων για επιστημονικούς σκοπούς διατυπώνεται η ανάγκη για μείωση του πόνου και της ταλαιπωρίας που υφίστανται τα ζώα πριν, κατά τη διάρκεια και μετά από μια πειραματική διαδικασία. Στη βάση αυτή, ο ερευνητής οφείλει να αναγνωρίζει και να εκτιμά τα σημεία πόνου και ταλαιπωρίας, να τα προλαμβάνει όπου είναι δυνατό ή να φροντίζει για την αντιμετώπισή τους. Όταν αυτά δεν είναι αντιμετωπίσιμα, θα πρέπει να διακόπτεται το πείραμα ή, στις σοβαρές περιπτώσεις, να οδηγείται το πειραματόζωο στην ευθανασία.

Είναι σημαντικό να διαχωρίζονται οι περιπτώσεις στις οποίες ο πόνος και η ταλαιπωρία δεν είναι δυνατό να αποτραπούν, ως αναπόφευκτη συνέπεια της πειραματικής διαδικασίας, από εκείνες στις οποίες μπορούν να αποφευχθούν, διαμέσου βελτίωσης π.χ. των συνθηκών εκτροφής ή των πειραματικών τεχνικών.

9.1. ΠΟΝΟΣ

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό για την Εκτίμηση του Πόνου, ως «πόνος» ορίζεται η *δυσάρεστη εμπειρία αισθήσεων και συναισθημάτων, η οποία σχετίζεται ή προσομοιάζει εκείνη που σχετίζεται με πραγματική ή πιθανή βλάβη ιστών* (Anonymous, 2021).

Στο δέρμα, τα σπλάγχνα και τους μυοσκελετικούς ιστούς υπάρχουν υποδοχείς πόνου (αλγούποδοχείς), οι οποίοι αντιδρούν σε ερεθίσματα χημικά, θερμοκρασίας και πίεσης. Νευρικές ώσεις μεταβιβάζονται από τους υποδοχείς μέσω αισθητικών νευρώνων (αμύελες ίνες τύπου C και λεπτές εμμύελες ίνες τύπου Ad) προς το ραχιαίο κέρασ του νωτιαίου μυελού. Οι εισερχόμενες ώσεις μπορεί να οδηγήσουν στην ενεργοποίηση νωτιαίου αντανακλαστικού, όπως την απόσυρση ενός άκρου, ως αμυντικό μηχανισμό. Μια δεύτερη νευρική οδός μεταφέρει τις ώσεις στον εγκέφαλο (νωτιαιοθαλαμική οδός), όπου μια άλλη σύναψη λαμβάνει χώρα στον θάλαμο. Η τρίτη και τελευταία νευρική οδός ξεκινά από τον θάλαμο και καταλήγει στον εγκεφαλικό φλοιό, όπου οι νευρικές ώσεις μεταφράζονται σε αίσθημα πόνου. Ωστόσο, υπάρχουν και φυγόκεντρες νευρικές οδοί, οι οποίες μπορεί να τροποποιήσουν τη δίοδο των ώσεων από τον νωτιαίο μυελό και να αυξήσουν ή να μειώσουν την ανοχή και τον ουδό του πόνου (Smith, 1994).



9.2. ΤΑΛΑΙΠΩΡΙΑ

Ως «ταλαιπωρία» (distress) ορίζεται η *δυσάρεστη κατάσταση την οποία βιώνουν τα ζώα και κατά την οποία οι διαδικασίες αντιμετώπισης και προσαρμογής σε στρεσογόνους παράγοντες αδυνατούν να επαναφέρουν τον οργανισμό σε κατάσταση φυσιολογικής ή/και ψυχολογικής ομοιόστασης* (Committee on Recognition and Alleviation of Distress in Laboratory Animals, 2008).

Στα ζώα τα οποία εκτίθενται σε στρεσογόνους παράγοντες του περιβάλλοντος ή αισθάνονται απειλή διεγείρονται οι νευρώνες του κεντρικού νευρικού συστήματος, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του άξονα «υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια», που οδηγεί στην έκκριση αδρενοκορτικοτροπού ορμόνης (ACTH). Στη συνέχεια, διεγείρεται ο φλοιός των επινεφριδίων προς παραγωγή και απελευθέρωση κορτικοστεροειδών, κυρίως της κορτιζόλης ή της κορτικοστερόνης. Η παρουσία κορτικοστεροειδών σε υψηλά επίπεδα στη συστηματική κυκλοφορία για παρατεταμένο χρονικό διάστημα οδηγεί στην κατάσταση της «ταλαιπωρίας».

Αν το ζώο δεν καταφέρει να προσαρμοστεί στις συνθήκες, υπάρχουν συνέπειες σε όλους τους μηχανισμούς ομοιόστασης του σώματος, όπως μειωμένος ρυθμός ανάπτυξης, απώλεια σωματικού βάρους, διαταραχές της λειτουργίας του ενδοκρινικού συστήματος κ.λπ. Επιπλέον, είναι πιθανό να μειωθεί η αναπαραγωγική ικανότητα του ζώου ή να προκληθεί ανοσοκαταστολή, που το καθιστά περισσότερο επιρρεπές σε λοιμώξεις.

9.3. ΑΙΤΙΑ ΠΡΟΚΛΗΣΗΣ ΠΟΝΟΥ ΚΑΙ ΤΑΛΑΙΠΩΡΙΑΣ

Περίοδος πριν από το πείραμα

Πριν από την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας, διάφοροι παράγοντες μπορεί να οδηγήσουν στην ταλαιπωρία των ζώων, όπως η μεταφορά τους σε νέες εγκαταστάσεις εκτροφής ή πειραματισμού, οι μεταβολές στην πυκνότητα των ζώων ανά κλουβί, η διαταραχή της ιεραρχίας, το στρες της απομόνωσης, οι νέες επαφές με τον άνθρωπο, οι μεταβολές των συνθηκών περιβάλλοντος (θερμοκρασία, σχετική υγρασία, φωτοπερίοδος) ή οι μεταβολές στις διατροφικές συνθήκες. Το στρες που δημιουργείται σε ένα ζώο μπορεί να μεταδοθεί με ευκολία στα υπόλοιπα ζώα, μέσω έκκρισης φερομονών και μεταβολών στη συμπεριφορά (κραυγές, κινητικότητα). Μια περίοδος εγκλιματισμού 3-7 ημερών, ανάλογα με το είδος του ζώου, είναι απαραίτητη για την εξοικείωση των νεοεισερχόμενων ζώων σε μια εγκατάσταση πειραματισμού, όπου επικρατούν νέες συνθήκες περιβάλλοντος.

Περίοδος κατά τη διάρκεια του πειράματος

Διαδικασίες που λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια του πειραματισμού, όπως χειρισμοί των ζώων, εγχύσεις ουσιών, αιμοληψίες, αναισθησία και η ίδια η χειρουργική επέμβαση, αποτελούν παράγοντες πρόκλησης ταλαιπωρίας και πόνου.

Περίοδος μετά το πείραμα

Η μετεγχειρητική περίοδος είναι σημαντική για τη διασφάλιση των συνθηκών που δεν θα επαυξήσουν τον πόνο και την ταλαιπωρία που έχουν ήδη υποστεί τα ζώα κατά τις προηγούμενες περιόδους. Θα πρέπει να λαμβάνονται μέτρα, όπως χορήγηση υγρών σε θερμοκρασία σώματος, να διασφαλίζεται η ισορροπία των ηλεκτρολυτών καθώς και η ανάπαυση σε ήσυχο και ζεστό περιβάλλον. Η έναρξη χορήγησης αναλγητικών θα πρέπει να γίνεται πριν από την έναρξη μιας χειρουργικής επέμβασης.

9.4. ΤΡΟΠΟΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΣΤΟΝ ΠΟΝΟ

Οι τρόποι αντίδρασης στον πόνο μπορεί να αφορούν α) συνειδητή μεταβολή της συμπεριφοράς προς αποφυγή του επώδυνου ερεθίσματος, β) αυτόματη αντίδραση για την προστασία του ζώου (π.χ. αντανακλαστική απόσυρση του άκρου, ακινητοποίηση κ.λπ.), και γ) αντίδραση για μεταβίβαση του ερεθίσματος στα υπόλοιπα ζώα (π.χ. κραυγές, έκκριση φερομονών κ.λπ.) (Υψηλάντης, 2009).

9.5. ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΤΟΥ ΠΟΝΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ ΤΑΛΑΙΠΩΡΙΑΣ

Το προσωπικό που χειρίζεται τα ζώα μιας εγκατάστασης θα πρέπει να είναι εκπαιδευμένο στο να αναγνωρίζει τα σημεία πόνου και ταλαιπωρίας. Τα βασικά κριτήρια για την αναγνώριση του πόνου και της ταλαιπωρίας ενός ζώου είναι η εμφάνισή του, η στάση του σώματός του, η αυθόρμητη συμπεριφορά του, η προκαλούμενη συμπεριφορά του, η κλινική εξέταση και η μέτρηση του σωματικού του βάρους (Hendriksen et al., 2011).

9.5.1. Σημεία οξέος πόνου

Υπάρχουν διαφορές μεταξύ των ειδών αλλά και μεταξύ των ζώων του ίδιου είδους ως προς τις εκδηλώσεις του πόνου. Οι παρατηρήσεις θα πρέπει να γίνονται χωρίς το ζώο να αντιλαμβάνεται την παρουσία μας. Στα σημεία οξέος πόνου περιλαμβάνονται: υπερκινητικότητα ή αδράνεια, κατάκλιση, απομόνωση, μείωση ή αύξηση των κραυγών, μεταβολές στην ποσότητα και τον τρόπο πρόσληψης νερού και τροφής, επιθετική ή αμυντική συμπεριφορά προς άλλα ζώα, νεογνά (κανιβαλισμός) ή τον εαυτό τους (αυτοτραυματισμός), μεταβολές στη συμπεριφορά που αφορούν τη συλλογή τροφής, την αυτοπεριποίηση, την άσκηση, τη σεξουαλική δραστηριότητα και τον ύπνο, καθώς και μεταβολές της θερμοκρασίας του σώματος (Smith, 1994).

9.5.2. Σημεία χρόνιου πόνου και ταλαιπωρίας

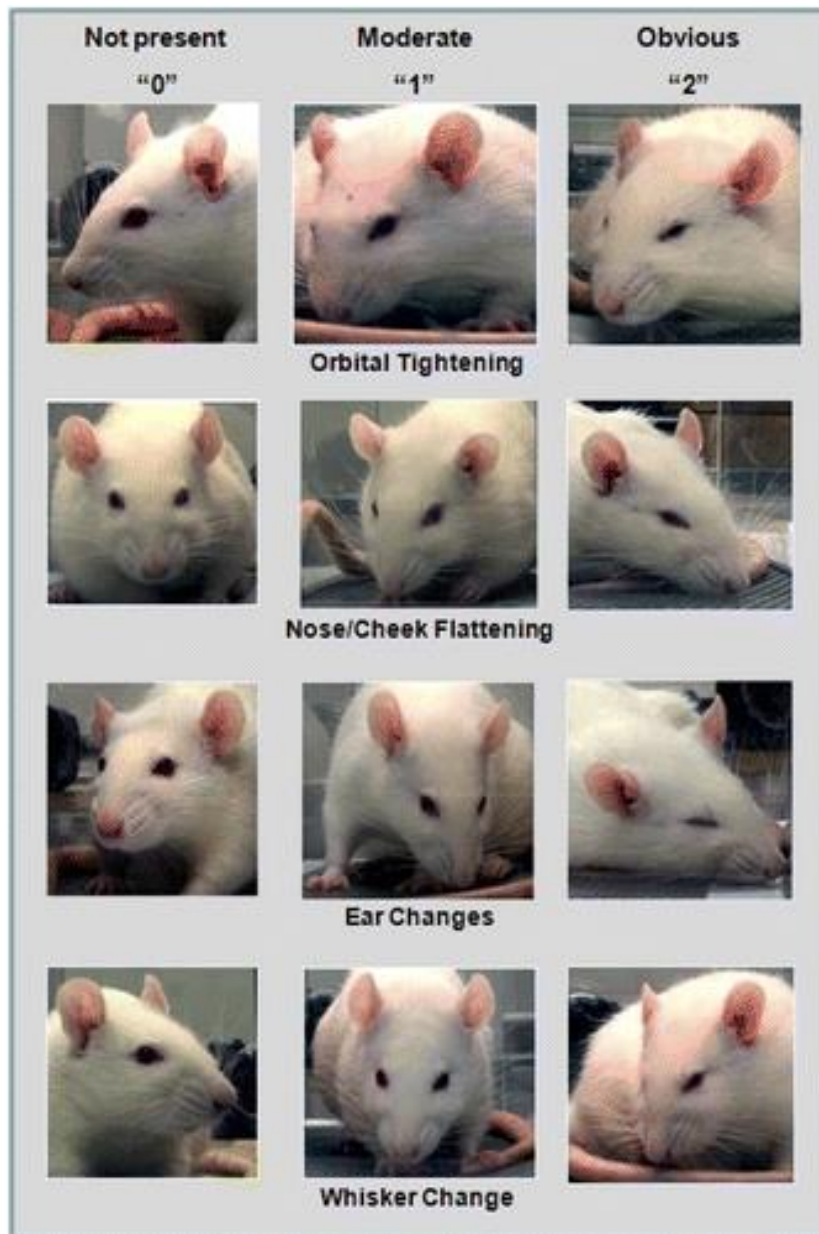
Στον χρόνια πόνο, οι μεταβολές είναι συνήθως μικρές και απαιτείται προσεκτική παρατήρηση και καλή γνώση της συμπεριφοράς των ζώων. Εκτός από τον σωματικό πόνο, ταλαιπωρία μπορεί να επέλθει και από μεταβολές στο περιβάλλον των ζώων, όπως αλλαγή του τύπου κλουβιού, του αριθμού των ζώων ανά κλουβί, η γειτνίαση με ανταγωνιστικά είδη ζώων κ.λπ. (Smith, 1994).

9.5.3. Μεθοδολογία για την αναγνώριση του πόνου και της ταλαιπωρίας

Προτείνονται τα ακόλουθα βήματα για την εκτίμηση του πόνου και της ταλαιπωρίας: Αρχικά, το ζώο θα πρέπει να παρατηρηθεί από απόσταση ως προς την εμφάνιση, τη στάση και τη συμπεριφορά του. Στη συνέχεια, εκτιμάται η αντίδρασή του σε ένα ερέθισμα, π.χ. σε έναν θόρυβο, ώστε να διαπιστωθεί αν βρίσκεται σε εγρήγορση. Ακολουθεί η κλινική εξέταση, ώστε να διαπιστωθεί αν κάποια περιοχή του σώματός του είναι ιδιαίτερος ευαίσθητη. Ελέγχονται οι φυσικές οπές του για παρουσία εκκρίματος (π.χ. διάρροια, αίμα στα ούρα κ.λπ.). Στη συνέχεια, το ζώο ζυγίζεται, ώστε να διαπιστωθεί αν υπάρχει απώλεια σωματικού βάρους ως συνέπεια μειωμένης πρόσληψης τροφής ή/και νερού. Η αύξηση του σωματικού βάρους θα πρέπει επίσης να ερμηνεύεται με προσοχή, καθότι μπορεί να οφείλεται σε παθολογικές καταστάσεις, όπως ανάπτυξη όγκων, ασκίτη κ.λπ. Επιπλέον, μπορεί να χρειαστεί να γίνουν εξετάσεις αίματος, ούρων ή κοπράνων για τη μέτρηση βιοχημικών παραμέτρων, όπως της ACTH, της κορτιζόλης κ.λπ., καθώς και εξετάσεις για τον έλεγχο της λειτουργικότητας των οργάνων.

Ζώα τα οποία πονούν, βρίσκονται σε λήθαργο ή υποφέρουν, χάνουν το ενδιαφέρον τους για το περιβάλλον. Τα στοιχεία εμπλουτισμού του περιβάλλοντος μπορεί να βοηθήσουν στην αξιολόγηση της κατάστασης ενός ζώου από την προθυμία του ή όχι να τα χρησιμοποιεί, π.χ. να τρέχει ή όχι σε περιστρεφόμενο τροχό, να έχει ή όχι διάθεση να μπει ή να βγει σε φωλιές κ.λπ..

Σε πρόσφατες μελέτες, έχουν συσχετισθεί τα επίπεδα πόνου που νιώθουν τα ζώα με μεταβολές στα χαρακτηριστικά του προσώπου τους (γκριμάτσες) (Εικόνα 9.2). Έτσι, βαθμολογώντας βαθμονομημένες μεταβολές στα χαρακτηριστικά του προσώπου τους, μπορεί να εκτιμηθεί η επίδραση της χορήγησης μιας ουσίας ως προς τα επίπεδα πρόκλησης ή ανακούφισης από τον πόνο (Sotocinal et al., 2011, Mogil et al., 2020).



Εικόνα 9.2 Μεταβολές χαρακτηριστικών του προσώπου, για την εκτίμηση του πόνου στον επίμω (Sotocinal et al., 2011).

9.6. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΚΑΤΑΛΗΚΤΙΚΩΝ ΣΗΜΕΙΩΝ

Ως «καταληκτικά σημεία» ή «μη βάνουσα καταληκτικά σημεία» (humane endpoints) ορίζονται τα κριτήρια με βάση τα οποία αποφασίζεται η λήψη μέτρων για τη μείωση, ελαχιστοποίηση ή εξάλειψη του πόνου ή της ταλαιπωρίας ενός ζώου. Τα μέτρα που αποφασίζεται να ληφθούν είναι ανάλογα με τη βαρύτητα των ευρημάτων και μπορεί να αφορούν χορήγηση αναλγητικών ουσιών, τροποποίηση του πειραματικού πρωτοκόλλου, διακοπή του πειραματισμού ή ακόμη και ευθανασία του ζώου.

Οι λόγοι εκτίμησης των καταληκτικών σημείων είναι ηθικοί, νομικοί, πρακτικοί και επιστημονικοί. Τα καταληκτικά σημεία βρίσκουν εφαρμογή α) όταν ένα ζώο δεν μπορεί να παρέχει αξιόπιστη και χρήσιμη επιστημονική πληροφορία λόγω σημαντικών προβλημάτων στην υγεία του, β) όταν ένα ζώο δεν μπορεί να παρέχει αξιόπιστη και χρήσιμη επιστημονική πληροφορία λόγω σημαντικών διαταραχών στην ψυχολογία του, οι οποίες μπορεί να διαταράξουν τη φυσιολογία του, γ) όταν η ταλαιπωρία που υφίσταται το ζώο δεν αντισταθμίζει το όφελος της μελέτης, δ) όταν η ταλαιπωρία που υφίσταται το ζώο είναι τόσο μεγάλη, ώστε να εμπίπτει στην κατηγορία της «βάνουσης συμπεριφοράς προς τα ζώα», που ορίζει η σχετική νομοθεσία για την προστασία των ζώων, και ε) όταν, ενώ ο υψηλός βαθμός ταλαιπωρίας μπορεί να δικαιολογηθεί, δεν είναι απαραίτητη η συνέχιση του πειραματισμού, αφού δεδομένα από προηγούμενα στάδια του πειράματος είναι αρκετά, ώστε να προβλεφθεί η έκβαση της μελέτης (Morton, 1998).

Στο πλαίσιο της αξιολόγησης των καταληκτικών σημείων, συντάσσονται σχετικά δελτία αξιολόγησης, όπου ορίζεται μια λίστα παραμέτρων εκτίμησης της κατάστασης του ζώου, οι οποίες αξιολογούνται από το προσωπικό σε τακτά χρονικά διαστήματα (Πίνακας 9.1). Οι παράμετροι που ορίζονται και η συχνότητα εκτίμησής τους διαφοροποιούνται, ανάλογα με το πειραματικό πρωτόκολλο της μελέτης, το είδος του ζώου που χρησιμοποιείται ή ακόμη και τη φυλή. Τα καταληκτικά σημεία μπορεί να αξιολογούνται με βάση την παρουσία ή απουσία μιας κατάστασης, π.χ. παρουσία ή απουσία σπασμών. Μια άλλη μέθοδος εκτίμησης είναι η βαθμολόγηση της βαθμονομημένης σοβαρότητας ενός καταληκτικού σημείου, π.χ. φυσιολογικό σωματικό βάρος (0, 1: απώλεια 5-10%, 2: απώλεια 11-20%, 3: απώλεια >20%). Το άθροισμα της βαθμολογίας που λαμβάνεται για κάθε εκτιμώμενη παράμετρο ή/και η υπέρβαση της βαθμολογίας μιας συγκεκριμένης παραμέτρου καθορίζει την απόφαση που λαμβάνεται για τη λήψη μέτρων, προκειμένου να μειωθεί ο πόνος και η ταλαιπωρία των ζώων. Έτσι, τα παρακάτω καταληκτικά σημεία αποτελούν ενδείξεις σοβαρής διαταραχής της ευζωίας και θα πρέπει να λαμβάνονται σοβαρά υπόψη για τη λήψη αποφάσεων, ανεξαρτήτως συνολικής βαθμολογίας:

1. Αδυναμία πρόσληψης τροφής ή/και νερού.
2. Ταχεία ή συνεχής απώλεια σωματικού βάρους. Γενικά, απώλεια σωματικού βάρους >20% σε περίοδο λίγων ημερών ή χρόνια απώλεια σωματικού βάρους >15% θεωρείται το ανώτερο όριο που θα πρέπει να γίνεται ανεκτό σε μια μελέτη, εκτός αν υπάρχουν τεκμηριωμένοι λόγοι για την αγνόηση τέτοιου βαθμού μεταβολής, όπως σε μελέτες ενάντια στην παχυσαρκία ή μελέτες σε ζωικά πρότυπα σακχαρώδη διαβήτη.
3. Αφυδάτωση λόγω μειωμένης πρόσληψης ή υπέρμετρης απώλειας υγρών.
4. Γενικευμένη μείωση της διάθεσης για αυτοπεριποίηση.
5. Νευρολογικές διαταραχές, όπως σπασμοί, τρόμος, μειωμένα αντανακλαστικά κ.λπ.
6. Απάθεια/ληθαργικότητα.
7. Καταστάσεις που υποδηλώνουν σοβαρό πόνο και ταλαιπωρία.
8. Σοβαρή ή συνεχής αναπνευστική δυσχέρεια.
9. Εξέλκωση νεοπλασίας.

9.7. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ ΠΟΝΟΥ

9.7.1. Χορήγηση αναλγητικών

Για την ορθή επιλογή του κατάλληλου αναλγητικού σχήματος, θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη, μεταξύ άλλων, οι ιδιαιτερότητες στην ανατομία, τη φυσιολογία, τις διατροφικές ανάγκες και την ιδιοσυγκρασία του ζώου, ο βιολογικός ρυθμός του ζώου καθώς και το στάδιο της ζωής του. Θα πρέπει να υπάρχει γνώση του φυσιολογικού εύρους τιμών παραμέτρων, όπως η θερμοκρασία σώματος, ο αναπνευστικός ρυθμός και ο καρδιακός ρυθμός. Αν και υπάρχει η ανησυχία από την πλευρά των ερευνητών ότι η χορήγηση αναλγητικών μπορεί να αλλοιώσει τα αποτελέσματα της

μελέτης, πρωταρχικός σκοπός μας θα πρέπει να είναι η παροχή επαρκούς αναλγησίας στο ζώο (Smith, 1994).

Τα αναλγητικά μπορούν να χωριστούν στις εξής τρεις κατηγορίες: α) οπιοειδή, β) μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη και γ) τοπικά αναλγητικά. Τα οπιοειδή παρέχουν τον πιο αποτελεσματικό τρόπο ελέγχου του πόνου μετά από τραυματισμό ή χειρουργείο. Σε αυτά περιλαμβάνονται οι αγωνιστές των μ-υποδοχέων των οπιοειδών (μορφίνη, φεντανύλη, σουφεντανύλη και αλφεντανύλη) και οι μερικοί αγωνιστές των υποδοχέων των οπιοειδών (μπουπρενορφίνη, βουτορφανόλη). Τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη (NSAIDs) χορηγούνται για την αντιμετώπιση ήπιου ή μέτριου πόνου και σε αυτά περιλαμβάνονται η ιμπουπροφένη, η κετοπροφένη, η καρπροφένη, η μελοξικάμη και η φλουνιζίνη μεγλουμίνη. Τα τοπικά αναισθητικά μπλοκάρουν τις διόδους νατρίου και κατά συνέπεια τη νευρική αγωγιμότητα. Μπορούν να χορηγηθούν τοπικά στο δέρμα, στους βλεννογόνους, στον οφθαλμό, στο αυτί, να εμποτιστούν στους ιστούς με έγχυση, να εγχυθούν τοπικά σε ένα νεύρο, σε κοιλότητες του σώματος ή στον επισκληρίδιο ή υπαραχνοειδή χώρο. Σε αυτά περιλαμβάνονται η ξυλοκαΐνη και η μπουπιβακαΐνη (Hedenqvist and Flecknel, 2011).

9.7.1.1. Αντιμετώπιση οξέος πόνου

Η επιλογή του κατάλληλου αναλγητικού θα πρέπει να γίνεται με βάση τον βαθμό αναλγησίας που επιθυμείται, τη διάρκεια δράσης του, το πειραματικό πρωτόκολλο και την προσωπική εμπειρία του ερευνητή. Σε περιπτώσεις σοβαρού πόνου, προτιμώνται οι μ-αγωνιστές, όπως η μορφίνη. Η μπουπρενορφίνη έχει ισχυρή και παρατεταμένη δράση. Από τα NSAIDs, η φλουνιζίνη έχει ισχυρή και παρατεταμένη δράση. Τα τοπικά αναισθητικά μπορούν να εφαρμοστούν τοπικά, μετά από χειρουργικές επεμβάσεις. Για μακροχρόνια χορήγηση, μπορούν να χρησιμοποιηθούν αντλίες έγχυσης ή η χορήγηση να γίνεται από το στόμα.

9.7.1.2. Αντιμετώπιση χρόνιου πόνου

Συνιστάται η επαναλαμβανόμενη χορήγηση NSAIDs σε μικρές δόσεις. Μπορούν να χορηγηθούν και στο πόσιμο νερό. Η μπουπρενορφίνη μπορεί επίσης να χορηγηθεί στο νερό.

Στον Πίνακα 9.2 παρατίθενται οι συνιστώμενες δόσεις των αναλγητικών ουσιών που χρησιμοποιούνται στα ζώα εργαστηρίου.

9.7.2. Άλλα φάρμακα

Φαρμακευτικές ουσίες με μυοχαλαρωτικές ιδιότητες (π.χ. διαζεπάμη, μιδαζολάμη κ.λπ.) είναι δυνατό να χορηγηθούν στις περιπτώσεις που ο πόνος οφείλεται σε σπασμό των μυών.

Πίνακας 9.1 Παράδειγμα δελτίου εκτίμησης καταληκτικών σημείων.

Παράμετροι εκτίμησης	Βαθμολογία
Εμφάνιση	
Φυσιολογική	0
Απουσία αυτοπεριποίησης	1
Θαμπό τρίχωμα, οφθαλμικές και ρινικές εκκρίσεις	2
Ανόρθωση τριχώματος, κύρτωση ράχης	3
Πρόσληψη τροφής και νερού	
Φυσιολογική	0
Αβέβαιη: μείωση σωματικού βάρους <5%	1
Μειωμένη: μείωση σωματικού βάρους 10-15%	2
Απουσία λήψης τροφής ή νερού	3
Κλινικά σημεία	
Φυσιολογική θερμοκρασία, καρδ. ρυθμός, αναπν. ρυθμός	0
Μικρές μεταβολές	1
Θερμοκρ. ± 1 °C, καρδ./αναπν. ρυθμός \pm έως 30%	2
Θερμοκρ. ± 2 °C, καρδ./αναπν. ρυθμός \pm έως 50%	3
Συμπεριφορά	
Φυσιολογική	0
Μικρές μεταβολές	1
Μείωση κινητικότητας και εγρήγορσης, απομόνωση	2
Κρανγές, αυτο-ακρωτηριασμός, υπερκινητικότητα ή κινητοποίηση	3
Προκαλούμενη συμπεριφορά	
Φυσιολογική	0
Μικρή καταστολή ή υπερβολική αντίδραση	1
Μέτρια μεταβολή στην αναμενόμενη συμπεριφορά	2
Αντίδραση βίαιη ή πολύ ασθενής	3
Διόρθωση βαθμολογίας	2-5
Αν έχετε βαθμολογία 3 σε περισσότερες από μία περιπτώσεις, προσθέστε 1 επιπλέον πόντο για κάθε βαθμολογία 3	
ΣΥΝΟΛΟ	...

Ερμηνεία τελικής βαθμολογίας:

0-4: Φυσιολογική.

5-9: Προσεκτική παρακολούθηση, πιθανότητα χορήγησης αναλγητικών.

10-14: Ταλαιπωρία. Λήψη μέτρων ανακούφισης, τακτική παρατήρηση, αναζήτηση δεύτερης γνώμης από κτηνίατρο, πιθανότητα διακοπής πειράματος.

15-20: Σοβαρός πόνος. Αναθεώρηση του πειραματικού πρωτοκόλλου.

Πίνακας 9.2 Συνιστώμενες δόσεις αναλγητικών ουσιών για χρήση σε ζώα εργαστηρίου
(Smith, 1994, Hedenqvist and Flecknel, 2011).

	Μυς	Επίμυς	Χάμστερ	Ινδικό χοιρίδιο	Κουνέλι
Ασπιρίνη	120 mg/kg/4h, p.o.	100 mg/kg/4h, p.o.		85 mg/kg/4h, p.o.	100 mg/kg/4h, p.o.
Βουτορφανόλη	1-5 mg/kg/4h, s.c.	2 mg/kg/4h, s.c.		2 mg/kg, s.c.	0,1-0,5 mg/kg/4h, i.v.
Δικλοφενάκη	8 mg/kg, p.o.	10 mg/kg, p.o.		2,1 mg/kg, p.o.	
Ιμπουπροφένη	30 mg/kg/4h, p.o.	15 mg/kg/4h, p.o.		10 mg/kg/4h, i.m.	10 mg/kg/4h, i.v.
Ινδομεθακίνη	1 mg/kg, p.o.	2 mg/kg, p.o.		2,5-8,8 mg/kg, p.o.	12,5 mg/kg, p.o.
Καρπροφαίνη	5 mg/kg/24h, s.c.	5 mg/kg/24h, s.c.		4 mg/kg/24h, s.c.	1,5 mg/kg/24h, p.o.
Κετοπροφαίνη	5 mg/kg/24h, s.c.	5 mg/kg/24h, s.c.			3 mg/kg/24h, s.c.
Κωδεΐνη	60-90 mg/kg, p.o. 20 mg/kg/4h, s.c.	60 mg/kg/4h, τοπική διήθηση			
Μελοξικάμη	5 mg/kg/24h, s.c.	1 mg/kg/24h, s.c.		0,3 mg/kg/24h, s.c.	0,6-1 mg/kg/24h, s.c.
Μεφαναμικό οξύ				224 mg/kg, p.o.	
Μορφίνη	2-5 mg/kg/4h, s.c., i.m.	2-5 mg/kg/4h, s.c., i.m.		2-5 mg/kg/4h, s.c., i.m.	2-5 mg/kg/2-4h, s.c., i.m.
Μπουπιβακαΐνη	1-2 mg/kg ή 0,4-0,8 mL/kg, 0,25%, τοπική διήθηση				
Μπουπρενορφίνη	0,05-0,1 mg/kg/8-12h, s.c.	0,05 mg/kg/8-12h, s.c., i.v.	0,1 mg/kg/8-12h, s.c.	0,05 mg/kg/8-12h, s.c.	0,01-0,05 mg/kg/8-12h, s.c.
Ναλμπουφίνη	4-8 mg/kg/4h, s.c.	1-2 mg/kg/3h, s.c.			1-2 mg/kg/4-5h, i.v.
Ναπροξένη				14,9 mg/kg, p.o.	
Ξυλοκαΐνη	4 mg/kg ή 0,4 mL/kg, 1%, τοπική διήθηση				
Παρακεταμόλη	200 mg/kg/4h, p.o.	200 mg/kg/4h, p.o.			
Πενταζοκίνη	10 mg/kg/3-4h, s.c.	10 mg/kg/3-4h, s.c.			5 mg/kg/2-4h, i.v.
Πεθιδίνη	10-20 mg/kg/2-3h, s.c.	10-20 mg/kg/2-3h, s.c.		10-20 mg/kg/2-3h, s.c.	10-20 mg/kg/2-3h, s.c.
Προξικάμη	3 mg/kg, p.o.	3 mg/kg, p.o.		5,7 mg/kg, p.o.	
Σουπροφένη	25 mg/kg, p.o.				
Τενοξικάμη		10 mg/kg, p.o.		7,2 mg/kg, p.o.	
Φενυλοβουταζόνη	30 mg/kg, p.o.	20 mg/kg, p.o.		40 mg/kg, p.o.	
Φλουνιζίνη	2,5 mg/kg/12h, s.c.	2,5 mg/kg/12h, s.c.			1,1 mg/kg/12h, s.c.

Συνεχίζεται...

...συνέχεια Πίνακα 9.2

Φλουφεναμικό οξύ	5 mg/kg, p.o.		30 mg/kg, p.o.		
	Γάτα	Σκύλος	Χοίρος	Πρόβατο	Πρωτεύοντα πλην ανθρώπου
Ασπιρίνη	Τοξική	10 mg/kg/6h, p.o.	10 mg/kg/4-6h, p.o.		20 mg/kg/6h, p.o.
Βουτορφανόλη	0,4 mg/kg/3-4h, s.c.	0,4 mg/kg/3-4h, s.c.	0,1-0,3 mg/kg/6h, s.c.		
Ιμπουπροφένη		5-10 mg/kg/24-48h, p.o.			
Καρπροφαίνη	2-4 mg/kg, s.c., i.v.	4 mg/kg, s.c, i.v.	2-4 mg/kg/24h, s.c., i.v.		
Κωδεΐνη		0,25-0,5 mg/kg/6h, p.o. (με παρακεταμόλη)			
Μορφίνη	0,1 mg/kg/6-8h, s.c., i.m., i.v.	0,5-5,0 mg/kg/4h, s.c.	έως 20 mg/4h, i.m.	10 mg/4h, s.c.	1-2 mg/kg/4h, s.c.
Μπουπιβακαΐνη			1-2 mg/kg ή 0,4-0, 8 mL/kg, 0,25%, τοπική διήθηση		
Μπουπρενορφίνη	0,005-0,01 mg/kg/8-12h, s.c., i.v.	0,01-0,02 mg/kg/8-12h, s.c., i.v.	0,005-0,01/8-12h, i.m.	0,005-0,01 mg/kg/4-6h, i.m.	0,01 mg/kg/8-12h, i.m., i.v.
Ναλμπουφίνη	1,5-3,0 mg/kg/3h, i.v.	0,5-2,0 mg/kg/3-8h, s.c.			
Ξυλοκαΐνη			4 mg/kg ή 0,4 mL/kg, 1%, τοπική διήθηση		
Παρακεταμόλη	Τοξική	10-20 mg/kg/6h, p.o. (με κωδεΐνη)			
Πεθιδίνη	10 mg/kg/2-3h, s.c.	10 mg/kg/2-3h, i.m.	2 mg/kg/4h, i.m.	200 mg/4h, i.m.	2-4 mg/kg/3-4h, i.m.
Πενταζοκίνη	8 mg/kg/4-6h, i.p.	2 mg/kg/4h, i.m.	2 mg/kg/4h, i.m.		2-5 mg/kg/4h, i.m.
Φλουνιζίνη	1 mg/kg/d x 5 d, s.c.	1 mg/kg/d, p.o.	1 mg/kg/d, s.c.	1 mg/kg/d, s.c.	2,5-10,0 mg/kg/d, i.m.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Anonymous (2021). Terminology. International Association for the Study of Pain. <https://www.iasp-pain.org/resources/terminology/>
- Committee on Recognition and Alleviation of Distress in Laboratory Animals, National Research Council. (2008). Recognition and Alleviation of Distress in Laboratory Animals. The National Academies Press, Washington. <http://www.nap.edu/catalog/11931.html>
- Hedenqvist, P., & Flecknell, P. (2011). Anesthesia and analgesia. In B. Howard, T. Nevalainen, & G. Perretta (Eds.), *The COST manual of laboratory animal care and use. Refinement, Reduction and Research* (pp. 313-332). CRC Press. ISSN: 978-1-4398-2492-4
- Hendriksen, C., Morton, D., & Cussler, K. (2011). Use of humane endpoints to minimise suffering. In B. Howard, T. Nevalainen, & G. Perretta (Eds.), *The COST manual of laboratory animal care and use. Refinement, Reduction and Research* (pp. 333-354). CRC Press. ISSN: 978-1-4398-2492-4
- Mogil, J.S., Pang, D.S.J., Silva Dutra, G.G., & Chambers, C.T. (2020). The development and use of facial grimace scales for pain measurement in animals. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 116:480-493. <http://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.07.013>
- Morton, D.B. (1998) Humane endpoints in animal experimentation for biomedical research: ethical, legal and practical aspects. https://www.researchgate.net/publication/228604657_Humane_endpoints_in_animal_experimentation_for_biomedical_research_ethical_legal_and_practical_aspects
- Smith, A. (1994). The treatment of pain and suffering in laboratory animals. In P. Svendsen, & J. Hau (Eds.), *Handbook of laboratory animals science*. Volume I. Selection and handling of animals in biomedical research (pp. 339-351). CRC Press. ISBN-13: 978-0849343780
- Sotocinal, S.G., Sorge, R.E., Zaloum, A., Tuttle, A.H., Martin, L.J., Wieskopf, J.S., Mapplebeck, J.C., Wei, P., Zhan, S., Zhang, S., McDougall, J.J., King, O.D., & Mogil, J.S. (2011). The Rat Grimace Scale: a partially automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expressions. *Molecular Pain*, 7, 55. <http://doi.org/10.1186/1744-8069-7-55>
- Υψηλάντης, Π. (2009). Αντιμετώπιση του πόνου – εκτίμηση τελικού σημείου – επιλογές ευθανασίας ζώων εργαστηρίου. *Περιοδικό της Ελληνικής Κτηνιατρικής Εταιρίας*, 60,237-244

Κεφάλαιο 10

Σύνοψη

Στο κεφάλαιο αυτό γίνεται συνοπτική παρουσίαση των φυσικών και χημικών μεθόδων ευθανασίας, των μηχανισμών ευθανασίας και της διαχείρισης των νεκρών ζώων εργαστηρίου, σύμφωνα με την ισχύουσα εθνική κτηνιατρική και ιατρική νομοθεσία.

Προαπαιτούμενη γνώση

Βασικές γνώσεις ανατομίας.

10 ΕΥΘΑΝΑΣΙΑ

Ως «ευθανασία» ορίζεται ο τερματισμός της ζωής ενός ζώου με τέτοιον τρόπο, ώστε να ελαχιστοποιείται ο πόνος και η ταλαιπωρία του. Εφαρμόζεται ως τελευταία λύση για την αντιμετώπιση του πόνου και της ταλαιπωρίας ενός ζώου ή στο τέλος μιας πειραματικής διαδικασίας, όταν οι συνθήκες δεν είναι πλέον συμβατές με τη ζωή ή απαιτείται η λήψη ζωτικών οργάνων. Μια μέθοδος ευθανασίας είναι σημαντικό να εξασφαλίζει γρήγορη και μη αναστρέψιμη κατάργηση της συνείδησης, ενώ ο χρόνος μέχρι την επίτευξη θανάτου έχει μικρότερη σημασία (Υψηλάντης, 2009).

Η αξιολόγηση μιας μεθόδου ευθανασίας βασίζεται στα παρακάτω κριτήρια (Leary et al., 2020):

1. Ικανότητα να οδηγεί σε απώλεια συνείδησης και θάνατο, με την πρόκληση ελάχιστου πόνου και ταλαιπωρίας.
2. Χρόνος που απαιτείται για να προκαλέσει απώλεια συνείδησης.
3. Αξιοπιστία.
4. Ασφάλεια του προσωπικού που τη διενεργεί.
5. Μη αναστρεψιμότητα.
6. Συμβατότητα με τον σκοπό χρήσης του ζώου.
7. Τεκμηριωμένη συναισθηματική επίδραση στον εκτελεστή και αυτούς που παρακολουθούν.
8. Συμβατότητα με την εκτίμηση, εξέταση και χρήση των ιστών του ζώου.
9. Διαθεσιμότητα των φαρμάκων που θα χρησιμοποιηθούν και πιθανότητα εθισμού.
10. Συμβατότητα με το είδος, την ηλικία και την κατάσταση υγείας.
11. Ικανότητα διατήρησης σε σωστή λειτουργία του εξοπλισμού που χρησιμοποιείται.
12. Νομικές απαιτήσεις.
13. Επίπτωση στο περιβάλλον από τη διάθεση των ζωικών αποβλήτων.

10.1. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΖΩΟΥ

Το ζώο στο οποίο πρόκειται να γίνει ευθανασία μεταφέρεται σε ιδιαίτερο θάλαμο, μακριά από τα υπόλοιπα ζώα. Οι χειρισμοί που γίνονται θα πρέπει να είναι ήπιοι.

10.2. ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΥΘΑΝΑΣΙΑΣ

Οι αποδεκτές μέθοδοι ευθανασίας μπορούν να χωριστούν σε φυσικές και χημικές.

10.2.1. Φυσικές μέθοδοι

Στις φυσικές μεθόδους ευθανασίας περιλαμβάνονται η εκτινασόμενη διατρητική ράβδος, ο πυροβολισμός, η εξάρθρωση του τραχήλου, ο αποκεφαλισμός και η ηλεκτροπληξία (Leary et al., 2020). Οι φυσικές μέθοδοι ευθανασίας, όταν εφαρμόζονται από εκπαιδευμένο προσωπικό, με τον κατάλληλο εξοπλισμό, προκαλούν λιγότερο φόβο, άγχος και πόνο, είναι πιο σύντομες στην εκτέλεσή τους, λιγότερο βαύνασες και πιο πρακτικές συγκριτικά με άλλες μεθόδους.

1. Εκτινασόμενη διατρητική ράβδος. Εκτελείται με τη βοήθεια συσκευής από την οποία εκτινάσσεται μεταλλική ράβδος (Εικόνα 10.1), που σημαδεύει κατάλληλο σημείο του κρανίου, ώστε να προκληθεί διάσειση και τραυματισμός των εγκεφαλικών ημισφαιρίων και του στελέχους του εγκεφάλου. Προκαλεί απώλεια συνείδησης και θάνατο. Προϋποθέτει

κατάλληλη συγκράτηση του ζώου. Χρησιμοποιείται για την ευθανασία μηρυκαστικών, αλόγων, χοίρων, κουνελιών και ερπετών.



Εικόνα 10.1 Συσκευή εκτινασόμενης διατηρητικής ράβδου.

2. Πυροβολισμός. Ο πυροβολισμός της κεφαλής προκαλεί άμεση απώλεια αισθήσεων και θάνατο. Εφαρμόζεται σε εξωτερικό χώρο από προσωπικό εκπαιδευμένο στη χρήση όπλων. Εναλλακτικά, μπορεί να διενεργηθεί στην καρδιά ή τον τράχηλο.
3. Εξάρθρωση του τραχήλου. Εφαρμόζεται για την ευθανασία μικρών πτηνών, ορνίθων, μυών, επιμύων <1 kg και κουνελιών <1 kg. Στους μυς και στους επίμυς, τοποθετείται ο αντίχειρας και ο δείκτης εκατέρωθεν του τραχήλου, στη βάση του κρανίου (Εικόνα 10.2A), ή μια ράβδος πιέζει τη βάση του κρανίου (Εικόνα 10.2B). Με το άλλο χέρι έλκονται απότομα η ουρά ή τα οπίσθια άκρα, ώστε προκαλείται αποκόλληση των τραχηλικών σπονδύλων από το κρανίο. Στα μικρά κουνέλια, με το ένα χέρι συγκρατείται η κεφαλή και με το άλλο τα οπίσθια άκρα. Το ζώο τεντώνεται και προκαλείται υπερέκταση κεφαλής, ενώ στρίβεται ραχιαίως η κεφαλή, προκειμένου να αποκολληθεί ο πρώτος τραχηλικός σπόνδυλος από το κρανίο. Στις όρνιθες και τα άλλα πτηνά, συλλαμβάνονται με το ένα χέρι τα άκρα ή η βάση των περύγων και ο τράχηλος στρίβει εκτείνοντας την κεφαλή, καθώς ασκείται κοιλιοπλάγια έλξη στην κεφαλή. Έχει διαπιστωθεί στους επίμυς ότι η ηλεκτρική δραστηριότητα του εγκεφάλου διατηρείται για 13 sec μετά την εφαρμογή της μεθόδου.

(A)



(B)



Εικόνα 10.2 Εξάρθρωση του τραχήλου στον μυ (A) με τα δάκτυλα και (B) με ράβδο (Anonymous, 2021).

4. Αποκεφαλισμός. Χρησιμοποιείται στα πτηνά και τα τρωκτικά, με τη βοήθεια ειδικά κατασκευασμένης συσκευής αποκεφαλισμού (Εικόνα 10.3). Αν και έχει βρεθεί ότι η ηλεκτρική δραστηριότητα του εγκεφάλου διατηρείται για 13-14 sec μετά τον αποκεφαλισμό, η απώλεια της συνείδησης και της αίσθησης του πόνου είναι ταχεία.



Εικόνα 10.3 Συσκευή αποκεφαλισμού.

5. Ηλεκτροπληξία. Η ηλεκτροπληξία με τη διέλευση εναλλασσόμενου ρεύματος από το σώμα χρησιμοποιείται για την ευθανασία μικρών και μεγάλων μηρυκαστικών, χοίρων, ορνίθων, μινκ, σκύλων, γατών, κουναβιών, αλεπούδων, κουνελιών, πτηνών, αμφίβιων και ψαριών. Προκαλεί θάνατο μετά από καρδιακή μαρμαρυγή, η οποία οδηγεί σε εγκεφαλική υποξία. Η απώλεια της συνείδησης λαμβάνει χώρα 15-30 sec μετά την έναρξη της μαρμαρυγής. Πριν από την εφαρμογή της ηλεκτροπληξίας, είναι σημαντικό τα ζώα να παρουσιάσουν απώλεια συνείδησης ή να μη νιώθουν πόνο. Η απώλεια της συνείδησης μπορεί να προκληθεί με άλλη μέθοδο, όπως η διέλευση ηλεκτρικού ρεύματος από τον εγκέφαλο. Με την εφαρμογή της τελευταίας, το ζώο εκδηλώνει γενικευμένη τονικοκλονική επιληπτική κρίση.

Υπάρχουν 3 ειδών τεχνικές ηλεκτροπληξίας: αυτή που αφορά μόνο την κεφαλή, 1 σταδίου: από την κεφαλή προς τον κορμό, και 2 σταδίων: κεφαλής και κορμού. Στην ηλεκτροπληξία της «κεφαλής», το ηλεκτρικό ρεύμα διέρχεται από την κεφαλή και προκαλεί επιληπτική κρίση, η οποία οδηγεί σε απώλεια συνείδησης για 15-30 sec, αλλά δεν προκαλεί καρδιακή μαρμαρυγή. Γι' αυτό, ακολουθείται από μια δευτερεύουσα μέθοδο για την πρόκληση θανάτου, όπως πρόκληση καρδιακής μαρμαρυγής μετά από ηλεκτροπληξία, αφαιμάξη κ.λπ. Στην τεχνική «1 σταδίου: από την κεφαλή προς τον κορμό», το ηλεκτρικό ρεύμα διέρχεται ταυτόχρονα από τον εγκέφαλο και την καρδιά, προκαλώντας ταυτόχρονα γενικευμένη επιληπτική κρίση και καρδιακή ανακοπή. Στην τεχνική «2 σταδίων: κεφαλής και κορμού», αρχικά διέρχεται ηλεκτρικό ρεύμα από την κεφαλή, για να προκαλέσει απώλεια συνείδησης, και στη συνέχεια άλλο ηλεκτρικό ρεύμα διέρχεται είτε από τα πλάγια του κορμού είτε από το στήθος του ζώου, για να προκαλέσει καρδιακή ανακοπή.

10.2.2. Χημικές μέθοδοι

Στις χημικές μεθόδους ευθανασίας περιλαμβάνονται η χορήγηση ουσιών εισπνευστικών, ενέσιμων και απορροφήσιμων από το δέρμα και τους βλεννογόνους (Leary et al., 2020).

1. Εισπνευστικές ουσίες. Χρησιμοποιούνται είτε πτητικές ουσίες που εξαερώνονται είτε αέριες. Η χορήγηση γίνεται είτε με διοχέτευσή τους σε ειδικούς θαλάμους όπου τοποθετείται το ζώο είτε διαμέσου κυκλωμάτων εισπνευστικής αναισθησίας. Εφαρμόζεται σε μικρόσωμα ζώα, όπως πτηνά, τρωκτικά, γάτες και μικρούς σκύλους. Οι ουσίες που επιλέγονται δεν θα πρέπει να είναι ερεθιστικές για τις αεροφόρες οδούς ούτε να προκαλούν σπασμούς πριν από την απώλεια της συνείδησης. Χρησιμοποιούνται το διοξείδιο του άνθρακα (σε αργή, αυξανόμενη συγκέντρωση που φτάνει >70%), το μονοξείδιο του άνθρακα, το άζωτο, το αργό και τα πτητικά εισπνευστικά αναισθητικά (αλοθάνιο, μεθοξυφλουράνιο, ενφλουράνιο, ισοφλουράνιο, σεβοφλουράνιο, δεσφλουράνιο) σε υψηλή συγκέντρωση.
2. Ενέσιμες ουσίες. Χρησιμοποιούνται ενέσιμα γενικά αναισθητικά και σκευάσματα με συνδυασμό ουσιών με αναισθητική και μυοχαλαρωτική δράση. Η δόση χορήγησης των αναισθητικών είναι από διπλάσια έως τετραπλάσια εκείνης που συνιστάται για την πρόκληση αναισθησίας. Ουσίες που χρησιμοποιούνται συνήθως είναι:
 1. Βαρβιτουρικά (πεντοβαρβιτάλη, θειοπεντάλη κ.λπ.). Προκαλούν καταστολή του ΚΝΣ καθώς και καρδιακή και αναπνευστική ανακοπή. Χορηγούνται διαμέσου της

- ενδοφλέβιας ή της ενδοπεριτοναϊκής οδού. Η πεντοβαρβιτάλη μπορεί να συνδυαστεί με κατασταλτικά του ΚΝΣ, όπως φαινυτοΐνη και αιθανόλη.
2. Διαχωριστικές ουσίες και αναστολείς των α₂-υποδοχέων. Ο συνδυασμός κεταμίνης-ξυλαζίνης χορηγείται πριν από τη χορήγηση άλλων ουσιών για την ευθανασία, καθότι μειώνει το στρες του ζώου και διευκολύνει τη συγκράτησή του. Σε υπερδοσολογία, το σχήμα προκαλεί θάνατο. Χορηγείται ενδομυϊκά ή ενδοπεριτοναϊκά.
 3. T-61. Το σκεύασμα αυτό περιέχει συνδυασμό τοπικού αναισθητικού (υδροχλωρική τετρακαΐνη), υπνωτικής ουσίας (εμβουτραμίδη) και μυοχαλαρωτικού (μεβοζόδιο). Χορηγείται με αργή ενδοφλέβια έγχυση.
 4. Τριβουτάμη. Το σκεύασμα αυτό περιέχει εμβουτραμίδη, φωσφορική χλωροκίνη και ξυλοκαΐνη και χορηγείται ενδοφλέβια για την ευθανασία σκύλων. Η χλωροκίνη προκαλεί καταστολή του καρδιαγγειακού συστήματος.
 5. Αλκοόλες. Η αιθανόλη, χορηγούμενη ενδοπεριτοναϊκά, προκαλεί ευθανασία σε μυσ ηλικίας >35 ημερών και σε επίμυς.
3. Ουσίες που απορροφώνται από το δέρμα και τα βράγχια υδρόβιων ζώων. Χρησιμοποιούνται για την ευθανασία ψαριών και αμφιβίων. Σε αυτές περιλαμβάνονται η βενζοκαΐνη, η θειούχος τρικαΐνη, η ετομιδάτη, η μετομιδάτη και η κουϊναλδίνη. Προστίθενται, μετά από διάλυσή τους, στο νερό της δεξαμενής. Δρουν καταστέλλοντας το ΚΝΣ.
 4. Ουσίες που απορροφώνται από τους βλεννογόνους. Πολύ ισχυρά οπιοειδή. Σε αυτά ανήκουν η υδροχλωρική ετορφίνη και η καρφεντανίλη. Χρησιμοποιούνται για την ακινητοποίηση ή/και την ευθανασία ζώων της άγριας φύσης.

10.2.3. Μέθοδοι ευθανασίας για ζώα με απώλεια συνείδησης

Στις μεθόδους οι οποίες δεν θεωρούνται αποδεκτές ως πρωταρχικές μέθοδοι για τη διενέργεια ευθανασίας, αλλά μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε ζώα που έχουν χάσει τις αισθήσεις τους, περιλαμβάνονται η καταστροφή του εγκεφάλου με βελόνα, η ταχεία κατάψυξη, η αφαιμάξη, η χορήγηση ένυδρης χλωράλης, η χορήγηση χλωριούχου καλίου και ο εμβολισμός αέρα (Leary et al., 2020).

1. Καταστροφή του εγκεφάλου με βελόνα. Εφαρμόζεται στα ψάρια, τα αμφίβια και τα ερπετά. Στα βατράχια μπορεί να εφαρμοστεί η μέθοδος χωρίς να προηγηθεί κάποια άλλη διαδικασία.
2. Ταχεία κατάψυξη. Πραγματοποιείται η εμβύθιση του ζώου σε υγρό άζωτο. Εφαρμόζεται στις περιπτώσεις όπου επιζητείται η ελαχιστοποίηση της ενζυμικής δραστηριότητας, π.χ. όταν ακολουθεί βιοχημική ανάλυση ιστών. Η μέθοδος εφαρμόζεται μόνο σε αναισθητοποιημένα ζώα. Εξαιρεση αποτελούν τα μικρά ερπετά, τα αμφίβια και τα νεογνά τρωκτικών ηλικίας <5 ημερών, στα οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πρωταρχική μέθοδος ευθανασίας.
3. Αφαιμάξη.
4. Χορήγηση ένυδρης χλωράλης. Πραγματοποιείται με ενδοφλέβια χορήγηση, κυρίως σε μεγάλα θηλαστικά.
5. Χορήγηση χλωριούχου καλίου. Πραγματοποιείται ενδοκαρδιακά ή ενδοφλέβια. Έχει καρδιοτοξική δράση.
6. Εμβολισμός αέρα. Γίνεται ενδοφλέβια έγχυση αέρα σε δόση 5-10 mL / kg ΣΒ.

Οι αποδεκτές ανά είδος ζώου μέθοδοι ευθανασίας, σύμφωνα με την ελληνική νομοθεσία, συνοψίζονται στον Πίνακα 10.1 (Ανώνυμος, 2016). Μέθοδοι διαφορετικές από τις μεθόδους του Πίνακα 10.1 επιτρέπεται να χρησιμοποιούνται σε αναισθητά ζώα, εφόσον το ζώο δεν ανακτά τις αισθήσεις του πριν από τον θάνατο. Επιπλέον, σε ζώα που χρησιμοποιούνται για γεωργική έρευνα, όταν ο σκοπός της μελέτης απαιτεί τα ζώα να στεγάζονται υπό συνθήκες παρόμοιες με εκείνες υπό τις οποίες στεγάζονται τα ζώα εμπορικού αγροκτήματος, επιτρέπεται να θανατώνονται, σύμφωνα με τις απαιτήσεις του Παραρτήματος Ι του Κανονισμού (ΕΚ) υπ. αριθμ. 1099/2009 του Συμβουλίου της 24ης Σεπτεμβρίου 2009 για την προστασία των ζώων κατά τη θανάτωσή τους (Ανώνυμος, 2009).

10.3. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΕΥΘΑΝΑΣΙΑΣ

Οι μέθοδοι ευθανασίας μπορούν να προκαλέσουν θάνατο μέσω 3 βασικών μηχανισμών: α) άμεση καταστολή των νευρώνων που είναι απαραίτητοι για τη ζωή, β) υποξία ή γ) φυσική διακοπή της

εγκεφαλικής δραστηριότητας (Leary et al., 2020). Είναι σημαντικό η ευθανασία να ελαχιστοποιεί ή να εξαλείφει τον πόνο, το άγχος και την ταλαιπωρία του ζώου, πριν από την απώλεια της συνείδησης. Η απώλεια συνείδησης θα πρέπει να προηγείται της απώλειας μυϊκής κινητικότητας. Ίδεωδώς, οι μέθοδοι ευθανασίας θα πρέπει να προκαλούν ταχεία απώλεια συνείδησης, ακολουθούμενη από καταστολή της αναπνευστικής και της καρδιακής λειτουργίας και, τελικά, απώλεια εγκεφαλικής λειτουργίας.

Η υποξία συνήθως επιτυγχάνεται με την έκθεση των ζώων σε αέρια που αντικαθιστούν το οξυγόνο στο αίμα, όπως το διοξείδιο του άνθρακα, το άζωτο και το αργό, ή με έκθεσή τους σε ατμόσφαιρα μονοξειδίου του άνθρακα, το οποίο μπλοκάρει την πρόσληψη οξυγόνου από τα ερυθρά αιμοσφαίρια. Η αφαιμάξη επίσης οδηγεί εμμέσως σε υποξία και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να διασφαλιστεί η θανάτωση σε ένα ζώο που δεν έχει συνείδηση ή που είναι ετοιμοθάνατο. Μερικά ζώα μπορεί να εκδηλώσουν μυϊκή δραστηριότητα ή σπασμούς μετά την απώλεια συνείδησης λόγω υποξίας. Ωστόσο, αυτό θεωρείται αντανάκλαστική αντίδραση και δεν την αντιλαμβάνεται το ζώο.

Η φυσική διακοπή της εγκεφαλικής λειτουργίας μπορεί να επιτευχθεί μέσω α) διάσεισης από χτύπημα στο κρανίο, β) άμεσης καταστροφής του εγκεφάλου με τη βοήθεια πιστολιού με εκτινασόμενη ράβδο ή σφαίρα ή γ) εκπόλωσης των εγκεφαλικών νευρώνων μετά από ηλεκτροπληξία. Ο θάνατος επέρχεται γρήγορα, όταν καταστέλλονται τα κέντρα ελέγχου της αναπνευστικής και καρδιακής λειτουργίας στον μεσεγκέφαλο. Την απώλεια συνείδησης μπορεί να ακολουθήσουν σπασμοί και έντονη μυϊκή δραστηριότητα. Οι μέθοδοι αυτές συχνά ακολουθούνται από αφαιμάξη.

10.3.1. Επιβεβαίωση του θανάτου

Μετά την εκτέλεση μιας μεθόδου ευθανασίας, θα πρέπει να επιβεβαιώνεται ο θάνατος με συνδυασμό κριτηρίων, όπως α) έλλειψη σφυγμού, αναπνευστικών κινήσεων, αντανάκλαστικού του κερατοειδούς και ποδικού αντανάκλαστικού, β) απουσία αναπνευστικών και καρδιακών ήχων σε ακρόαση με στηθοσκόπιο, γ) ωχρότητα βλεννογόνων και δ) νεκρική ακαμψία. Πέραν της νεκρικής ακαμψίας, κανένα από τα παραπάνω κριτήρια από μόνο του δεν επαρκεί για την επιβεβαίωση του θανάτου.

10.4. ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΤΩΝ ΝΕΚΡΩΝ ΖΩΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ

Η διάθεση των νεκρών ζώων εργαστηρίου που προκύπτουν από τους πειραματισμούς αποτελεί ευθύνη των υπεύθυνων των εγκαταστάσεων εκτροφής ή πειραματισμού και θα πρέπει να γίνεται με τέτοιο τρόπο, ώστε να τηρούνται οι οριζόμενες από τον νόμο διατάξεις. Το νομοθετικό πλαίσιο που αφορά τη διαχείριση των νεκρών ζώων εργαστηρίου εμπίπτει α) στην κτηνιατρική νομοθεσία διαχείρισης ζωικών υποπροϊόντων και β) στην υγειονομική-περιβαλλοντική νομοθεσία διαχείρισης ιατρικών αποβλήτων.

10.4.1. Κτηνιατρική νομοθεσία

Ολόκληρα νεκρά ζώα εργαστηρίου και οι ιστοί αυτών θεωρούνται ζωικά υποπροϊόντα και η διαχείρισή τους ορίζεται από τη σχετική εθνική νομοθεσία (Ανώνυμος, 2014, 2020), η οποία είναι εναρμονισμένη με τους αντίστοιχους Ευρωπαϊκούς Κανονισμούς (Ανώνυμος, 2009α, 2011). Η κατηγοριοποίηση των ζωικών υποπροϊόντων (1 έως 3) γίνεται ανάλογα με το είδος του ζώου και το πειραματικό πρωτόκολλο στο οποίο χρησιμοποιείται, με κριτήριο τους κινδύνους υγείας που ενδέχεται να δημιουργηθούν στους ανθρώπους ή σε άλλα ζώα. Η αρμόδια Αρχή είναι υπεύθυνη για την κατηγοριοποίηση, με βάση στοιχεία που της παρέχουν οι ερευνητές στη φάση της αδειοδότησης των πειραματικών πρωτοκόλλων:

Κατηγορία 1: νεκρά ζώα εργαστηρίου που έχουν υποβληθεί σε μη επιτρεπόμενη αγωγή ή ενέχουν σοβαρό κίνδυνο υγείας για τον άνθρωπο ή άλλα ζώα, επειδή περιέχουν ειδικό υλικό κινδύνου κατά τον χρόνο της απόρριψης (π.χ. επικίνδυνο μικροβιακό στέλεχος).

Κατηγορία 2: νεκρά ζώα εργαστηρίου για τα οποία δεν υπάρχει σοβαρός κίνδυνος δημόσιας υγείας και δεν περιέχουν υλικά ειδικού κινδύνου (χοίροι, πτηνά).

Κατηγορία 3: νεκρά ζώα εργαστηρίου, όπως τρωκτικά και λαγόμορφα, για τα οποία δεν υπάρχει σοβαρός κίνδυνος δημόσιας υγείας και είναι υγιή.

Στην περίπτωση που δεν έχει γίνει κατηγοριοποίηση, τα ζωικά υποπροϊόντα κατατάσσονται στην κατηγορία 1.

Σε κάθε περίπτωση, ολόκληρα νεκρά ζώα ή ιστοί αυτών συλλέγονται και σφραγίζονται σε συσκευασίες ή περιέκτες, στους οποίους αναγράφεται σε ετικέτα ότι πρόκειται για ζωικό υποπροϊόν και η κατηγορία του. Μετά τη συσκευασία τους και εφόσον δεν απομακρυνθούν αυθημερόν, αποθηκεύονται υπό ψύξη ή κατάψυξη, μέχρι την αποκομιδή τους.

Η περαιτέρω διαχείρισή τους είναι ανάλογη με την κατηγορία στην οποία έχουν καταταχθεί και μπορεί να αφορά υγειονομική ταφή με ή χωρίς προηγούμενη μεταποίησή τους με αποστείρωση υπό πίεση, αποτέφρωση με ή χωρίς προηγούμενη μεταποίηση, συναποτέφρωση με ή χωρίς προηγούμενη μεταποίηση κ.λπ. Η συνήθης τελική διάθεση αφορά αποτέφρωση σε εγκεκριμένες για τον σκοπό αυτόν αδειοδοτημένες εγκαταστάσεις. Τη μεταφορά, μεταποίηση και τελική διάθεση των ζωικών υποπροϊόντων αναλαμβάνουν ειδικές μονάδες διαχείρισης ζωικών υποπροϊόντων.

Η μεταφορά τους σε εγκεκριμένες εγκαταστάσεις διαχείρισης ζωικών υποπροϊόντων γίνεται υπό ψύξη, με κατάλληλα διαμορφωμένα οχήματα. Για τη δυνατότητα ελέγχου του ορθού της διαδικασίας και την τήρηση της αρχής της ιχνηλασιμότητας, συμπληρώνονται τα ακόλουθα έγγραφα: α) μητρώο ημερήσιας κατάστασης εισερχόμενων προϊόντων και εξερχόμενων ζωικών υποπροϊόντων, το οποίο τηρείται από τη μονάδα παραγωγής των υποπροϊόντων, β) μητρώο αποστολών ζωικών υποπροϊόντων, το οποίο τηρείται από τη μονάδα παραγωγής των υποπροϊόντων, και γ) εμπορικό συνοδευτικό έγγραφο, το οποίο συνυπογράφεται από τον μεταφορέα.

10.4.2. Νομοθεσία διαχείρισης ιατρικών αποβλήτων

Η διαχείριση των νεκρών ζώων εργαστηρίου εμπίπτει και στη νομοθεσία διαχείρισης ιατρικών αποβλήτων (Ανώνυμος, 2012α). Σύμφωνα με αυτήν, τα πτώματα ζώων εργαστηρίου ανήκουν στην κατηγορία «Μικτών Επικίνδυνων Αποβλήτων» (ΜΕΑ). Αυτά τοποθετούνται σε διακριτούς περιέκτες κατάλληλου υλικού, κόκκινου χρώματος, με τη σήμανση «Επικίνδυνα Απόβλητα» (ΜΕΑ), οι οποίοι σφραγίζονται. Μέχρι την αποκομιδή τους, αποθηκεύονται σε ειδικούς ψυκτικούς θάλαμους. Στη συνέχεια, μεταφέρονται με ειδικά οχήματα υπό ψύξη σε αδειοδοτημένες μονάδες διαχείρισης ιατρικών αποβλήτων, όπου καταστρέφονται με αποτέφρωση. Για τη μεταφορά τους, συμπληρώνονται τα απαραίτητα συνοδευτικά έγγραφα (Ανώνυμος, 2012).

Πίνακας 10.1 Αποδεκτές μέθοδοι θανάτωσης ανά είδος ζώου (Ανώνυμος, 2016).

Ζώα- παρατηρήσεις-μέθοδοι	Ψάρι α	Αμφίβια	Ερπετά	Πτηνά	Τρωκτικά	Κουνέλια	Σκύλοι, γάτες, κουνάβια, αλεπούδες	Μεγάλα θηλαστικά	Πρωτεύοντα πλην ανθρώπου
Υπερδοσολογία αναισθητικού	✓ ⁽¹⁾	✓ ⁽¹⁾	✓ ⁽¹⁾	✓ ⁽¹⁾	✓ ⁽¹⁾	✓ ⁽¹⁾	✓ ⁽¹⁾	✓ ⁽¹⁾	✓ ⁽¹⁾
Πιστόλι διατρητικής ράβδου	-	-	✓ ⁽²⁾	-	-	✓	-	✓	-
Διοξειδίο του άνθρακα	-	-	-	✓	✓ ⁽³⁾	-	-	-	-
Εξάρθρωση του αυχένα	-	-	-	✓ ⁽⁴⁾	✓ ⁽⁵⁾	✓ ⁽⁶⁾	-	-	-
Διάσειση/πλήγμα στο κρανίο με κρούση	✓	✓	✓	✓ ⁽⁷⁾	✓ ⁽⁸⁾	✓ ⁽⁹⁾	✓ ⁽¹⁰⁾	-	-
Αποκεφαλισμός	-	-	-	✓ ⁽¹¹⁾	✓ ⁽¹²⁾	-	-	-	-
Ηλεκτρική αναισθητοποίηση	✓ ⁽¹³⁾	✓ ⁽¹³⁾	-	✓ ⁽¹³⁾	-	✓ ⁽¹³⁾	✓ ⁽¹³⁾	✓ ⁽¹³⁾	-
Αδρανή αέρια (Ar, N ₂)	-	-	-	✓	✓	-	-	✓ ⁽¹⁴⁾	-
Πυροβολισμός που πλήττει τον εγκέφαλο με κατάλληλο πυροβόλο όπλο, πιστόλι και πυρομαχικά	-	-	✓ ⁽¹⁵⁾	-	-	-	✓ ⁽¹⁶⁾	✓ ⁽¹⁵⁾	-

(1) Χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με ήπια καταστολή του ζώου, ανάλογα με την περίπτωση.

(2) Μόνο σε μεγάλα ερπετά.

(3) Μόνο με σταδιακή πλήρωση. Δεν πρέπει να χρησιμοποιείται σε εμβρυακά και νεογέννητα τρωκτικά.

(4) Μόνο σε πτηνά >1 kg. Πτηνά >250 g πρέπει να αναισθητοποιούνται.

(5) Μόνο σε τρωκτικά <1 kg. Τρωκτικά >150 g πρέπει να αναισθητοποιούνται.

(6) Μόνο σε κουνέλια <1 kg. Κουνέλια >150 g πρέπει να αναισθητοποιούνται.

(7) Πτηνά <5 kg.

(8) Τρωκτικά <1 kg.

(9) Κουνέλια <5 kg.

(10) Μόνο σε νεογνά.

(11) Μόνο σε πτηνά <250 g.

(12) Μόνο εφόσον δεν είναι δυνατή η χρήση άλλων μεθόδων.

(13) Απαιτείται ειδικός εξοπλισμός.

(14) Μόνο σε χοίρους.

(15) Μόνο σε επιτόπιες συνθήκες από έμπειρο σκοπευτή.

(16) Μόνο σε επιτόπιες συνθήκες από έμπειρο σκοπευτή, όταν δεν είναι δυνατή η χρήση άλλων μεθόδων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Anonymous. (2021). AVMA guidelines for the euthanasia of animals: 2013 edition. <https://slidetodoc.com/co-euthanasia-procedure-october-2013-avma-guidelines-for/>
- Leary, S., et al. (2020). AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition. (2021). <https://www.avma.org/sites/default/files/2020-02/Guidelines-on-Euthanasia-2020.pdf>
- Ανώνυμος. (2009). Κανονισμός 1099/2009 του Συμβουλίου, της 24ης Σεπτεμβρίου 2009 «για την προστασία των ζώων κατά τη θανάτωσή τους» (L303/1/18-11-2009)
- Ανώνυμος. (2009α). Κανονισμός 1069/2009 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 21ης Οκτωβρίου 2009 «περί υγειονομικών κανόνων για ζωικά υποπροϊόντα και παράγωγα προϊόντα που δεν προορίζονται για κατανάλωση από τον άνθρωπο και για την κατάργηση του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 1774/2002» (L301/1/14-11-2009)
- Ανώνυμος. (2011). Καν. (ΕΕ) αριθ.142/2011 για την εφαρμογή του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 1069/2009 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου «περί υγειονομικών κανόνων για ζωικά υποπροϊόντα και παράγωγα προϊόντα που δεν προορίζονται για κατανάλωση από τον άνθρωπο και για την εφαρμογή της οδηγίας 97/78/ΕΚ του Συμβουλίου όσον αφορά ορισμένα δείγματα και τεμάχια που εξαιρούνται από κτηνιατρικούς ελέγχους στα σύνορα, οι οποίοι αναφέρονται στην εν λόγω οδηγία» (L54/1/26-2-2011)
- Ανώνυμος. (2012). Κοινή Υπουργική Απόφαση 146163 (ΦΕΚ 1537 Β'/8-5-2012) «Μέτρα και Όροι για τη Διαχείριση Αποβλήτων Υγειονομικών Μονάδων»
- Ανώνυμος. (2012α). ΚΥΑ 146163 «Μέτρα και Όροι για τη Διαχείριση Αποβλήτων Υγειονομικών Μονάδων» (ΦΕΚ 1537 Β'/8-5-2012)
- Ανώνυμος. (2014). ΥΑ Αριθμ. 236/47755. «Θέσπιση προγραμμάτων διαχείρισης νεκρών ζώων σύμφωνα με τις απαιτήσεις του Κανονισμού (ΕΚ) 1069/ 2009» (ΦΕΚ 916/Β' 11.4.2014)
- Ανώνυμος. (2016). ΥΑ 2416/83725. Τροποποίηση του Παραρτήματος IV του ΠΔ 56/2013 «Προσαρμογή της ελληνικής νομοθεσίας στην Οδηγία 2010/63/ΕΕ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 22ας Σεπτεμβρίου 2010 (L 276/33/20.10.2010) σχετικά με την προστασία των ζώων που χρησιμοποιούνται για επιστημονικούς σκοπούς (A106)» (ΦΕΚ 2323 Β'/27-7-2016)
- Ανώνυμος. (2020). Υπουργική Απόφαση 612/118658 (ΦΕΚ 1983 Β'/23-5-20) «Καθορισμός των αναγκαίων συμπληρωματικών μέτρων για την εφαρμογή των κανονισμών (ΕΚ) αριθ. 1069/2009 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου (ΕΕ L 300, 14.11.2009, σ.1) και (ΕΕ) αριθ. 142/2011 της Επιτροπής (ΕΕ L 054, 26.2.2011, σελ. 1)»
- Υψηλάντης, Π. (2009). Αντιμετώπιση του πόνου – εκτίμηση τελικού σημείου – επιλογές ευθανασίας ζώων εργαστηρίου. *Περιοδικό της Ελληνικής Κτηνιατρικής Εταιρείας*: 60,237-244

Κεφάλαιο 11

Σύνοψη

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται τα βασικά στοιχεία ενός προγράμματος ελέγχου της υγείας των ζώων εργαστηρίου μιας εγκατάστασης εκτροφής καθώς και οι μέθοδοι εκρίζωσης ενός λοιμώδους παράγοντα, σύμφωνα με τις οδηγίες της Ομοσπονδίας Ευρωπαϊκών Εργαστηρίων των Επιστημών των Ζώων Εργαστηρίου (FELASA). Τέλος, παρουσιάζονται σε πίνακες οι λοιμώδεις παράγοντες που προτείνεται να ελέγχονται ανά είδος ζώου.

Προαπαιτούμενη γνώση

Βασικές γνώσεις μικροβιολογίας.

11 ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΥΓΕΙΑΣ ΤΩΝ ΖΩΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ

Τα ζώα που εκτρέφονται προκειμένου να χρησιμοποιηθούν σε πειραματισμούς διατρέχουν τον κίνδυνο να προσβληθούν από διάφορα νοσήματα, με κλινική ή υποκλινική εκδήλωση. Η μικροβιολογική κατάσταση των ζώων επηρεάζει άμεσα τόσο την ευζωία τους όσο και τα πειραματικά δεδομένα. Έτσι, μπορεί να επηρεαστεί ένα μεγάλο εύρος βιοχημικών, αιματολογικών και ενζυμικών παραμέτρων, η ταχύτητα ανάπτυξης των ζώων, το σχετικό βάρος των οργάνων τους, η συμπεριφορά τους, η ανοσολογική τους απόκριση, η αναπαραγωγική τους δραστηριότητα, η νεογνική θνησιμότητα κ.λπ. Η παρουσία μικροοργανισμών μπορεί να οδηγήσει σε ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις σε όργανα στα οποία πρόκειται να γίνει δειγματοληψία ή σε μόλυνση βιολογικών υλικών, με συνέπεια την αλλοίωση των αποτελεσμάτων κυτταροκαλλιιεργειών, ιστοκαλλιιεργειών, ιστών ή οργάνων προς μεταμόσχευση, εμβρύων, γαμετών, ορών κ.λπ. Σε μελέτες στις οποίες επιδιώκεται η πειραματική μόλυνση με κάποιον μικροοργανισμό ή σε εκείνες όπου χρησιμοποιούνται αδρανοποιημένα βακτήρια για την επαγωγή μιας ανοσολογικής απόκρισης είναι σημαντικό να μην προϋπάρχουν οι υπό μελέτη μικροοργανισμοί. Μολύνσεις μπορεί να οδηγήσουν σε καρκινογένεση ή να μειώσουν την πιθανότητα αυτής. Επιπλέον, υπάρχει ο κίνδυνος μετάδοσης ζωανθρωπινόσων (Hansen, 1994, 2011, Märhler et al., 2014).

Η χρήση ζώων των οποίων η υγεία έχει ελεγχθεί πριν από τη διενέργεια πειραματισμών έχει ως σκοπό α) την εξαγωγή αξιόπιστων και επαναλήψιμων πειραματικών δεδομένων, β) τη μείωση του κινδύνου μετάδοσης ζωανθρωπινόσων, γ) τη μείωση του κινδύνου μετάδοσης νοσημάτων μεταξύ των ζώων, δ) τη μείωση του αριθμού των χρησιμοποιούμενων ζώων και ε) την αποφυγή πρόκλησης άσκοπης ταλαιπωρίας στα ζώα.

11.1. ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΑ ΕΛΕΓΧΟΥ ΤΗΣ ΥΓΕΙΑΣ ΤΩΝ ΖΩΩΝ

Σε κάθε εγκατάσταση εκτροφής ή χρήσης θα πρέπει να εφαρμόζεται ένα πρόγραμμα ελέγχου της υγείας των ζώων. Σε ό,τι αφορά την Ευρώπη, η FELASA έχει εκδώσει κατευθυντήριες οδηγίες σχετικά με τον έλεγχο της υγείας των ζώων εργαστηρίου σε εγκαταστάσεις εκτροφής και χρήσης για τρωκτικά και κουνέλια (Mähler et al., 2014), σκύλους, γάτες και χοίρους (Rehbinder et al., 1998), παραγωγικά ζώα (μόσχοι, πρόβατα, αίγες) (Rehbinder et al., 2000) και πρωτεύοντα πλην ανθρώπου (Weber et al., 1999).

Στον σχεδιασμό ενός προγράμματος ελέγχου υγείας λαμβάνονται υπόψη οι μικροβιολογικές μονάδες, τα είδη ζώων, η ανοσολογική τους κατάσταση, ο αριθμός ζώων σε κάθε μονάδα, η συχνότητα ελέγχου, τα ζώα από τα οποία θα γίνεται η δειγματοληψία των υλικών προς εξέταση, οι μικροοργανισμοί που θα ελεγχθούν, οι μέθοδοι ανάλυσης των δειγμάτων και το ιστορικό υγείας της εγκατάστασης. Βασικό ρόλο στον σχεδιασμό παίζει το επίπεδο κινδύνου μόλυνσης της μικροβιολογικής μονάδας. Παράγοντες που καθορίζουν το επίπεδο κινδύνου παρουσιάζονται στον Πίνακα 11.1.

Πίνακας 11.1 Παράγοντες που καθορίζουν το επίπεδο κινδύνου μόλυνσης μιας μικροβιολογικής μονάδας.

Παράγοντες υψηλού κινδύνου:

- Συχνή εισαγωγή ζώων (π.χ. >1 ζώο/μήνα).
- Γειτνίαση μικροβιολογικών μονάδων με διαφορετική μικροβιολογική κατάσταση.
- Εισαγωγή ζώων από διαφορετικές εγκαταστάσεις εκτροφής.
- Μεταφορά ζώων εκτός της μικροβιολογικής μονάδας και επιστροφή τους σε αυτές.
- Πρόσβαση εντόμων ή άγριων τρωκτικών στους θαλάμους ή τις αποθήκες τροφίμων και στρωμνής.
- Συχνή εισαγωγή βιολογικών υλικών προς χρήση σε πειραματισμούς.
- Ποικίλοι τύποι πειραματισμών.
- Συχνή είσοδος επιστημονικού προσωπικού στην εγκατάσταση.
- Συχνή αντικατάσταση του προσωπικού που περιποιείται τα ζώα.
- Κοινή χρήση εξοπλισμού στον οποίο δεν μπορεί να γίνει επαρκής αντισηψία.

Παράγοντες χαμηλού κινδύνου:

- «Κλειστές» εγκαταστάσεις εκτροφής.
- Εφαρμογή συστήματος ολικής αντικατάστασης των ζώων.
- Περιστασιακή εισαγωγή ζώων στην εγκατάσταση.
- Ένας ή λίγοι τύποι πειραματισμών.

Ένα πρόγραμμα ελέγχου υγείας περιλαμβάνει τον καθορισμό των μικροβιολογικών μονάδων, την επιλογή των λοιμωδών παραγόντων προς έλεγχο και τη συχνότητα ελέγχου τους, την επιλογή των ζώων προς έλεγχο, τη μεθοδολογία δειγματοληψίας των υλικών προς εξέταση, τη μεθοδολογία της ανάλυσης των δειγμάτων, την αναφορά των αποτελεσμάτων και την ερμηνεία αυτών.

11.1.1. Καθορισμός μικροβιολογικών μονάδων

Ως «μικροβιολογική μονάδα» ορίζεται η μικροβιολογικά αυτοδύναμη μονάδα με ξεχωριστό χώρο και κυκλοφορία ζώων, προσωπικού και υλικών. Ο καθορισμός των μικροβιολογικών μονάδων σε μια εγκατάσταση αποτελεί σημαντικό στάδιο του προγράμματος, καθότι με βάση αυτές θα καθοριστεί το πρόγραμμα δειγματοληψιών, η φύση και η συχνότητα των εξετάσεων και η ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Οι εγκαταστάσεις ζώων χωρίζονται σε μία ή περισσότερες μικροβιολογικές μονάδες. Παραδείγματα αυτών αναφέρονται στον Πίνακα 11.2. Ενδέχεται σε κάθε μικροβιολογική μονάδα να εφαρμόζεται διαφορετικό πρόγραμμα ελέγχου υγείας.

Πίνακας 11.2 Παραδείγματα μικροβιολογικών μονάδων.

- Μια εγκατάσταση με φραγμούς (με έναν ή περισσότερους θαλάμους), στην οποία υπάρχει ελεύθερη διακίνηση του προσωπικού, του εξοπλισμού και των ζώων σε κλουβιά ή στην οποία τα ζώα διατηρούνται σε κλουβιά ανοικτού τύπου.
- Ένας απομονωτήρας.
- Ένα κλουβί (π.χ. ένα κλουβί IVC, στο οποίο γίνονται χειρισμοί σε καμπίνα νηματικής ροής αέρα, με εφαρμογή αυστηρού υγειονομικού πρωτοκόλλου).

11.1.2. Επιλογή λοιμωδών παραγόντων προς έλεγχο και της συχνότητας ελέγχου τους

Η επιλογή των λοιμωδών παραγόντων προς έλεγχο καθορίζεται από την επίδραση που έχουν αυτοί στην υγεία των ζώων, την επίδρασή τους στα αποτελέσματα της έρευνας, την ειδικότητά τους ανάλογα με το είδος του ζώου, τον κίνδυνο για εκδήλωση ζωονοσήσου, τον επιπολασμό, παράγοντες που αφορούν τον ξενιστή (π.χ. την ανοσολογική του κατάσταση), την επιθυμητή μικροβιολογική κατάσταση της μονάδας και το ιστορικό της. Οι προτεινόμενοι παράγοντες και η συχνότητα ελέγχου τους ανά είδος ζώου παρουσιάζονται στον Πίνακα 11.3. Έλεγχος για επιπλέον οργανισμούς μπορεί να γίνει όταν υπάρχουν ενδείξεις από

αλλοιώσεις που θα διαπιστωθούν στη νεκροτομική ή/και ιστολογική εξέταση, όταν συνοδεύονται από κλινικά σημεία, όταν υπάρχει διαταραχή φυσιολογικών παραμέτρων ή της αναπαραγωγικής ικανότητας και όταν πρόκειται για ανοσοκατασταλμένα ζώα.

11.1.3. Επιλογή ζώων για έλεγχο

Για τον έλεγχο της υγείας των ζώων, προτιμάται να γίνεται δειγματοληψία σε ζώα της υπό έλεγχο μικροβιολογικής μονάδας. Επιπλέον των προγραμματισμένων για έλεγχο υγιών ζώων, γίνεται δειγματοληψία και σε ασθενή και νεκρά ζώα. Αν μια μονάδα απαρτίζεται από περισσότερους του ενός θαλάμους, τότε συστήνεται να γίνεται δειγματοληψία από ζώα όσο το δυνατό περισσότερων θαλάμων της μονάδας. Σε μια εγκατάσταση εκτροφής με τουλάχιστον 100 ζώα της ίδιας υποφυλής, που στεγάζονται σε συμβατικά κλουβιά ανοικτού τύπου (open top), ο αριθμός των απαραίτητων ζώων προς έλεγχο μπορεί να υπολογιστεί με βάση τον ακόλουθο μαθηματικό τύπο, γνωστό και ως τύπο ILAR (Dubin and Zietz, 1991):

$$\log 0,05 / \log N = \text{αριθμός απαιτούμενων ζώων}$$

όπου N= το % των μη μολυσμένων ζώων και 0,05 = 95% όριο εμπιστοσύνης.

Με την παραδοχή ότι:

1. και τα δύο φύλα έχουν μολυνθεί στον ίδιο βαθμό,
2. ο πληθυσμός της μονάδας αριθμεί >100 ζώα,
3. η δειγματοληψία τους είναι τυχαία,

έχουν αναπτυχθεί και άλλοι μαθηματικοί τύποι, με βάση τους οποίους μπορεί να υπολογιστεί ο απαραίτητος αριθμός ζώων προς έλεγχο της υγείας μιας αποικίας, όπως ο παρακάτω (Hansen, 2011):

$$(A) \text{ για αποικίες με λιγότερα από 1.000 ζώα: } S \geq \log C / \log(1 - (p * N_1))$$

$$(B) \text{ για αποικίες με περισσότερα από 1.000 ζώα: } S \geq (1 - C^{1/D}) * (T - ((D - 1) / 2))$$

όπου S= αριθμός ζώων προς δειγματοληψία

D= αριθμός μολυσμένων ζώων

T= ολικός αριθμός ζώων

N₁= αριθμός μολυσμένων ζώων που παρουσιάζουν αντίδραση στην εξέταση / συνολικός αριθμός μολυσμένων ζώων

p (εκτιμώμενος επιπολασμός)= μολυσμένα ζώα / ολικός αριθμός ζώων

C (συνολικός κίνδυνος ψευδώς αρνητικού αποτελέσματος σε μια μολυσμένη αποικία)= αριθμός μολυσμένων αποικιών με αρνητικό αποτέλεσμα / ολικός αριθμός αποικιών που ελέγχθηκαν.

Σύμφωνα με την προηγούμενη έκδοση των οδηγιών της FELASA (Nicklas et al., 2002), για τις εκτροφές τρωκτικών και κουνελιών προτεινόταν η θυσία 10 ζώων ανά θάλαμο για τη διενέργεια βακτηριολογικών, ορολογικών, μυκητολογικών και παρασιτολογικών εξετάσεων.

Τα ζώα που επιλέγονται θα πρέπει να είναι κλινικά υγιή και να λαμβάνονται από διαφορετικά κλουβιά και διαφορετικές περιοχές της μικροβιολογικής μονάδας. Διαλέγονται ζώα διαφορετικών φύλων και ηλικιών. Επιπλέον, αν συστεγάζονται διαφορετικές φυλές, ελέγχονται ζώα από όλες τις φυλές.

Πίνακας 11.3 Λοιμώδεις παράγοντες που συστήνεται από τη FELASA να εξετάζονται, στο πλαίσιο προγραμμαμάτων ελέγχου υγείας (τρωκτικά και κουνέλια) ανά 3 μήνες.

Μυς	Επίμυς	Χάμστερ
<p>Ιοί <i>Mouse hepatitis virus</i> <i>Mouse rotavirus</i> <i>Murine norovirus</i> <i>Parvoviruses:</i> <i>Minute virus of mice</i> <i>Mouse parvovirus</i> <i>Theiler's murine encephalomyelitis virus</i> <i>Lymphocytic choriomeningitis virus*</i> <i>Mouse adenovirus type 1 (FL)*</i> <i>Mouse adenovirus type 2 (K87)*</i> <i>Mousepox (ectromelia) virus*</i> <i>Pneumonia virus of mice*</i> <i>Reovirus type 3*</i> <i>Sendai virus*</i></p> <p>Βακτήρια <i>Helicobacter spp.</i> (εάν θετικό, προτείνεται η ταυτοποίηση για <i>H. hepaticus</i>, <i>H. bilis</i> και <i>H. typhlonius</i>) <i>Pasteurella pneumotropica</i> <i>Streptococci b-haemolytic</i> (not group D) <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Citrobacter rodentium*</i> <i>Clostridium piliforme*</i> <i>Corynebacterium kutscheri*</i> <i>Mycoplasma pulmonis*</i> <i>Salmonella spp.*</i> <i>Streptobacillus moniliformis*</i></p> <p>Παράσιτα Εξωπαράσιτα Ενδοπαράσιτα</p> <p>Επιπλέον παράγοντες: ⁽¹⁾ Ιοί <i>Hantaviruses</i> <i>Herpesviruses</i> (mouse cytomegalovirus, mouse thimic virus) <i>Lactate-dehydrogenase elevating virus</i> <i>Polyomaviruses</i> (mouse polyomavirus, K virus)</p> <p>Βακτήρια και μύκητες <i>Cilia-associated respiratory bacillus</i> <i>Klebsiella oxytoca</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Other Pasteurellaceae</i> <i>Pneumocystis murina</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i></p>	<p>Ιοί <i>Parvoviruses:</i> <i>Kilham rat virus</i> <i>Rat minute virus</i> <i>Rat parvovirus</i> <i>Toolan's H-1 virus</i> <i>Pneumonia virus of mice</i> <i>Rat coronavirus / Sialodacryoadenitis virus</i> <i>Rat theilovirus</i> <i>Hantaviruses*</i> <i>Mouse adenovirus type 1 (FL)*</i> <i>Mouse adenovirus type 2 (K87)*</i> <i>Reovirus type 3*</i> <i>Sendai virus*</i></p> <p>Βακτήρια και μύκητες <i>Clostridium piliforme</i> <i>Helicobacter spp.</i> (εάν θετικό, προτείνεται η ταυτοποίηση του <i>H. bilis</i>) <i>Mycoplasma pulmonis</i> <i>Pasteurella pneumotropica</i> <i>Streptococci b-haemolytic</i> (not group D) <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Cilia-associated respiratory bacillus*</i> <i>Pneumocystis spp.*</i> <i>Salmonella spp.*</i> <i>Streptobacillus moniliformis*</i></p> <p>Παράσιτα Ενδο- και έξω-παράσιτα</p> <p>Επιπλέον παράγοντες: ⁽¹⁾ Βακτήρια και μύκητες <i>Bordetella bronchiseptica</i> <i>Corynebacterium kutscheri</i> <i>Encephalitozoon cuniculi</i> <i>Klebsiella oxytoca</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Other Pasteurellaceae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i></p>	<p>Ιοί <i>Lymphocytic choriomeningitis virus</i> <i>Sendai virus</i></p> <p>Βακτήρια <i>Pasteurella pneumotropica</i> <i>Clostridium piliforme*</i> <i>Corynebacterium kutscheri*</i> <i>Helicobacter spp.*</i> <i>Salmonella spp.*</i></p> <p>Παράσιτα Ενδο- και έξω-παράσιτα</p> <p>Επιπλέον παράγοντες: ⁽¹⁾ Ιοί <i>Hamster polyomavirus</i> <i>Pneumonia virus of mice</i></p> <p>Βακτήρια και μύκητες <i>Encephalitozoon cuniculi</i> <i>Lawsonia intracellularis</i> Άλλα <i>Pasteurellaceae</i></p>
Συνεχίζεται...		

... συνέχεια Πίνακα 11.3

Ινδικό χοιρίδιο	Κουνέλι
<p>Ιοί <i>Guinea pig adenovirus</i> <i>Guinea pig parainfluenza virus 3</i> / <i>Caviid parainfluenza virus 3</i> <i>Sendai virus</i> <i>Guinea pig cytomegalovirus*</i></p> <p>Βακτήρια και μύκητες <i>Bordetella bronchiseptica</i> <i>Corynebacterium kutscheri</i> <i>Streptococci b-haemolytic (not group D)</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Clostridium piliforme*</i> <i>Encephalitozoon cuniculi*</i> <i>Salmonella spp.*</i> <i>Streptobacillus moniliformis*</i></p> <p>Παράσιτα Ενδο- και έξω-παράσιτα</p> <p>Επιπλέον παράγοντες: ⁽¹⁾ Βακτήρια και μύκητες <i>Chlamydomphila caviae</i> <i>Cilia-associated respiratory bacillus</i> <i>Dermatophytes</i> <i>Pasteurellaceae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Yersinia pseudotuberculosis</i></p>	<p>Ιοί <i>Rabbit haemorrhagic disease virus (RHDV)</i> <i>Rabbit rotavirus</i></p> <p>Βακτήρια και μύκητες <i>Bordetella bronchiseptica</i> <i>Clostridium piliforme</i> <i>Encephalitozoon cuniculi</i> <i>Pasteurella multocida</i> <i>Cilia-associated respiratory bacillus*</i> <i>Salmonella spp.*</i></p> <p>Παράσιτα Ενδο- και έξω-παράσιτα</p> <p>Επιπλέον παράγοντες: ⁽¹⁾ Ιοί <i>Adenovirus</i> <i>Coronavirus</i> <i>Myxomatosis virus</i></p> <p>Βακτήρια και μύκητες <i>Clostridium spp.</i> <i>Dermatophytes</i> <i>Escherichia coli (enteropathogenic strains)</i> <i>Άλλα Pasteurellaceae</i> <i>Pneumocystis oryctolagi</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Treponema paraluis-cuniculi</i></p>

* ανά έτος.

(1) Η ανίχνευσή τους είναι προαιρετική και επιδιώκεται όταν υπάρχει ειδικός λόγος. Η συχνότητα ανίχνευσής τους εξαρτάται από τις περιστάσεις.

Σε αποικίες στις οποίες δεν επιθυμείται η θυσία «πολύτιμων» ζώων, όπως εκείνες με γενετικώς τροποποιημένα ή ανοσοκατασταλαμένα ζώα ή εκείνες με μικρό πληθυσμό, προτείνεται να χρησιμοποιούνται ζώα-φρουροί (sentinel animals) για τον έλεγχο της υγείας των ζώων της μονάδας. Πρόκειται για ζώα τα οποία προέρχονται από την ίδια ή άλλη ελεγμένη ως προς τη μικροβιολογική τους κατάσταση εκτροφή και εισάγονται για τον σκοπό αυτόν στη μικροβιολογική μονάδα, προκειμένου να χρησιμοποιηθούν ως «παγίδες» παθογόνων. Γενικά, τα ζώα-φρουροί εκτίθενται στα ζώα του ίδιου είδους της μικροβιολογικής μονάδας. Ωστόσο, σε περιπτώσεις ελέγχου της υγείας εξωτικών ειδών τρωκτικών, είναι δυνατό τα ζώα-φρουροί να είναι διαφορετικού είδους.

Η έκθεση των ζώων-φρουρών στα ζώα της αποικίας θα πρέπει να γίνεται για επαρκές χρονικό διάστημα (τουλάχιστον 6 εβδομάδες) πριν από τον έλεγχό τους. Η έκθεσή τους μπορεί να είναι άμεση (τοποθέτησή τους στο ίδιο κλουβί με τα υπόλοιπα ζώα) ή έμμεση (έρχονται σε επαφή με τη στρωμνή, την τροφή, τις ποτίστρες κ.λπ. των υπόλοιπων ζώων). Σύμφωνα με τις οδηγίες της FELASA, προτείνεται η τοποθέτηση ζώων-φρουρών σε μια μικροβιολογική μονάδα κάθε 3 μήνες. Κάθε κλουβί συνήθως περιέχει 2-5 ζώα. Ο αριθμός των ζώων-φρουρών σε κάθε μονάδα εξαρτάται από τον τύπο της στέγασης, τον κίνδυνο μόλυνσης ή τις μεθόδους ανάλυσης των δειγμάτων.

Πρόσφατα, αντί της χρήσης ζώων, έχει προταθεί ως αξιόπιστη μέθοδος η λήψη δειγμάτων σκόνης από τους εξαεριστήρες κλουβιών IVC τρωκτικών και η ανάλυσή τους με τη μέθοδο PCR, για την ανίχνευση παθογόνων μικροοργανισμών σε μια μικροβιολογική μονάδα (Mailhiot et al., 2020).

11.1.4. Μέθοδοι δειγματοληψίας και ανάλυσης δειγμάτων

Ο έλεγχος για την παρουσία λοιμωδών παραγόντων είναι δυνατό να επιτευχθεί με την εφαρμογή ποικίλων άμεσων ή έμμεσων μεθόδων.

1. Νεκροψία-νεκροτομή. Αρχικά, διενεργείται ευθανασία των ζώων και ακολουθεί νεκροψία και νεκροτομή. Ελέγχονται και καταγράφονται τα ευρήματα από το δέρμα, τη στοματική κοιλότητα, τους σιελογόνους αδένες (στον επίμυ), το αναπνευστικό σύστημα, την αορτή (στο κουνέλι), την καρδιά, τον σπλήνα, το ήπαρ, το γαστρεντερικό σύστημα, τους νεφρούς, το ουρογεννητικό σύστημα και τους λεμφαδένες. Τυχόν αλλοιώσεις που διαπιστώνονται θα πρέπει να διερευνώνται παραπέρα με ιστοπαθολογικές και μικροβιολογικές μεθόδους. Το δέρμα και το τρίχωμα εξετάζονται για την παρουσία εξωπαρασίτων. Για την ανίχνευση ενδοπαρασίτων, μπορεί να γίνει άμεση επισκόπηση, να γίνει παρατήρηση στο μικροσκόπιο επιχρισμάτων εντερικού περιεχομένου, κοπράνων μετά από επίπλευση ή δειγμάτων που έχουν ληφθεί με τη βοήθεια κολλητικής ταινίας από τον πρωκτό ή να χρησιμοποιηθεί η μέθοδος PCR.
2. Ορολογικές μέθοδοι χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο ιών, συγκεκριμένων βακτηρίων (π.χ. *Clostridium piliforme*) και άλλων μικροοργανισμών, όπως του *Encephalitozoon cuniculi*. Χρησιμοποιούνται μέθοδοι, όπως Multiplex Fluorometric Immunoassay (MFI), ELISA, αναστολή της αιμοσυγκόλλησης (HAI test), Western blotting, PCR κ.λπ.
3. Τεχνικές καλλιέργειας χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση βακτηρίων και μυκήτων σε δείγματα που λαμβάνονται από τον βλεννογόνο της γεννητικής οδού, το παχύ έντερο, τον ρινοφάρυγγα και την τραχεία. Αλλοιώσεις για τις οποίες υπάρχει υποψία βακτηριακού νοσήματος θα πρέπει να καλλιεργούνται. Από το δέρμα των κουνελιών και των ινδικών χοιριδίων λαμβάνεται δείγμα για καλλιέργεια δερματοφύτων. Ακολουθεί η ταυτοποίηση των βακτηρίων με βιοχημικές μεθόδους ή επικουρικά με μοριακές μεθόδους, π.χ. με τη μέθοδο PCR.
4. Επιπλέον των παραπάνω κλασικών τεχνικών, έχουν αναπτυχθεί σύγχρονες τεχνικές δειγματοληψίας και ανάλυσης, όπως αυτή που επιτρέπει την ανίχνευση λοιμωδών παραγόντων σε δείγμα μίας μόνο σταγόνας ολικού αίματος (dried blood spot sampling), το οποίο αναλύεται π.χ. με την τεχνική Multiplex Fluorescent Immunoassay (Myles et al., 2021).

Τα εργαστήρια που αναλαμβάνουν τις αιτούμενες εξετάσεις προτείνεται να είναι διαπιστευμένα από τη FELASA. Οι έλεγχοι συστήνεται να διεξάγονται υπό την επιτήρηση προσωπικού με πτυχίο Κτηνιατρικής ή Ιατρικής μικροβιολογίας, με εμπειρία στις διαγνωστικές διαδικασίες επί των ζώων εργαστηρίου και της επιστήμης των ζώων εργαστηρίου (Mähler et al., 2014).

11.1.5. Αναφορά των αποτελεσμάτων

Τα αποτελέσματα του ελέγχου υγείας των ζώων κοινοποιούνται στους ερευνητές που τα χρησιμοποιούν για πειραματισμούς, οι οποίοι με τη σειρά τους οφείλουν να τα αναφέρουν κατά τη δημοσιοποίηση των αποτελεσμάτων των πειραμάτων τους.

Παράγοντες που είναι γνωστό ότι έχουν ανιχνευθεί δεν ελέγχονται σε επόμενο έλεγχο, εκτός αν έχει προηγηθεί πρόγραμμα εκρίζωσής τους. Στο έντυπο αναφοράς του ελέγχου υγείας των ζώων εργαστηρίου θα πρέπει να περιλαμβάνονται οι εξής πληροφορίες: α) το όνομα και ο κωδικός της εγκατάστασης, β) το είδος των ζώων που ελέγχονται, γ) ο τύπος στέγασης, δ) η φυλή και υποφυλή των ζώων, ε) η συχνότητα δειγματοληψιών, στ) η ημερομηνία της παρούσης και της προηγούμενης εξέτασης, ζ) τα προηγούμενα αποτελέσματα, η) το εργαστήριο ανάλυσης, θ) η μέθοδος ανάλυσης, ι) στοιχεία του ιστορικού της εγκατάστασης, για τουλάχιστον τους τελευταίους μήνες, ια) τα αποτελέσματα (ιοί, βακτήρια, μύκητες, παράσιτα) και ο αριθμός των ζώων στα οποία ανιχνεύθηκαν και ιβ) μακροσκοπικά και ιστοπαθολογικά ευρήματα.

11.1.6. Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Ένας παράγοντας θεωρείται ότι έχει ανιχνευθεί, όταν αυτός έχει εντοπισθεί και επιβεβαιωθεί σε ένα ή περισσότερα ζώα. Τα θετικά αποτελέσματα προτείνεται να επαληθεύονται με τη βοήθεια και άλλων μεθόδων, με την ίδια ή μεγαλύτερη ειδικότητα. Για επαλήθευση, θα πρέπει να επαναλαμβάνονται οι δειγματοληψίες και οι εξετάσεις σε ζώα της αποικίας ή σε ζώα-φρουρούς. Αν υπάρχει η δυνατότητα, η επαλήθευση προτείνεται να γίνεται και σε άλλα εργαστήρια.

Είναι πιθανό τα αποτελέσματα να είναι ψευδώς αρνητικά ή ψευδώς θετικά. Η παρουσία αντισωμάτων στον ορό γενικά υποδηλώνει τρέχουσα ή παρελθούσα λοίμωξη, αλλά θα μπορούσε να σχετίζεται με την

παρουσία μητρικών αντισωμάτων, να οφείλεται σε εμβολιασμό ή να πρόκειται για διασταυρούμενη αντίδραση. Αρνητικά αποτελέσματα ορολογικών εξετάσεων υποδηλώνουν ότι δεν υπάρχει ανοσολογική απόκριση στους υπό εξέταση μικροοργανισμούς στα συγκεκριμένα ζώα που ελέγχθηκαν. Στα πρώιμα στάδια μιας λοίμωξης μπορεί να μην είναι ανιχνεύσιμη η ανοσολογική απόκριση. Η τελευταία εξαρτάται επίσης από τη λοιμογόνο δόση, τα βιολογικά χαρακτηριστικά του παράγοντα, τη γενετική προδιάθεση, την ηλικία ή την ανοσολογική κατάσταση του ζώου.

11.2. ΕΚΡΙΖΩΣΗ ΕΝΟΣ ΛΟΙΜΩΔΟΥΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ

Ανεξάρτητα από την αυστηρότητα των ελέγχων του επιπέδου υγείας, λοιμώδεις παράγοντες μπορούν να εισαχθούν σε μια εκτροφή με την είσοδο σε αυτή μολυσμένων νεοεισερχομένων ζώων, βιολογικών υλικών, εξοπλισμού ή προσωπικού. Υπάρχουν μέθοδοι εκρίζωσης ενός λοιμώδους παράγοντα, όπως με τη λήψη εμβρύων με καισαρική τομή, με μεταφορά εμβρύου, με εμβολιασμούς, με ανθελμινθικά προγράμματα, με αντιβακτηριακές αγωγές κ.λπ. Ωστόσο, το πιο ασφαλές σύστημα, ιδιαίτερα στις εγκαταστάσεις χρήσης, θεωρείται το σύστημα «όλα μέσα - όλα έξω». Σύμφωνα με αυτό, μετά το τέλος του πειραματισμού, απομακρύνεται το σύνολο των ζώων, καθαρίζονται και απολυμαίνονται οι εγκαταστάσεις και ακολουθεί εισαγωγή νέων ζώων από εκτροφές ελεύθερες λοιμωδών παραγόντων.

Τα αποτελέσματα του ελέγχου υγείας δεν θα πρέπει να αποτελούν το αποκλειστικό κριτήριο για την είσοδο νέων ζώων σε μια εγκατάσταση. Θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη το ιστορικό της εγκατάστασης προέλευσης, το πρόγραμμα ελέγχου υγείας των ζώων που ακολουθεί καθώς και οι κίνδυνοι για πιθανή μόλυνση. Επιπλέον, η κατάσταση υγείας των ζώων μπορεί να μεταβληθεί κατά τη μεταφορά τους. Στις εγκαταστάσεις υποδοχής προτείνεται να λαμβάνονται προληπτικά μέτρα, όπως η απομόνωση νεοεισερχόμενων ζώων (για χρονικό διάστημα που προτείνεται στο Κεφάλαιο 5), και να εφαρμόζονται έλεγχοι.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Dubin, S., & Zietz, S. (1991). Sample size for animal health surveillance. *Laboratory Animals* (NY), 20, 29-33
- Hansen, A.K. (1994). Health status and the effects of microbial organisms on animal experiments. In P. Svendsen, & J. Hau (Eds.), *Handbook of Laboratory Animal Science*. Volume I. Selection and handling of animals in biomedical research (pp. 125-143). CRC Press. ISBN-13: 978-0849343780
- Hansen, A.K. (2011). Health status and health monitoring. In B. Howard, T. Nevalainen, & G. Perretta (Eds.), *The COST manual of laboratory animal care and use. Refinement, Reduction and Research* (pp. 251-306). CRC Press. ISSN: 978-1-4398-2492-4
- Mähler Convenor, M., Berard, M., Feinstein, R., Gallagher, A., Illgen-Wilcke, B., Pritchett-Corning, K., & Raspa, M. (2014). FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, guinea pig and rabbit colonies in breeding and experimental units. *Laboratory Animals*, 48, 178-192. <http://doi.org/10.1177/0023677213516312>
- Mailhiot, D., Ostdiek, A.M., Luchins, K.R., Bowers, C.J., Theriault, B.R., & Langan, G.P. (2020). Comparing Mouse Health Monitoring Between Soiled-bedding Sentinel and Exhaust Air Dust Surveillance Programs. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science*, 59, 58-66. <http://doi.org/10.30802/AALAS-JAALAS-19-000061>
- Myles, M., Steffen, E., Besch-Williford, C., Bauer, B., Livingston, R., Crim, M., & Riley, L. (2021). Dried Blood Spot Specimens for Serological Testing of Rodents. https://www.idexxbioresearch.com/hubfs/Opti_Spot_White_Paper.pdf
- Nicklas, W., Baneux, P., Boot, R., Decelle, T., Deeny, A.A., Fumanelli, M., & Illgen-Wilcke, B. (2002). Recommendations for the health monitoring of rodent and rabbit colonies in breeding and experimental units. *Laboratory Animals*, 36, 20-42. <http://doi.org/10.1258/0023677021911740>
- Rehbinder, C., Baneux, P., Forbes, D., Van Herck, H., Nicklas, W., Rugaya, Z., & Winkler, G. (1998). FELASA recommendations for the health monitoring of breeding colonies and experimental units of cats, dogs and pigs. *Laboratory Animals*, 32, 1-17. <http://doi.org/10.1258/002367798780559428>
- Rehbinder, C., Alenius, S., Bures, J., De las Heras, M., Greko, C., Kroon, P.S., & Gutzwiller, A. (2000). FELASA recommendations for the health monitoring of experimental units of calves, sheep and goats. *Laboratory Animals*, 34, 329-350. <http://doi.org/10.1258/002367700780387723>
- Weber, H., Berge, E., Finch, J., Heidt, P., Kaup, F.J., Perretta, G., Verschuere, B., & Wolfensohn, S. (1999). Health monitoring of non-human primate colonies. *Laboratory Animals*, 33 (Suppl. 1), 1-18

Κεφάλαιο 12

Σύνοψη

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζεται η μεθοδολογία εξέτασης των ζώων εργαστηρίου προς διαπίστωση μιας νόσου αλλά και στο πλαίσιο προληπτικού ελέγχου. Επιπλέον, αποτελεί οδηγό για την αναγνώριση ανατομικών δομών για πιθανή δειγματοληψία ιστών.

Προαπαιτούμενη γνώση

Βασικές γνώσεις ανατομίας και φυσιολογίας των ζώων.

12 ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ ΤΩΝ ΖΩΩΝ

Πολλές φορές, παρά τα προληπτικά μέτρα, τα ζώα εργαστηρίου που διατηρούνται σε μια εγκατάσταση εκτροφής είναι δυνατό να νοσήσουν. Τα νοσήματα, ανάλογα με την αιτία τους, χωρίζονται σε βακτηριακά, ιογενή, μυκητιακά και παρασιτικά.

Οι πιθανές πηγές μόλυνσης των ζώων μιας εκτροφής είναι (Wolfensohn and Lloyd, 1994):

1. Τα νεοεισαγόμενα ζώα.
2. Οι άνθρωποι που τα χειρίζονται.
3. Τα ξένα τρωκτικά-επισκέπτες και διάφορα έντομα.
4. Το νερό και η τροφή.
5. Η στρωμνή.
6. Ο αέρας.
7. Τα διάφορα σκεύη ή εργαλεία που έρχονται σε επαφή με τα πειραματόζωα.

Οι βασικότεροι προδιαθετικοί παράγοντες για την εκδήλωση μιας νόσου είναι:

1. Η γενετική προδιάθεση. Για παράδειγμα, υπάρχουν αμιγείς φυλές μυών που δείχνουν γενετική προδιάθεση προς ορισμένες ασθένειες.
2. Η κακή διατροφή του ζώου, η οποία μειώνει την άμυνα του οργανισμού και το κάνει ευάλωτο σε νοσογόνα αίτια.
3. Το στρες. Μια στρεσογόνα κατάσταση μπορεί να προκαλέσει ανοσοκαταστολή και προδιάθεση σε προσβολή από νοσογόνο παράγοντα.

Για τη διάγνωση μιας νόσου, θα πρέπει να γίνεται η κατάλληλη εξέταση του ζώου. Αυτή περιλαμβάνει (Van Herck et al., 1993) τα παρακάτω:

1. Ιστορικό

Εξετάζονται τα εξής στοιχεία:

1. Η ομάδα στην οποία ανήκει το ζώο (είδος, φυλή, φύλο, ηλικία, μικροβιολογική κατάσταση, προέλευση, χρήση, πείραμα στο οποίο συμμετέχουν).
2. Το περιβάλλον του ζώου (θάλαμος, φραγμοί, τύπος και μέγεθος κλουβιού, αριθμός ζώων ανά κλουβί, διατροφή, στρωμνή, υγιεινή, πιθανή εισαγωγή νέων ζώων, φωτοπερίοδος, αερισμός, σχετική υγρασία, θερμοκρασία, διάταξη των κλουβιών).
3. Η εξέλιξη της νόσου (έναρξη και διάρκεια κλινικών σημείων, αριθμός νοσούντων ζώων, θνησιμότητα, ηλικία και φύλο νοσούντων ζώων, προηγούμενες ασθένειες και θεραπεία, ιστορικό αναπαραγωγικής δραστηριότητας, πιθανές παρεμβάσεις στα αποτελέσματα του πειράματος).

2. Κλινική εξέταση

Εξετάζονται τα εξής στοιχεία:

1. Η γενική κατάσταση του ζώου (συμπεριφορά, εμφάνιση, ανάπτυξη, σωματικό βάρος, θερμοκρασία).
2. Το αναπνευστικό σύστημα (συχνότητα και τύπος αναπνοών).
3. Το καρδιαγγειακό σύστημα (καρδιακή συχνότητα, χροιά βλεννογόνων),
4. Το πεπτικό σύστημα (ρυθμός πρόσληψης τροφής, σύσταση κοπράνων, εξέταση στοματικής κοιλότητας, ψηλάφηση κοιλίας, υγρότητα απευθυσμένου).
5. Το ουροποιητικό σύστημα (ρυθμός πόσης νερού, ρυθμός παραγωγής και χροιά ούρων, ψηλάφηση νεφρών και ουροδόχου κύστης).
6. Το δέρμα (επισκόπηση, εκτίμηση βαθμού αφυδάτωσης).
7. Το μυοσκελετικό σύστημα (στάση, κινητικότητα, πιθανή μυϊκή ατροφία, κατάγματα, ανωμαλίες συνδέσμων ή άκρων ποδών).
8. Το νευρικό σύστημα (συμπεριφορά, πιθανή παράλυση ή σπασμοί, αντίδραση στο περιβάλλον).

3. Εργαστηριακές εξετάσεις

Αυτές αφορούν εξετάσεις δειγμάτων αίματος, ούρων, κοπράνων, δέρματος, τριχών καθώς και ρινικών, κολπικών κ.λπ. εκκρίματων. Τα είδη των εξετάσεων που μπορούν να διεξαχθούν είναι αιματολογική, βιοχημική, μικροβιολογική, παρασιτολογική, ακτινολογική, ιστολογική κ.λπ.

4. Νεκροψία-νεκροτομή

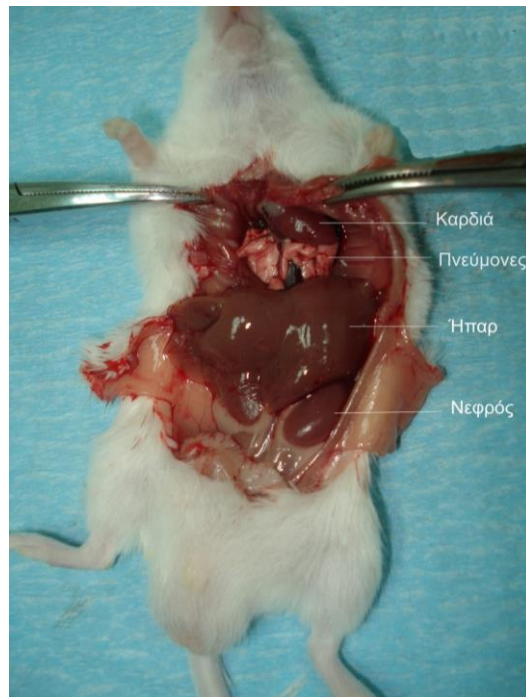
Ένα ανεκτίμητο διαγνωστικό μέσο για την εξακρίβωση της αιτίας μιας νόσου είναι η νεκροτομική εξέταση. Με αυτήν είναι δυνατό να διαπιστωθούν μεταβολές σε ιστούς και όργανα, οι οποίες δεν έχουν ακόμη εκδηλωθεί με κλινικά σημεία. Χρησιμοποιείται συχνά για τη διάγνωση νοσημάτων τρωκτικών και πτηνών αλλά και των υπόλοιπων ειδών ζώων εργαστηρίου. Εκτελείται σε ζώα τα οποία έχουν ήδη πεθάνει ή άλλα στα οποία εκτελείται ευθανασία.

Η εγκυρότητα των αποτελεσμάτων μιας τέτοιας εξέτασης εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το χρονικό διάστημα που μεσολαβεί από τον θάνατο του ζώου μέχρι την εξέταση. Αυτός θα πρέπει να είναι ο μικρότερος δυνατός, επειδή π.χ. ο βλεννογόνος του εντέρου δεν είναι χρήσιμος για ιστολογική εξέταση μία ώρα μετά τον θάνατο. Στα κουνέλια η παραγωγή αερίων από τα βακτήρια που αναπτύσσονται μπορεί να προκαλέσει ρήξη του στομάχου λίγες ώρες μετά τον θάνατο. Η καθυστέρηση των αυτολυτικών διαδικασιών μπορεί να γίνει διατηρώντας το πτώμα σε ψύξη (4 °C). Για τον λόγο αυτόν, το πτώμα καταβρέχεται με κρύο νερό και τοποθετείται μέσα σε πλαστική σακούλα, η οποία με τη σειρά της τοποθετείται σε ψυγείο.

Η νεκροτομική εξέταση γίνεται με την παρακάτω σειρά:

1. Ζυγίζεται το ζώο και επισκοπείται εξωτερικά. Σημειώνεται η σωματική του κατάσταση και εξετάζεται εξωτερικά το ζώο για τυχόν εμφανείς ανωμαλίες.
2. Τοποθετείται το ζώο σε ύπτια κατάκλιση και σταθεροποιούνται τα άκρα του στο τραπέζι εξέτασης.
3. Καθαρίζεται με αντισηπτικό διάλυμα η κοιλιακή επιφάνεια του ζώου, για την αποφυγή επιμόλυνσης σε περίπτωση λήψης δειγμάτων για μικροβιολογική εξέταση.
4. Εκτελείται διατομή του δέρματος του ζώου στη μέση γραμμή, από την κάτω γνάθο μέχρι το ύψος του ηβικού οστού.
5. Απομακρύνονται οι μύες από το στήθος του ζώου και διανοίγεται η θωρακική κοιλότητα, με ετερόπλευρη τομή των χονδροπλευρικών συνarthρώσεων στο ύψος του στέρνου. Απομακρύνονται οι πλευρές και παρατηρείται η θωρακική κοιλότητα για τυχόν παρουσία υγρού στην υπεζωκοτική κοιλότητα ή στο περικάρδιο (Εικόνα 12.1). Αφαιρούνται η τραχεία και οι πνεύμονες, διατέμνονται και εξετάζονται. Αφαιρείται η καρδιά, η οποία διατέμνεται και εξετάζεται.
6. Διανοίγεται η κοιλιακή κοιλότητα του ζώου με διατομή των κοιλιακών μυών επί της μέσης γραμμής (Εικόνα 12.1). Παρατηρείται αρχικά τυχόν συλλογή υγρού και εμφανείς ανωμαλίες των ενδοκοιλιακών οργάνων.
7. Αφαιρείται ο γαστρεντερικός σωλήνας του ζώου, από τον οισοφάγο μέχρι και το έντερο, διατέμνεται και εξετάζεται (Εικόνα 12.2). Αφαιρείται το ήπαρ, διατέμνεται και εξετάζεται.
8. Εξετάζεται η ουρογεννητική οδός του ζώου. Αφαιρούνται, διατέμνονται και εξετάζονται οι νεφροί.
9. Στο εκσπλαχνισμένο ζώο εξετάζονται οι αρθρώσεις, τα λεμφογάγγλια και ο εγκέφαλος, αν χρειαστεί.

Μετά τη νεκροτομική εξέταση και τη λήψη δειγμάτων για μικροβιολογική, παρασιτολογική, ιστολογική ή άλλη εξέταση, τοποθετούνται τα πτώματα σε υδατοστεγή πλαστική σακούλα και η διαχείρισή τους γίνεται όπως έχει περιγραφεί στο Κεφάλαιο 10. Τέλος, εκτελείται απολύμανση του χώρου όπου διενεργήθηκε η νεκροτομή.



Εικόνα 12.1 Ανατομία του μύος μετά από διάνοιξη της θωρακικής και της κοιλιακής κοιλότητας, μετά από αφαίρεση του γαστρεντερικού σωλήνα.



Εικόνα 12.2 Γαστρεντερικός σωλήνας του μύος.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Van Herck, H., Mullink, J.W.M.A., Bosland, M.C. (1993). Diseases in laboratory animals. In L.E.M. van Zutphen, V. Baumans, & A.C. Beynen (Eds.), *Principles of Laboratory Animal Science. A contribution to the humane use and care of animals and to the quality of experimental results* (pp. 167-188). Elsevier. ISBN-13: 978-0444812704
- Wolfensohn, S., & Lloyd, M. (1994). *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare*. Oxford University Press. ISBN-13: 9780198548331

Κεφάλαιο 13

Σύνοψη

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται συνοπτικά οι νόσοι των ζώων εργαστηρίου από τις οποίες μπορεί να μολυνθεί ο άνθρωπος (ζωανθρωπονόσοι). Γίνεται ειδική αναφορά ανά κατηγορία και είδος ζώου.

Προαπαιτούμενη γνώση

Βασικές γνώσεις μικροβιολογίας και παθολογίας.

13 ΖΩΑΝΘΡΩΠΟΝΟΣΟΙ

Ως ζωανθρωπονόσοι ορίζονται τα νοσήματα που μεταδίδονται υπό φυσικές συνθήκες από τα σπονδυλωτά ζώα στον άνθρωπο. Μπορεί να προκληθούν από διάφορα αίτια, όπως ιοί, βακτήρια και παράσιτα. Τα ζώα εργαστηρίου μπορούν να προσβληθούν από νοσήματα τα οποία είναι δυνατό να μεταδοθούν στον άνθρωπο, κυρίως στους ζωοκόμους, το τεχνικό προσωπικό και τους ερευνητές, αλλά και σε άτομα που δεν έρχονται σε επαφή με τα πειραματόζωα.

Οι κυριότερες πύλες εισόδου των παθογόνων μικροοργανισμών στον οργανισμό του ανθρώπου είναι το δέρμα, ο επιπεφυκότας, η αναπνευστική οδός και η πεπτική οδός. Έτσι, είναι δυνατό να ενοφθαλμιστούν μικροοργανισμοί από λύσεις συνεχείας του δέρματος, από νύγματα (τσιμπήματα) εξωπαρασίτων, από δήγματα (δαγκώματα) ζώων ή από τραυματισμό από μολυσμένες βελόνες ή τα νύχια του ζώου. Ο επιπεφυκότας είναι πολύ πιο ευαίσθητος από το δέρμα, κυρίως στα μικροσταγονίδια τα οποία αιωρούνται μαζί με τη σκόνη σε μια εκτροφή. Τα μολυσμένα ζώα εργαστηρίου είναι δυνατό να αποβάλουν τους μικροοργανισμούς μέσα σε μικροσταγονίδια με τον βήχα ή την εκπνοή τους καθώς και με τον σίελο, τα ούρα και τα κόπρανα. Έτσι, μολύνονται το τρίχωμα και η στρωμή τους και μέσω αυτών μπορεί να μολυνθεί ο άνθρωπος, εισπνέοντας τη σκόνη που δημιουργείται από τις κινήσεις των ζώων. Σε ό,τι αφορά την πεπτική οδό, ο πιο συνηθισμένος τρόπος μόλυνσης είναι μέσω των μολυσμένων δακτύλων, κυρίως των καπνιστών. Ο βαθμός επικινδυνότητας της μετάδοσης εξαρτάται από ποικίλους παράγοντες, όπως τη λοιμογόνο δύναμη του μικροοργανισμού, τη γενική κατάσταση της υγείας του ξενιστή και τη μολύνουσα δόση. Σημειώνεται ότι, σε πολλές περιπτώσεις, το ζώο είναι φορέας του μικροοργανισμού χωρίς να εκδηλώνει νόσο.

13.1. ΑΛΛΕΡΓΙΕΣ

Οι αλλεργίες είναι από τα πιο συχνά προβλήματα υγείας που προκαλούνται σε άτομα που χειρίζονται ζώα εργαστηρίου. Ωστόσο, οι αλλεργίες μπορεί να αφορούν ακόμη και άτομα που δεν έρχονται σε άμεση επαφή με τα πειραματόζωα, αλλά έχουν εκτεθεί σε αλλεργιογόνες ουσίες διερχόμενοι από θαλάμους, διαδρόμους ή κτίρια με ζώα. Οι κυριότερες αλλεργιογόνες ουσίες είναι τα επιδερμικά κύτταρα, οι τρίχες, οι πρωτεΐνες των ούρων, του σιέλου, του αίματος και η τροφή των ζώων, ιδιαίτερα αν αυτή περιέχει αντιβιοτικά. Το 11 με 22% των ατόμων που εκτίθενται τακτικά σε κουνέλια, επίμυς ή μυς αναπτύσσουν αλλεργία. Οι επίμυες θεωρούνται η συχνότερη αιτία, με τα κουνέλια και τους μυς να ακολουθούν (Broderson and Gluckstein, 1994).

13.2. ΖΩΑΝΘΡΩΠΟΝΟΣΟΙ ΠΡΟΕΡΧΟΜΕΝΕΣ ΑΠΟ ΤΡΩΚΤΙΚΑ

13.2.1. Λεμφοκυτταρική χοριομηνιγγίτιδα

Οφείλεται στον ομώνυμο ιό και εκδηλώνεται κυρίως στον μυ αλλά και στο χάμστερ. Πρόκειται για έναν αρεναϊό, η δεξαμενή του οποίου είναι ο μυς. Η μόλυνση είναι συγγενής. Ο ιός εκκρίνεται με τον σίελο, τα ούρα και τα κόπρανα. Η νόσηση είναι συνήθως υποκλινική. Κατά τη νεκροψία, διαπιστώνονται σπειραματονεφρίτιδα και μηνιγγίτιδα. Το προσωπικό μπορεί να μολυνθεί από μολυσμένη στρωμή, από χειρισμούς νεκρών μυών ή από δήγματα. Στον άνθρωπο εκδηλώνεται με συμπτώματα παρόμοια της γρίπης, που διαρκούν μέχρι 2 εβδομάδες. Σε μερικές περιπτώσεις, μπορεί να ακολουθήσει μηνιγγίτιδα, παράλυση και κόμα. Κατά την ανάρρωση, παρατηρείται αρθραλγία. Η πρόληψη της ασθένειας γίνεται με την προμήθεια ζώων από εκτροφές που εφαρμόζουν πρόγραμμα ελέγχου της υγείας.

13.2.2. Αιμορραγικός πυρετός της Κορέας

Η νόσος οφείλεται στον ομώνυμο ιό, ο οποίος είναι *Hantaan* ιός. Η φυσική δεξαμενή του ιού είναι τα άγρια τρωκτικά, κυρίως ο επίμυς. Η νόσος είναι υποκλινική και ο ιός εκκρίνεται με τα ούρα και τον σίελο. Η μόλυνση του ανθρώπου γίνεται μετά από επαφή με μολυσμένες εκκρίσεις. Μετά από περίοδο επώασης 1 έως 5 εβδομάδων, εκδηλώνονται υψηλός πυρετός, κεφαλαλγία, μυαλγία, έμετοι, διάρροια και διαταραχή της νεφρικής λειτουργίας. Η θνητότητα φτάνει στο 5% και στη νεκροψία διαπιστώνονται συμφόρηση και αιμορραγία στους νεφρούς και άλλα όργανα. Η πρόληψη της ασθένειας γίνεται με την προμήθεια ζώων από εκτροφές που εφαρμόζουν πρόγραμμα ελέγχου της υγείας.

13.2.3. Πυρετός μετά από δήγμα επίμυος (rat bite fever)

Η νόσος οφείλεται στους *Streptococcus moniliformis* και *Spirillum minus* (Anderson et al., 1983). Η φυσική δεξαμενή των βακτηρίων είναι ο επίμυς και εκκρίνονται με τα ούρα και τον σίελο. Η νόσος στα ζώα είναι υποκλινική. Ο άνθρωπος μπορεί να μολυνθεί μετά από δήγμα επίμυος. Ο *S. moniliformis* προκαλεί πυρετό για λίγες ημέρες, ο οποίος συνοδεύεται από κεφαλαλγία, ναυτία, αρθραλγία και ερυθριματώδες εξάνθημα στα χέρια. Ορισμένες φορές, μπορεί να εκδηλωθεί και ενδοκαρδίτιδα. Μόλυνση με *S. minus* προκαλεί εξέλκωση στο σημείο του δήγματος, τοπική λεμφαδενίτιδα, πυρετό και εξάνθημα στο στήθος και τους βραχίονες. Η θεραπεία περιλαμβάνει τη χορήγηση πενικιλίνης. Η πρόληψη της ασθένειας γίνεται με την προμήθεια ζώων από εκτροφές που εφαρμόζουν πρόγραμμα ελέγχου της υγείας.

13.2.4. Γερσινίωση (ψευδοφυματίωση)

Η νόσος οφείλεται στη *Yersinia pseudotuberculosis*. Εκδηλώνεται αυθόρμητα στο ινδικό χοιρίδιο, τα πρωτεύοντα και το κουνέλι. Τα μικρά τρωκτικά μπορεί να είναι σιωπηλοί φορείς. Στα ζώα εκδηλώνεται υποξεία και οξεία εντερίτιδα, με σοβαρής μορφής διάρροια και απώλεια βάρους. Μπορεί να ψηλαφηθούν διογκωμένοι λεμφαδένες στην κοιλιακή χώρα. Σε 2 έως 12 εβδομάδες, το ποσοστό θνησιμότητας μπορεί να φτάσει το 5-7% στα ινδικά χοιρίδια. Στον άνθρωπο η νόσος εκδηλώνεται με αιφνίδιο πυρετό, κοιλιακό άλγος και διάρροια. Η νόσος συνήθως αυτοϊάται, αλλά μπορεί να επιπλεχθεί από μη πυώδη αρθρίτιδα και δερματικές αλλοιώσεις.

13.2.5. Στρεπτοκόκκωση

Οφείλεται στον *Streptococcus zooepidemicus*, ο οποίος ανευρίσκεται σε οπισθοφαρυγγικά αποστήματα στα ινδικά χοιρίδια (Murphy et al., 1991). Ο άνθρωπος μπορεί να μολυνθεί μετά από επαφή με μολυσμένο υλικό και να εκδηλώσει τραχηλική αδενίτιδα και πνευμονία. Στις επιπλοκές περιλαμβάνονται η ενδοκαρδίτιδα και η νεφρίτιδα.

13.2.6. Τριχοφυτίαση

Η τριχοφυτίαση είναι δερματική μυκητίαση, που οφείλεται σε είδη των *Trichophyton spp.* και *Microsporum spp.* Πιο συχνά προσβάλλονται τα ινδικά χοιρίδια, οι σκύλοι και οι γάτες. Οι αλλοιώσεις περιλαμβάνουν τριχόπτωση και κυκλοτερείς πλάκες, το μέγεθος των οποίων σταδιακά αυξάνεται. Στις γάτες μπορεί να μην παρατηρηθούν αλλοιώσεις. Στον άνθρωπο η νόσος εκδηλώνεται με δακτυλιοειδείς λεπιδώδεις δερματικές αλλοιώσεις και τριχόπτωση. Η πρόληψη γίνεται με αποφυγή της άμεσης επαφής με μολυσμένα ζώα και με καλή υγιεινή των χεριών. Η θεραπεία περιλαμβάνει τη λήψη γκριζεοφουλβίνης από του στόματος ή την τοπική εφαρμογή αντιμυκητιασικών.

13.2.7. Υμενολεπίωση

Οι ταινίες *Hymenolepis nana* και *Hymenolepis diminuta* μπορούν να μεταδοθούν στον άνθρωπο. Φυσική δεξαμενή του *H. nana* είναι ο μυς και του *H. diminuta* ο επίμυς. Για τη μόλυνση των ζώων, απαιτείται η μεσολάβηση αρthropόδων ως ενδιάμεσων ξενιστών, αν και το *H. nana* μπορεί να μεταδοθεί και άμεσα. Η μέτρια μόλυνση είναι ασυμπτωματική, ενώ η βαριά εκδηλώνεται ως μέτρια καταρροϊκή εντερίτιδα με διάρροια. Ο άνθρωπος μολύνεται μετά από βρώση μολυσμένων εντόμων ή αυγών *H. nana*, που αποβάλλονται από μολυσμένους μυς. Η νόσος είναι συνήθως ασυμπτωματική, εκτός αν είναι βαριά, οπότε προκαλεί

ανορεξία, διάρροια και κνησμό στην περιοχή του πρωκτού. Η μόλυνση μπορεί να προληφθεί με τη χρήση ζώων από ελεγχμένες εκτροφές, με εντομοκτονία και αποφυγή μολυσμένης στρωμνής.

13.3. ΖΩΑΝΘΡΩΠΟΝΟΣΟΙ ΠΡΟΕΡΧΟΜΕΝΕΣ ΑΠΟ ΤΟ ΚΟΥΝΕΛΙ

Γενικά, το κουνέλι αποτελεί ελάχιστο κίνδυνο για το προσωπικό. Τα περισσότερα ζώα προέρχονται από μονάδες αναπαραγωγής ειδικά για χρήση στη βιοϊατρική έρευνα ή από εκτροφές με σύστημα ελέγχου υγείας των ζώων.

13.3.1. Παστεριδίαση

Οφείλεται στο βακτήριο *Pasteurella multocida*, το οποίο ανευρίσκεται συχνά στα κουνέλια. Ωστόσο, ο κίνδυνος μόλυνσης του ανθρώπου είναι μικρός, δεδομένου ότι η μετάδοση γίνεται μετά από δάγμα, το οποίο συμβαίνει σπάνια κατά τον χειρισμό των κουνελιών. Η *Pasteurella pneumotropica*, η οποία μολύνει κυρίως μικρά τρωκτικά, προσβάλλει επίσης την ανώτερη αναπνευστική οδό του κουνελιού και έχει καλλιεργηθεί από υλικό που ελήφθη από ζωοκόμους, με μόλυνση της ανώτερης αναπνευστικής οδού και του μέσου ωτός.

13.3.2. Σαλμονέλλωση

Η μόλυνση του ανθρώπου από βακτήρια του γένους *Salmonella spp.* δεν θα πρέπει να παραβλέπεται, δεδομένου ότι δεν έχει αποσαφηνιστεί ο ρόλος του κουνελιού ως ασυμπτωματικού φορέα. Έχει δειχθεί ότι, μετά από μια στρεσογόνο πειραματική διαδικασία, μπορεί να επισπευσθεί η κλινική εκδήλωση σαλμονέλλωσης σε κουνέλια φορείς (Newcomer et al., 1984).

13.3.3. Δερματομύκωση

Είναι η μόνη σημαντική μυκητίαση, που οφείλεται στον μύκητα *Trichophyton mentagrophytes* και μπορεί να μεταδοθεί από το κουνέλι στον άνθρωπο, μετά από άμεση επαφή ή από μολυσμένα κλουβιά.

13.3.4. Σεϊλετιέλωση

Το άκαρι *Cheyletiella parasitovorax* είναι συχνό στο κατοικίδιο κουνέλι και μεταδίδεται εύκολα στον άνθρωπο. Το παράσιτο προκαλεί ερυθρότητα και απολέπιση δίκην πιτυρίασης στο δέρμα της ράχης. Μπορεί να μεταδοθεί από μολυσμένα ρούχα και προκαλεί νύγματα και ερύθημα στους βραχίονες ανθρώπων που χειρίζονται μολυσμένα κουνέλια (Broderson and Gluckstein, 1994).

13.4. ΖΩΑΝΘΡΩΠΟΝΟΣΟΙ ΠΡΟΕΡΧΟΜΕΝΕΣ ΑΠΟ ΤΟ ΠΡΟΒΑΤΟ

13.4.1. Βρουκέλλωση

Οφείλεται στην *Brucella ovvis*. Στο πρόβατο προκαλεί αποβολή. Ο άνθρωπος μολύνεται μετά από επαφή με τις εμβρυϊκές μεμβράνες, το αμνιακό υγρό ή τα έμβρυα. Ο χρόνος επώασης στον άνθρωπο κυμαίνεται από 1 έως 6 εβδομάδες και τα συμπτώματα περιλαμβάνουν κυματοειδή πυρετό, πόνο, αδυναμία και απώλεια βάρους. Η θεραπεία περιλαμβάνει τη χορήγηση αντιβιοτικών, ενώ η πρόληψη γίνεται με την προμήθεια ζώων από ελεγχμένες εκτροφές.

13.4.2. Χλαμυδίωση

Οφείλεται στην *Chlamydia psittaci*, η οποία μπορεί να ανευρεθεί στα κόπρανα υγιών ενήλικων προβάτων, ενώ σε υψηλή συγκέντρωση ανευρίσκεται στους πλακούντες προβάτων που απέβαλαν. Στον άνθρωπο προκαλεί επίσης αποβολή.

13.4.3. Πυρετός Q

Ο πυρετός Q προκαλείται από τη ρικέτσια *Coxiella burnetti*, η οποία μεταδίδεται μέσω των κοπράνων ή των πλακούντων και των εμβρυϊκών μεμβρανών. Μπορεί να επιβιώσει στο εξωτερικό περιβάλλον για μήνες. Στο

πρόβατο και την αίγα προκαλεί σπάνια αποβολές. Στον άνθρωπο μεταδίδεται πολύ εύκολα μέσω σταγονιδίων, αλλά κυρίως μέσω επαφής με εμβρυϊκό υλικό. Προκαλεί επιμένοντα υψηλό πυρετό, κεφαλαλγία, πνευμονία και ηπατίτιδα.

13.5. ΖΩΑΝΘΡΩΠΟΝΟΣΟΙ ΠΡΟΕΡΧΟΜΕΝΕΣ ΑΠΟ ΤΟΝ ΧΟΙΡΟ

Βακτήρια, όπως *Streptococcus suis*, *Erysipelothrix rhusiopathiae* και *Yersinia enterocolitica*, μπορούν να μεταδοθούν από τον χοίρο στον άνθρωπο, αλλά ο κίνδυνος μετάδοσης στους ζωοκόμους είναι γενικά μικρός.

13.5.1. Γρίπη των χοίρων τύπου A (H1N1)

Η γρίπη των χοίρων είναι ασθένεια του αναπνευστικού συστήματος που προσβάλλει τους χοίρους. Προκαλείται από έναν ιό της γρίπης τύπου A (H1N1). Η νόσος μπορεί να εκδηλωθεί σε όλες τις εποχές του χρόνου, αλλά είναι συχνότερη το φθινόπωρο και τον χειμώνα. Συνήθως, ο ιός της γρίπης των χοίρων δεν μεταδίδεται από τον χοίρο στον άνθρωπο. Ωστόσο, έχουν αναφερθεί περιπτώσεις στις οποίες η νόσος εκδηλώθηκε σε ανθρώπους που είχαν στενή επαφή με χοίρους (Ανώνυμος, 2021). Η μετάδοση της νόσου μεταξύ των ανθρώπων μπορεί να γίνει με την άμεση (φιλία, χειραψία) ή έμμεση (μέσω σταγονιδίων από πταρμό ή βήχα) επαφή.

Τα συμπτώματα που προκαλεί η γρίπη των χοίρων στον άνθρωπο είναι ανάλογα με εκείνα που προκαλεί η εποχιακή γρίπη (πυρετός, ρίγος, λήθαργος, κούραση, βήχας, μυαλγίες, πονοκέφαλος, ανορεξία, πονόλαιμος, ρινόρροια, ναυτία, έμετοι, διάρροια), που μπορούν όμως να εξελιχθούν σε πνευμονία, αναπνευστική ανεπάρκεια, καθώς επίσης είναι δυνατό να οδηγήσει σε επιδείνωση χρόνιων παθήσεων που προϋπάρχουν στον ασθενή. Η κλινική εικόνα των ασθενών μπορεί να είναι από ήπια έως βαριά, με κατάληξη τον θάνατο.

Η διάγνωση της νόσου βασίζεται στο ιστορικό και σε συμπληρωματικές εξετάσεις, που τεκμηριώνουν την ύπαρξη του ιού σε υγρά ή αποχρέψεις που λαμβάνονται από το αναπνευστικό σύστημα του ασθενούς. Η θεραπεία βασίζεται σε αντιικά φάρμακα, όπως η αμανταδίνη, η ριμανταδίνη, η οσελταμιβίρη και η ζαναμιβίρη.

Ο ιός H1N1 της γρίπης των χοίρων παρουσιάζει συχνές μεταλλάξεις. Η νέα μεταλλαγμένη μορφή του ιού αυτού, που προσβάλλει τους ανθρώπους, περιέχει γενετικό υλικό το οποίο συνήθως υπάρχει στους τύπους του ιού αυτού που προσβάλλει τους ανθρώπους, τα πουλιά και τους χοίρους (Naffakh and Van der Werf, 2009). Για την πρόληψη της νόσου, συστήνεται ο εμβολιασμός των ανθρώπων, ενώ υπάρχει και εμβόλιο για την πρόληψη της νόσου στους χοίρους. Επιπλέον, θα πρέπει να τηρούνται σχολαστικά οι κανόνες υγιεινής, ιδιαίτερα σε ό,τι αφορά τους χειρισμούς χοίρων οι οποίοι προέρχονται από μη ελεγμένες για τον ιό εκτροφές.

13.6. ΖΩΑΝΘΡΩΠΟΝΟΣΟΙ ΠΡΟΕΡΧΟΜΕΝΕΣ ΑΠΟ ΣΑΡΚΟΦΑΓΑ

13.6.1. Μολύνσεις από δήγματα

Οι χειρισμοί σαρκοφάγων, όπως ο σκύλος και η γάτα, εμπεριέχουν τον κίνδυνο δηγμάτων. Η φυσιολογική μικροβιακή χλωρίδα του στόματός τους περιέχει την *Pasteurella multocida*, η οποία προκαλεί σοβαρές μολύνσεις στον άνθρωπο. Το βακτήριο *Cytocapnophya canimorsus* έχει ανιχνευθεί στη φυσιολογική χλωρίδα του στόματος του σκύλου και μπορεί επίσης να προκαλέσει μολύνσεις. Ο άμεσος και ενδεδειγμένος καθαρισμός των τραυμάτων μπορεί να αποτρέψει τη μόλυνση, η οποία αντιμετωπίζεται με αντιβιοτικά (Detmer, 1994).

13.6.2. Λύσσα

Ο ιός της λύσσας προσβάλλει το κεντρικό νευρικό σύστημα. Η νόσος αναφέρεται σε όλες τις ηπείρους, εκτός από την Αυστραλία. Προσβάλλει όλα τα θερμόαιμα ζώα, συμπεριλαμβανομένων των πτηνών. Μεταδίδεται με τα δήγματα. Εκδηλώνεται σε δύο κλινικές μορφές, τη μανιώδη και την παραλυτική. Η πρώτη εκδήλωση και στις δύο μορφές αφορά διαταραχές της συμπεριφοράς του ζώου. Στη μανιώδη μορφή, ο σκύλος γίνεται επιθετικός, παρουσιάζει σιελόρροια και, τελικά, σπασμούς και παράλυση, με κατάληξη τον θάνατο. Στην παραλυτική μορφή, το ζώο παραλύει σύντομα και καταλήγει. Για το προσωπικό που χειρίζεται σκύλους, γάτες και άγρια ζώα υπάρχει κίνδυνος στις χώρες όπου ενδημεί η νόσος.

Ο χρόνος επώασης κυμαίνεται από λίγες ημέρες έως ένα έτος και είναι τόσο συντομότερος όσο πιο κοντά στην κεφαλή γίνεται το δήγμα. Αν δεν αντιμετωπιστεί άμεσα, η νόσος είναι θανατηφόρος. Το τραύμα θα πρέπει να καθαρίζεται και να απολυμαίνεται άμεσα και να γίνεται διήθηση τοπικά με αντιορό. Λόγω του μεγάλου χρόνου επώασης, γίνεται εμβολιασμός, ακόμη και μετά τον τραυματισμό. Προληπτικά, θα πρέπει να γίνεται εμβολιασμός των ζώων καθώς και του προσωπικού, στις περιοχές όπου ενδημεί η νόσος.

13.6.3. Λεπτοσπείρωση

Οι *Leptospira ichterohaemorrhagiae* και *L. canicola* ανευρίσκονται στον σκύλο και μεταδίδονται με τα ούρα. Στον σκύλο η λεπτοσπείρωση εκδηλώνεται με γαστρεντερίτιδα, ειλέο και νεφρίτιδα. Η διάγνωση μπορεί να γίνει ορολογικά. Προληπτικά, μπορεί να γίνει εμβολιασμός. Θεραπευτικά, χορηγείται στρεπτομυκίνη. Στον άνθρωπο ο χρόνος επώασης είναι 3 έως 20 ημέρες και εκδηλώνεται πυρετός, έμετος, ειλέος, αιμολυτική αναιμία και νεφρίτιδα.

13.6.4. Τοξοπλάσμωση

Προκαλείται από το πρωτόζωο *Toxoplasma gondii*. Ο τελικός ξενιστής είναι η γάτα, η οποία φιλοξενεί το παράσιτο στο έντερο. Ενδιάμεσοι ξενιστές είναι διάφορα είδη ζώων, συμπεριλαμβανομένων των πουλιών, και ο άνθρωπος, στον οποίον ανευρίσκεται η κύστη του παρασίτου στους σκελετικούς μυς. Επίσης, το πρωτόζωο μπορεί να ανιχνευθεί στον πλακούντα έγκυων προβάτων. Η νόσος είναι συνήθως υποκλινική. Ο άνθρωπος μολύνεται συνήθως με τη βρώση ατελώς ψημένου κρέατος από μολυσμένα αιγοπρόβατα ή με κατάποση ωοκύστεων που βρίσκονται σε κόπρανα γάτας. Συνήθως, δεν παρατηρούνται συμπτώματα, αλλά μπορεί να εκδηλωθεί πυρετός και κεφαλαλγία. Ο μεγαλύτερος κίνδυνος είναι η συγγενής μόλυνση κατά το δεύτερο τρίμηνο της κύησης, που οδηγεί σε διανοητική καθυστέρηση ή τύφλωση των παιδιών που θα γεννηθούν από αυτήν την εγκυμοσύνη. Προληπτικά, θα πρέπει να αποφεύγεται η επαφή των έγκυων γυναικών με κόπρανα γάτας και κιοφορούσες προβατίνες.

13.6.5. Λεισμανίαση

Η λεισμανίαση είναι παρασιτική νόσος, που προκαλείται από νύγμα μολυσμένης σκνίπας του γένους *Phlebotomus* με το ενδοκυττάριο πρωτόζωο του γένους *Leishmania spp.* Η σκνίπα μολύνεται τσιμπώντας μολυσμένους με *Leishmania* σκύλους, επίμυς ή ανθρώπους. Στον σκύλο μπορεί να εκδηλωθεί με τρεις μορφές: τη δερματική, τη βλεννογονική ή τη σπλαχνική. Η πιο συχνή μορφή στον άνθρωπο είναι η δερματική. Προληπτικά, θα πρέπει να λαμβάνονται μέτρα για την αποφυγή της νύξης των ζώων και του ανθρώπου από σκνίπες.

13.6.6. Νόσος από νύγμα γάτας

Πρόκειται για νόσο αγνώστου αιτιολογίας. Συχνά, ανευρίσκεται σε ιστολογικές τομές ένας Gram αρνητικός βάκιλος. Ο χρόνος επώασης στον άνθρωπο κυμαίνεται από 3 έως 14 ημέρες. Προκαλείται λεμφαδενοπάθεια, η οποία μπορεί να συνεχιστεί για μήνες. Η μόλυνση μπορεί να αποφευχθεί με τον άμεσο χειρουργικό καθαρισμό του τραύματος.

13.6.7. Παρασιτώσεις

Ενδοπαράσιτα που μπορεί να μεταδοθούν στον άνθρωπο είναι τα *Echinococcus granulosus*, *Toxocara canis* και *Toxocara cati*, *Strongyloides stercoralis* και νηματώδη του σκύλου. Επιπλέον, είναι δυνατό να μεταδοθούν εξωπαράσιτα, όπως ακάρεα (*Sarcoptes spp.*, *Cheyletiella spp.*) και κρότωνα (*Dermacentor andersoni*, *Dermacentor variabilis*, *Ixodes spp.*). Η μετάδοση αποφεύγεται με την τήρηση των κανόνων υγιεινής και την εφαρμογή προληπτικής αντιπαρασιτικής αγωγής στα ζώα.

13.6.8. Μυκητιάσεις

Μύκητες του γένους *Microsporum spp.* και *Trichophyton spp.* μπορούν να μεταδοθούν από τον σκύλο και τη γάτα στον άνθρωπο.

13.7. ΖΩΑΝΘΡΩΠΟΝΟΣΟΙ ΠΡΟΕΡΧΟΜΕΝΕΣ ΑΠΟ ΠΡΩΤΕΥΟΝΤΑ ΠΛΗΝ ΑΝΘΡΩΠΟΥ

Εξαιτίας της στενής γενετικής συγγένειας μεταξύ πρωτεύοντων πλην ανθρώπου (NHP: Non Human Primates) και ανθρώπου, είναι εύκολη η μετάδοση ασθενειών μεταξύ τους. Οι παθογόνοι μικροοργανισμοί που μπορεί να μεταδοθούν περιλαμβάνουν βακτήρια, ιούς, μύκητες και παράσιτα. Αυτοί μπορούν να μεταδοθούν με δήγματα, νύγματα, χειρισμούς των ζώων ή των ιστών τους, αερογενώς μέσω αερολύματος ή σταγονιδίων, με την πεπτική οδό ή με αρθρώποδα (Ανώνυμος, 2021α).

13.7.1. Λύσσα

Θεωρείται σπάνιο νόσημα για NHP που διατηρούνται σε κλειστές εγκαταστάσεις εκτροφής.

13.7.2. Ιός B (Cercopithecine herpesvirus 1)

Έως το 90% των μακάκων μπορεί να είναι φορείς του ιού B. Οι περισσότεροι από αυτούς είναι ασυμπτωματικοί, ενώ άλλοι παρουσιάζουν αλλοιώσεις στη στοματική κοιλότητα. Το προσωπικό των εγκαταστάσεων εκτροφής/χρήσης μπορεί να μολυνθεί μέσω δήγματος, νύγματος ή νύξης από βελόνα με μολυσμένο υλικό. Η νόσος εκδηλώνεται με τη μορφή ταχέως εξελισσόμενης εγκεφαλομυελίτιδας, με θνητότητα που φτάνει το 70%.

13.7.3. Φυματίωση

Τα NHP είναι πολύ ευαίσθητα στη μόλυνση από το μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης (*Mycobacterium tuberculosis*), το οποίο μπορεί να μεταδώσουν στον άνθρωπο. Η μόλυνσή τους μπορεί να γίνει από τον άνθρωπο ή άλλα ζώα. Κατά την καραντίνα 31 ημερών που προβλέπεται κατά την εισαγωγή NHP, εκτελούνται τουλάχιστον 3 ενδοδερμικές δοκιμασίες στη φυματίνη, για τον έλεγχο των ζώων για φυματίωση.

13.7.4. Λοιμώξεις τραυμάτων

Έχουν διαπιστωθεί περίπου 224 είδη βακτηρίων, που ανιχνεύονται στον σίελο του ανθρώπου και των ζώων, τα οποία μπορούν να επιμολύνουν τραύματα. Οι οργανισμοί που ανιχνεύονται συνήθως στη στοματική κοιλότητα των πιθήκων *Rhesus* είναι τα είδη *Neisseria spp.*, ο α-αιμολυτικός στρεπτόκοκκος και ο *Haemophilus parainfluenza*. Επίσης, υπάρχει η πιθανότητα μόλυνσης από τον προαιρετικά αναερόβιο βάκιλο *Eikenella corrodens*.

13.7.5. Νόσοι του εντέρου

Νόσοι του εντέρου μπορεί να προκληθούν από μετάδοση παθογόνων παραγόντων από την πεπτική οδό, μέσω των κοπράνων. Οι πιο συχνοί παθογόνοι παράγοντες είναι τα βακτήρια *Shigella spp.*, *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*, τα πρωτόζωα *Cryptosporidium spp.*, *Giardia spp.*, *Amoeba spp.*, *Balantidia spp.* και οι έλμινθες *Strongyloides*.

13.7.6. Ο Simian ιός της ανοσοανεπάρκειας (SIV)

Ο ιός SIV συγγενεύει με τους ιούς HIV-1 και HIV-2 (αίτια του AIDS) και προκαλεί στους μακάκους νόσο με συμπτωματολογία παρόμοια με εκείνη του AIDS. Μπορεί να προκαλέσει ασυμπτωματική νόσο σε άλλα είδη. Δεν έχουν αναφερθεί περιστατικά νόσου στον άνθρωπο, αν και έχει αναφερθεί ανάπτυξη αντισωμάτων σε προσωπικό που χειριζόταν NHP.

13.7.7. Ιοί Marburg και Ebola (Filoviruses)

Έχει αναφερθεί νόσος μετά από μόλυνση με τους ιούς Marburg και Ebola.

Η ελάχιστη απαίτηση για ένα ζώο εργαστηρίου και γενικότερα μια εγκαταστάση εκτροφής ή χρήσης είναι η απουσία ζωονοσογόνων, οι οποίες θα έθεταν σε κίνδυνο την υγεία του προσωπικού. Η καλύτερη δυνατή αντιμετώπιση ενός τόσο σοβαρού θέματος είναι η γνώση των πιθανών κινδύνων, η προσεκτική παρατήρηση των ζώων, η οποία θα μπορούσε να οδηγήσει σε υποψία και ακολούθως σε έγκαιρη διάγνωση του προβλήματος, η σχολαστική τήρηση των κανόνων υγιεινής και η προμήθεια ζώων από εκτροφές όπου εφαρμόζονται προγράμματα ελέγχου της υγείας.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Anderson, L.C., Leary, S.L., & Manning, P.J. (1983). Rat-bite fever in animal research laboratory personnel. *Laboratory Animal Science*, 33, 292-294
- Broderson, J.R., & Gluckstein, F.P. (1994). Zoonoses and occupational health considerations. In P.J. Manning, D.H. Ringler, & C.E. Newcomer (Eds.), *The biology of the laboratory rabbit*. 2nd edition (pp. 355-366). Academic Press. ISBN-13: 978-0124692350
- Detmer, A. (1994). Zoonoses. In P. Svendesen, & J. Hau (Eds.), *Handbook of laboratory animal science*. Vol.I. Selection and handling of animals in biomedical research (pp. 71-78). CRC Press. ISBN-13: 978-0849343780
- Murphy, J.C., Ackerman, J.I., Marini, R.P., & Fox, J.G. (1991). Cervical lymphadenitis in guinea pigs: infection via intact ocular and nasal mucosa by *Streptococcus zooepidemicus*. *Laboratory Animal Science*, 41, 251-254
- Naffakh, N., & Van der Werf, S. (2009). April 2009: an outbreak of swine-origin influenza A (H1N1) virus with evidence for human-to-human transmission. *Microbes and Infection*, 11, 725-728. <http://doi.org/10.1016/j.micinf.2009.05.002>
- Newcomer, C.E., Ackerman, J.I., Murphy, J.C., & Fox, J.G. (1984). The pathogenicity of *Salmonella mbandaka* in specific pathogen free rabbits. *Laboratory Animal Science*, 34, 588-591
- Ανώνυμος. (2021). Centers for Disease Control and Prevention. Key Facts about Human Infections with Variant Viruses. <https://www.cdc.gov/flu/swineflu/keyfacts-variant.htm>
- Ανώνυμος. (2021α). Virginia Department of Health. Environmental epidemiology. Zoonoses. Non-human primates. <https://www.vdh.virginia.gov/environmental-epidemiology/zoonoses/non-human-primates/>

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΤΡΩΚΤΙΚΑ

ΖΩΟΛΟΓΙΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΡΩΚΤΙΚΩΝ

ΤΑΞΗ	ΥΠΟΤΑΞΗ	ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ	ΓΕΝΟΣ	ΕΙΔΟΣ
	<i>Myomorpha</i>	<i>Muridae</i>	<i>Mus</i>	<i>M. musculus</i> (μυς)
			<i>Rattus</i>	<i>R. norvegicus</i> (επίμυς)
<i>Rodentia</i>		<i>Cricetidae</i>	<i>Mesocricetus</i>	<i>M. auratus</i> (συριακό χάμστερ)
			<i>Meriones</i>	<i>M. unguiculatus</i> (γέρβιλος)
	<i>Hystricomorpha</i>	<i>Caviidae</i>	<i>Cavia</i>	<i>C. porcellus</i> (ινδικό χοιρίδιο)
	<i>Sciuromorpha</i>			

Κεφάλαιο 14

Σύνοψη

Στο κεφάλαιο αυτό γίνεται αναφορά σε στοιχεία ανατομίας, φυσιολογίας και βιολογίας του μυός. Περιγράφονται οι συνθήκες εκτροφής, οι μέθοδοι σύλληψης, συγκράτησης, χορήγησης ουσιών, αιμοληψίας, αναισθησίας και ευθανασίας.

Προαπαιτούμενη γνώση

Είναι χρήσιμη η γνώση που έχει αποκομισθεί από το Γενικό Μέρος του συγγράμματος επί των συνθηκών εκτροφής, των μεθόδων σύλληψης, συγκράτησης, χορήγησης ουσιών, αιμοληψίας, αναισθησίας και ευθανασίας.

14 ΜΥΣ (ΠΟΝΤΙΚΙ, MOUSE)

14.1. ΟΝΟΜΑΤΟΛΟΓΙΑ – ΧΡΗΣΕΙΣ

Ο μυς (*Mus musculus*) είναι το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο είδος ζώου στη βιοϊατρική έρευνα. Έχει πλεονεκτήματα έναντι άλλων ειδών ζώων εργαστηρίου, που αφορούν το μικρό μέγεθός του, την ευκολία εκτροφής του, τον σχετικά σύντομο αναπαραγωγικό του κύκλο, αλλά κυρίως το πλήρως χαρακτηρισμένο γενετικό υλικό του (Mouse Genome Sequencing Consortium, 2002), το οποίο παρουσιάζει μεγάλη συγγένεια με εκείνο του ανθρώπου. Χρησιμοποιείται σε έρευνες που αφορούν τον έλεγχο και τη δημιουργία νέων φαρμάκων, τη μελέτη του καρκίνου, την παραγωγή εμβολίων και μονοκλωνικών αντισωμάτων, την Τοξικολογία, τη Φαρμακολογία, τη Μικροβιολογία, την Ανοσολογία, τη Βιοχημεία, τη Γενετική και τη Φυσιολογία.

Σε ζωικά πρότυπα μυών χρησιμοποιούνται αμιγείς (ή αιμομεικτικές) φυλές (inbred strains), διαγονιδιακοί (transgenic) μύες και συγγενικές φυλές (congenic strains). Μια αμιγής φυλή προκύπτει από την αιμομεικτική αναπαραγωγή, για τουλάχιστον 20 γενεές, μεταξύ αδερφιών ή μεταξύ γονέων και των απογόνων τους, από όπου προκύπτουν ζώα με πολύ υψηλή γενετική ομοιότητα. Διαγονιδιακοί μύες με συγκεκριμένες μεταλλάξεις γονιδίων μπορούν να παραχθούν με τη βοήθεια σύγχρονων τεχνικών γενετικής μηχανικής (π.χ. μέθοδος CRISPR) (Smith, 2022). Ως συγγενική φυλή ορίζεται μια αμιγής φυλή, στο γονιδίωμα της οποίας περιλαμβάνεται μια μικρή γενετική περιοχή (ιδεωδώς, ένα μόνο γονίδιο) από άλλη φυλή, η οποία όμως κατά τα λοιπά είναι πανομοιότυπη με την αρχική αμιγή φυλή. Η συγγενική φυλή προκύπτει από διασταυρώσεις του F1 υβριδικού απογόνου με έναν από τους αμιγείς γεννήτορές του, για τουλάχιστον 10 γενεές, ενώ παράλληλα γίνεται επιλογή για ετεροζυγωτία σε μια συγκεκριμένη περιοχή του γονιδιώματος (Anonymous, 2021).

Συχνά χρησιμοποιούμενες αμιγείς φυλές είναι οι A, BALB/c, C3H, C57BL/6, C57BL/10, C57BR, C58, DBA, FVB, NZB, NZW, SJL, SWR και 129/Sv. Αυτές συμβολίζονται με συνδυασμό κεφαλαίων λατινικών γραμμάτων (συνήθως τα αρχικά από τα εργαστήρια όπου έχουν παραχθεί) ή και αριθμών. Ο αριθμός των γενεών αιμομεικτικής αναπαραγωγής μπορεί να αναφέρεται σε παρένθεση, π.χ. (F159).

(A)



(B)



Εικόνα 14.1 Μύες: (A) BALB/C, (B) C57BL/6.

Από τις αμιγείς φυλές μπορεί να προκύψουν υποφυλές (substrains), των οποίων το γενετικό υλικό διαφοροποιείται από εκείνο των αρχικών αμιγών φυλών. Αυτό μπορεί να συμβεί υπό κατάλληλες προϋποθέσεις, όπως α) διαχωρισμό ενός κλάδου (branch) μιας αμιγούς φυλής από την πατρογονική του αποικία, μετά από 20 γενεές –αλλά προτού συμπληρωθούν 40 γενεές– αιμομεικτικής αναπαραγωγής, β) αν γίνει ξεχωριστή αιμομεικτική αναπαραγωγή ενός κλάδου μιας αμιγούς φυλής για περισσότερο από 20 γενεές ή γ) αν διαπιστωθεί, με τη βοήθεια γενετικής ανάλυσης, διαφοροποίηση του γενετικού υλικού από εκείνο της αρχικής φυλής (Smith, 2022).

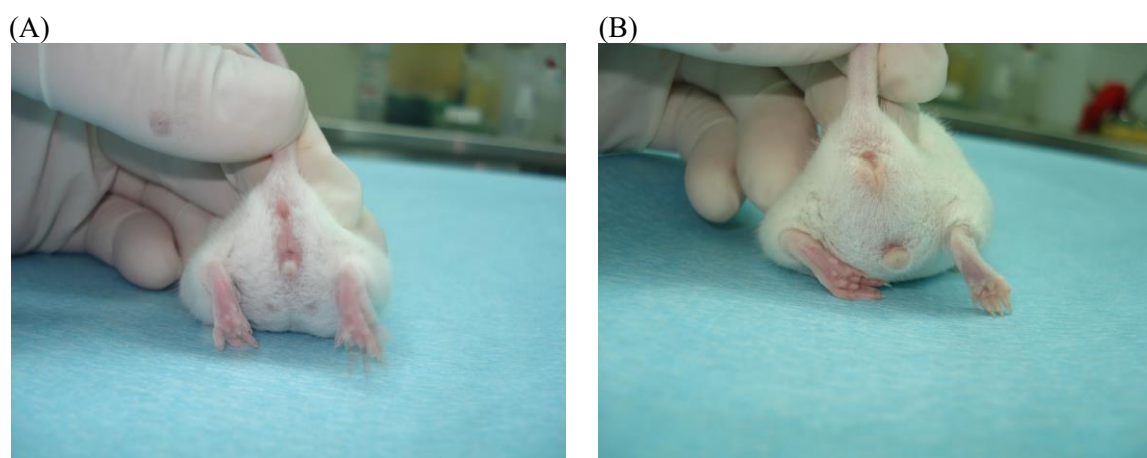
14.2. ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ

Οι μύες ζουν σε ομάδες με ιεραρχία. Σημαντικό ρόλο παίζουν οι φερομόνες, οι οποίες, μεταξύ άλλων, αποτελούν μέσο αναγνώρισης των ζώων της ίδιας ομάδας. Είναι νυκτόβια ζώα και έτσι η δραστηριότητά τους είναι ιδιαίτερα αυξημένη τη νύχτα. Είναι δυνατό να παρατηρηθούν διαφορές στη συμπεριφορά και στη δραστηριότητα μεταξύ ζώων διαφορετικών αμιγών φυλών.

14.3. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ

Το σωματικό βάρος των ενήλικων μυών είναι 20-30 g για τα αρσενικά και 25-40 g για τα θηλυκά. Έχουν διάρκεια ζωής 2-3 χρόνια. Η θερμοκρασία του σώματός τους είναι 36,5-38,0 °C και ρυθμίζεται κυρίως με ιδρωτοποιούς αδένες που βρίσκονται στην πελματιαία επιφάνεια του άκρου ποδός. Ο καρδιακός ρυθμός τους είναι 300-800 παλμοί/min, ενώ ο αναπνευστικός 100-200 αναπνοές/min (Havenaar et al., 2001, Flurkey et al., 2007).

Ο προσδιορισμός του φύλου γίνεται με βάση την απόσταση μεταξύ του πρωκτού και της πτυχής του έξω γεννητικού οργάνου. Αυτή η απόσταση είναι μεγαλύτερη στα αρσενικά από ό,τι στα θηλυκά ζώα. Επιπλέον, στα θηλυκά ζώα η περιοχή αυτή είναι άτριχη. Ορισμένες φορές, είναι δυνατό να διακριθούν οι όρχεις στο αρσενικό, άλλες φορές όμως όχι (Εικόνα 14.2).



Εικόνα 14.2 Προσδιορισμός φύλου. (Α) Θηλυκός μυς. (Β) Αρσενικός μυς.

Σημειώνεται ότι, όπως όλα τα τρωκτικά, οι μύες εκδηλώνουν το φαινόμενο της κοπροφαγίας.

14.4. ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ

Ο μυς ενηλώνεται πολύ πρώιμα, σε ηλικία 5 εβδομάδων. Ωστόσο, οδηγείται για σύζευξη (διασταύρωση) σε ηλικία 8-10 εβδομάδων. Ο θηλυκός μυς είναι ζώο πολυοιστρικό, δηλαδή παρουσιάζει ωοθηκικούς κύκλους καθ' όλη τη διάρκεια του έτους. Ο ωοθηκικός κύκλος διαρκεί 2-9 ημέρες (κατά μέσο όρο 4 ημέρες), ενώ ο οίστρος 14 ώρες. Τα στάδια του ωοθηκικού κύκλου (πρόοιστρος, οίστρος, μέτοιστρος, δίοιστρος) μπορούν να καθοριστούν με ακρίβεια, με Κυτταρολογική Εξέταση Κολπικών Επιχρισμάτων (ΚΕΚΕ). Θηλυκά που στεγάζονται ομαδικά, απουσία αρσενικού, έχουν συχνά ακανόνιστο ωοθηκικό κύκλο. Ωστόσο, αν εισαχθεί ένα αρσενικό στην ομάδα των θηλυκών, παρατηρείται συγχρονισμός του οίστρου των ζώων της ομάδας (φαινόμενο Whitten). Το φαινόμενο αυτό αποδίδεται στις φερομόνες που περιέχονται στα ούρα του

αρσενικού.

Εφαρμόζονται διάφορα συστήματα αναπαραγωγής. Είναι δυνατό να στεγαστεί ένα αρσενικό με ένα θηλυκό (μονογαμικό σύστημα), με δύο θηλυκά (σύστημα «τρίο») ή με 3-6 θηλυκά (πολυγαμικό σύστημα). Στο τελευταίο σύστημα, τα έγκυα θηλυκά απομακρύνονται μερικές ημέρες πριν από τον τοκετό. Η επιβεβαίωση της επίβασης γίνεται είτε από την παρουσία ζελατινώδους βύσματος στον κόλπο τις πρώτες 24 ώρες μετά την επίβαση (post coitum, p.c.) (Εικόνα 14.3) είτε με την ανεύρεση σπερματοζωαρίων σε παρατήρηση στο μικροσκόπιο κολπικού εκπλύματος. Αν ένα θηλυκό στεγαστεί με δεύτερο αρσενικό, κατά τις πρώτες ημέρες μετά από γόνιμη σύζευξη η κύηση συνήθως διακόπτεται, λόγω αποτυχίας εγκατάστασης των βλαστοκύστεων (φαινόμενο *Bruce*). Το φαινόμενο αυτό αποδίδεται στη δράση φερομονών που περιέχονται στα ούρα του νέου αρσενικού (Saxton, 2018).

Η εγκυμοσύνη στον μυ διαρκεί 18-21 ημέρες (μέσος όρος 19 ημέρες). Σε κάθε τοκετό γεννιούνται 6-12 νεογέννητα, που είναι άτριχα και ζυγίζουν 0,5-1,5 g το καθένα (Εικόνα 14.4). Η γαλουχία διαρκεί 21-28 ημέρες.



Εικόνα 14.3 Κολπικό βύσμα μετά από επιτυχή σύζευξη στον μυ (Montoliu, 2022).



Εικόνα 14.4 Νεογέννητοι μύες (Anonymous, 2022).

14.5. ΕΚΤΡΟΦΗ

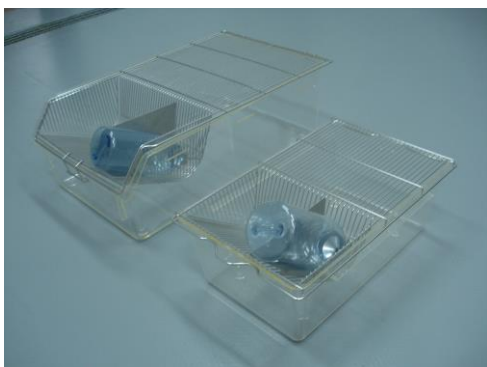
Οι μύες είναι δυνατό να εκτραφούν σε θαλάμους συμβατικής στέγασης ή σε θαλάμους με φραγμούς (αξενικά ζώα, ζώα με γνωστή μικροβιακή χλωρίδα, SPF ζώα). Συχνά, εφαρμόζεται η ομαδική στέγαση (συνήθως όχι περισσότερα από 6-8 ζώα ανά κλουβί, σε ομάδες γνωστές). Τα ενήλικα αρσενικά διατηρούνται σε μικρότερους αριθμούς ανά κλουβί, λόγω της επιθετικής συμπεριφοράς που μπορεί να επιδεικνύουν ορισμένες φυλές.

Τα κλουβιά των μυών αποτελούνται από ειδικό διαφανές πλαστικό, όπως polycarbonate (Makrolon), polysulfone ή polyetherimide, το οποίο είναι ανθεκτικό σε χημική, μηχανική και θερμική καταπόνηση, και μπορεί να υποστεί αποστείρωση σε κλίβανο υγρής αποστείρωσης χωρίς να καταστραφεί (Εικόνα 14.5Α). Καλύπτονται από ανοξείδωτο μεταλλικό πλέγμα, στο οποίο μπορεί να προσαρμοστεί και επιπλέον πλαστικό κάλυμμα με φίλτρο αέρα (Εικόνα 14.5Β). Το μεταλλικό κάλυμμα έχει υποδοχή όπου τοποθετείται η τροφή

και μία άλλη όπου τοποθετείται πλαστικό μπουκάλι με νερό. Το δάπεδο των κλουβιών είναι κατά κανόνα συμπαγές και σε αυτό προστίθεται στρωμή, ενώ σε ειδικές περιπτώσεις μπορεί να είναι σχαρωτό, όπου ωστόσο δεν συστήνεται να διατηρούνται για μεγάλο χρονικό διάστημα. Η στρωμή συνήθως αποτελείται από υποπροϊόντα επεξεργασίας ξύλου (π.χ. ροκανίδι) ή καλαμποκιού ή από χαρτί. Χρησιμεύει στην απορρόφηση της υγρασίας, τη διατήρηση, κατά το δυνατό, στεγνού του κλουβιού και την αποφυγή ανάπτυξης μικροβίων, παραγωγής αμμωνίας και άλλων τοξικών ουσιών, τη διασπορά οσμών, τον εμπλουτισμό του περιβάλλοντος του ζώου καθώς και τη δυνατότητα ρύθμισης της θερμοκρασίας του. Κατά τη διάρκεια της παραγωγής της, η στρωμή υφίσταται θερμική επεξεργασία, για τη μείωση της υγρασίας της καθώς και του μικροβιακού φορτίου της.

Η ελάχιστη επιφάνεια ενός κλουβιού είναι 330 cm^2 και διατίθενται τύποι κλουβιών με επιφάνεια δαπέδου που ξεκινά από 335 cm^2 και μπορεί να φτάσει τα 1.500 cm^2 . Οι ελάχιστες διαστάσεις των κλουβιών, ανάλογα με την κατηγορία των ζώων, αναφέρονται αναλυτικά στον Πίνακα 5.2. Τα κλουβιά τοποθετούνται σε μεταλλικές ράμπες σχηματίζοντας συστοιχίες (Εικόνα 14.5Γ). Πέραν των συμβατικών τύπων κλουβιών, χρησιμοποιούνται και συστήματα ατομικώς αεριζόμενων κλουβιών (IVC cages), τα οποία έχουν περιγραφεί στο Κεφάλαιο 5. Μέσα στα κλουβιά τοποθετούνται στοιχεία εμπλουτισμού του περιβάλλοντος, όπως πλαστικοί ή χάρτινοι κύλινδροι/σπίτια.

(Α)



(Β)



(Γ)



Εικόνα 14.5 (Α) Συμβατικά κλουβιά τρωκτικών. (Β) Κλουβί τρωκτικών με κάλυμμα με φίλτρο αέρα. (Γ) Συστοιχία κλουβιών τρωκτικών.

14.5.1. Συνθήκες περιβάλλοντος

Ο μυς είναι ζώο με μεγάλη προσαρμοστικότητα. Ωστόσο, δείχνει ιδιαίτερη ευαισθησία στις μεταβολές της θερμοκρασίας, την έλλειψη νερού καθώς και την ακρόαση υπερήχων, γι' αυτό θα πρέπει να δίνεται προσοχή σε αυτές τις παραμέτρους. Η συνιστώμενη θερμοκρασία περιβάλλοντος είναι $20-24 \text{ }^\circ\text{C}$, η σχετική υγρασία $50-60\%$, ενώ ο αέρας θα πρέπει να ανανεώνεται τουλάχιστον 15 φορές την ώρα. Με τη χρήση συστημάτων IVC, η ανανέωση του αέρα εντός του κλουβιού μπορεί να αυξηθεί σε 30 έως 80 ανανεώσεις αέρα την ώρα,

γι' αυτό συστήνεται να υπάρχει εμπλουτισμός του περιβάλλοντος με κυλίνδρους/σπίτια, ώστε να έχουν τη δυνατότητα αποφυγής του ρεύματος του αέρα.

Η φωτοπερίοδος αποτελεί παράγοντα που παίζει σημαντικό ρόλο στην εκδήλωση φυσιολογικής συμπεριφοράς και φυσιολογικής αναπαραγωγικής δραστηριότητας και ρυθμίζεται στις 12-14 ώρες. Η ένταση του φωτός του θαλάμου δεν θα πρέπει να υπερβαίνει τα 300-400 lux, ενώ του κλουβιού τα 60 lux, προκειμένου να αποφεύγεται ο ερεθισμός των οφθαλμών, ιδιαίτερα των μυών με αλφισμό (Hedrich and Nicklas, 2012).

14.5.2. Διατροφή

Η τροφή έχει τη μορφή συμπύκτων (pellets) και χορηγείται για κατά βούληση κατανάλωση. Κατά τις περιόδους ανάπτυξης, εγκυμοσύνης και γαλουχίας, συστήνεται η χορήγηση τροφής πλούσιας σε πρωτεΐνες (22%), ενώ κατά την περίοδο συντήρησης η συγκέντρωση των πρωτεϊνών μειώνεται (16%). Η ποσότητα τροφής που καταναλώνεται ημερησίως ανά ζώο είναι 3-5 g.

Θα πρέπει να υπάρχει συνεχώς διαθέσιμο φρέσκο νερό. Οι απαιτήσεις σε νερό εξαρτώνται από την υγρασία της τροφής που χορηγείται. Το νερό μπορεί να προσφέρεται είτε σε πλαστικές ποτίστρες είτε με αυτόματο σύστημα ύδρευσης. Ανάλογα με τη μικροβιολογική κατάσταση των ζώων, το νερό μπορεί να υποστεί προηγουμένως οξίνιση, χλωρίωση ή αποστείρωση (απομονωτήρες). Η ποσότητα νερού που καταναλώνεται ημερησίως ανά ζώο είναι 6-7 mL.

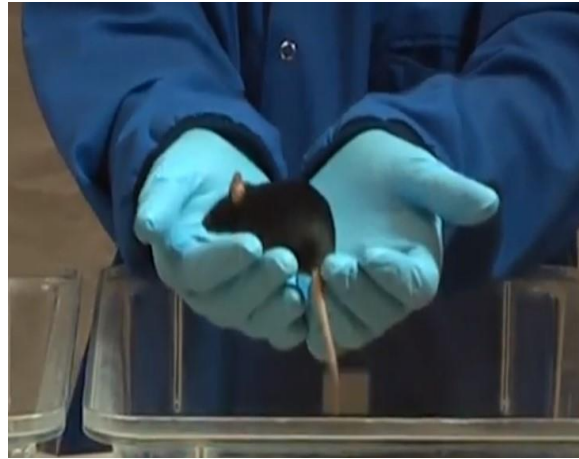
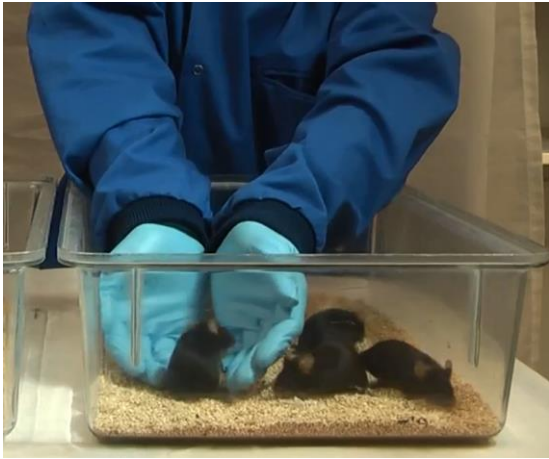
14.6. ΣΥΛΛΗΨΗ – ΣΥΓΚΡΑΤΗΣΗ

Ένας απλός τρόπος για να συλλάβουμε έναν μυ είναι από την ουρά του, 1 cm περίπου από τη βάση της (Εικόνα 14.6Α). Για σύντομη εξέταση, μπορεί να τοποθετηθεί ο μυς στην ανοικτή παλάμη μας, ενώ ακόμη κρατείται από την ουρά. Ωστόσο, μελέτες έχουν δείξει ότι η σύλληψη του μυός από την ουρά του προκαλεί άγχος, επομένως συστήνεται να συλλαμβάνεται είτε ανάμεσα στις παλάμες μας, τις οποίες προηγουμένως έχουμε ενώσει για να σχηματίσουμε μια «φωλιά» (Εικόνα 14.6Β) είτε οδηγώντας τον εντός ενός κυλίνδρου (διάφανου πλαστικού ή χάρτινου), τα άκρα του οποίου στη συνέχεια μπορούμε να καλύψουμε με τις παλάμες μας, για να εμποδίσουμε τη διαφυγή του (Εικόνα 14.6Γ) (Anonymus, 2002a).

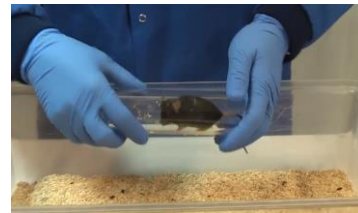
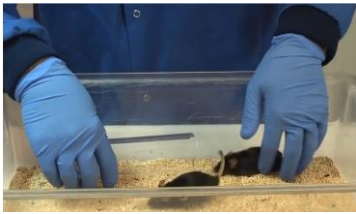
(A)



(B)



(Γ)



Εικόνα 14.6. Σύλληψη του μύος (Α) από τη βάση της ουράς του, (Β) ανάμεσα στις παλάμες μας ή (Γ) με τη βοήθεια κυλίνδρου (Anonymous, 2022a).

Για σύντομη εξέταση ή χορήγηση ουσιών, ο μύς μπορεί να συγκρατηθεί από πτυχή του δέρματος του τραχήλου (scruffing). Αρχικά, συλλαμβάνουμε το ζώο από την ουρά του και στη συνέχεια το πλησιάζουμε σε τραχεία επιφάνεια (π.χ. το μεταλλικό πλέγμα που καλύπτει το κλουβί του), όπου επιχειρεί να συγκρατηθεί με τα άκρα του (Εικόνα 14.7Α). Τότε, συλλαμβάνουμε μεταξύ του αντίχειρα και του δείκτη του άλλου χεριού μας την πτυχή του δέρματος του τραχήλου (Εικόνα 14.7Β) και ανασηκώνουμε το ζώο (Εικόνα 14.7Γ). Ακολούθως, μπορούμε με το μικρό δάκτυλο του ίδιου χεριού να συγκρατήσουμε την ουρά του. Με αυτόν τον τρόπο, συγκρατείται το ζώο με τη χρήση ενός μόνο χεριού (Εικόνα 14.7Δ).

(Α)



(Γ)

(Β)



(Δ)



Εικόνα 14.7 Συγκράτηση του μυός από πτυχή του δέρματος του τραχήλου.

(Α) Συγκράτηση του ζώου στο μεταλλικό κάλυμμα του κλουβιού. (Β) Σύλληψη από την πτυχή του δέρματος του αυχένα. (Γ) Ανύψωση. (Δ) Συγκράτηση της ουράς με το μικρό δάκτυλο (Anonymous, 2022b).

Video: <https://researchanimaltraining.com/articles/handling-and-restraint-in-the-mouse/>

Πρόσφατα, αναπτύχθηκε πλαστική συσκευή η οποία βοηθά τον χειριστή στη συγκράτηση του μυός από το δέρμα της πτυχής του τραχήλου (Scruff Guard) (Εικόνα 14.8Α). Ο μυς τοποθετείται σε τραχειά επιφάνεια (Εικόνα 14.8Β) και στη συνέχεια καλύπτεται από τη συσκευή, αφήνοντας ελεύθερη την ουρά του (Εικόνα 14.8Γ). Από άνοιγμα που βρίσκεται κατά μήκος της συσκευής και στο μέσο της, συλλαμβάνεται η πτυχή του δέρματος του τραχήλου που προβάλλει από το άνοιγμα (14.8Δ). Έτσι, είναι δυνατή η διενέργεια υποδόριας έγχυσης με ασφάλεια. Επιπλέον, μπορούμε να ανασηκώσουμε το ζώο μαζί με τη συσκευή και να καταστεί δυνατή η συγκράτηση του ζώου για ενδοπεριτοναϊκή έγχυση (Εικόνα 14.8Ε) (Anonymous, 2022c).

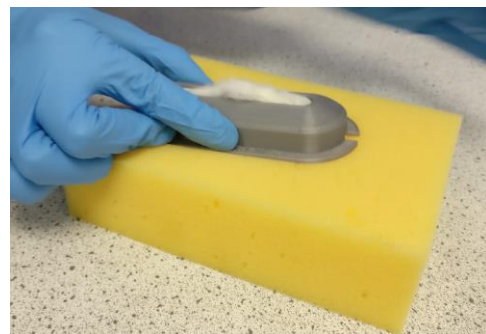
(Α)



(Β)



(Γ)



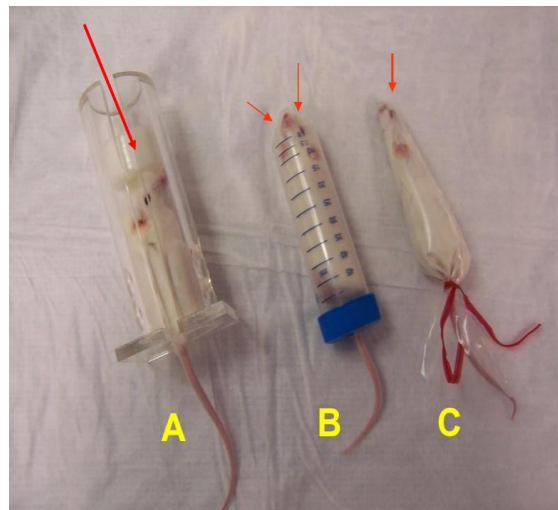
(Δ)

(Ε)



Εικόνα 14.8 (Α) Συγκράτηση του μυός με τη βοήθεια της συσκευής Scruff Guard. (Β) Τοποθέτηση του μυός σε τραχεία επιφάνεια. (Γ) Κάλυψη του ζώου με τη συσκευή. (Δ) Σύλληψη πτυχής του δέρματος του τραχήλου προς υποδόρια έγχυση. (Ε) Ανασηκώνεται το ζώο μαζί με τη συσκευή, για ενδοπεριτοναϊκή έγχυση (Anonymus, 2022c).

Άλλα μέσα συγκράτησης του μυός για μικρό χρονικό διάστημα είναι η τοποθέτησή του α) σε ειδικές γυάλινες ή plexiglas συσκευές συγκράτησης, β) σε τροποποιημένο σωληνάριο Falcon ή γ) εντός ειδικής πλαστικής διάφανης σακούλας, κωνοειδούς σχήματος (Anonymus, 2022d). Σε όλες τις συσκευές επιτρέπεται η είσοδος αέρα από κατάλληλες οπές (Εικόνα 14.9). Οι μέθοδοι αυτές συγκράτησης εξυπηρετούν στην αιμοληψία και τις ενδομυϊκές εγχύσεις.



Εικόνα 14.9 Μέσα συγκράτησης μυών: (Α) plexiglas συσκευή συγκράτησης, (Β) τροποποιημένο σωληνάριο Falcon, (C) πλαστική σακούλα συγκράτησης. Σε όλα υπάρχουν οπές (βλ. βέλη) για την απρόσκοπτη είσοδο αέρα (Anonymus, 2022d).

14.7. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΟΥΣΙΩΝ

Στον Πίνακα 14.1 παρουσιάζονται οι μέγιστοι συνιστώμενοι όγκοι και οι διαμέτροι των βελονών για κάθε τύπο έγχυσης στον μυ.

Πίνακας 14.1 Σημεία έγχυσης, μέγιστοι χορηγούμενοι όγκοι και διαμέτροι βελόνας, για έγχυση ουσιών στον μυ (Collingwood, 2020).

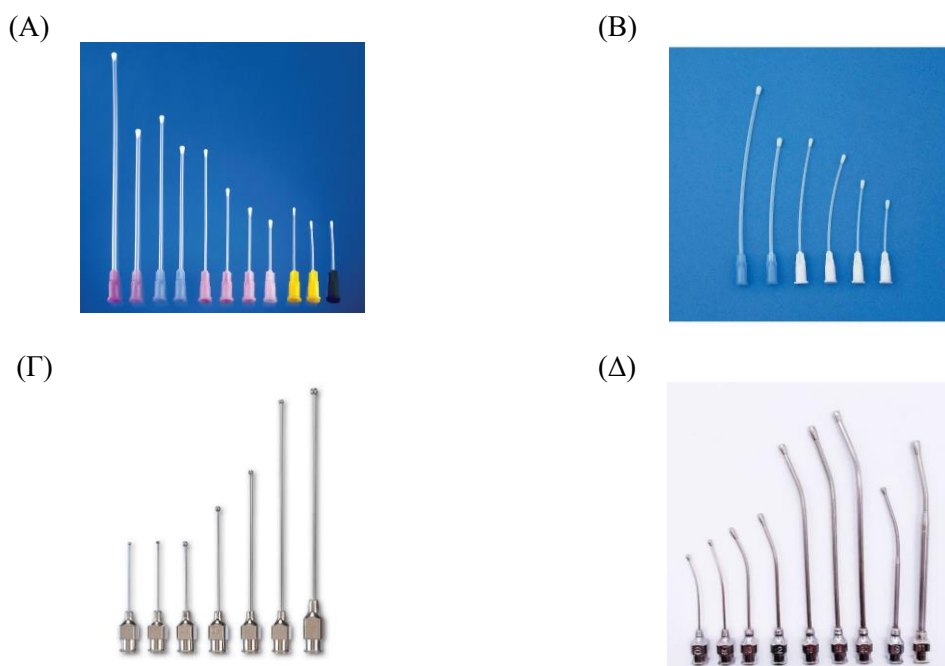
Οδός χορήγησης	Σημείο έγχυσης	Μέγιστος χορηγούμενος όγκος	Διάμετρος βελόνας
Από το στόμα		0,2 mL	22 G
Υποδόρια	τράχηλος	0,5 mL	25-26 G
Ενδοδερμική	ράχη	0,05 mL	27-30 G

Ενδομυϊκή	μύες πρόσθιου ή οπίσθιου τμήματος του μηρού	0,05 mL	26-30 G
Ενδοφλέβια	πλάγια ουραία φλέβα	1% BW	25-30 G
Ενδοπεριτοναϊκή	οπίσθιο δεξιό ή αριστερό τεταρτημόριο της κοιλιάς	0,5 mL/10 g BW	25-27 G

14.7.1. Χορήγηση από το στόμα

Ο πιο απλός, αλλά όχι ακριβής, τρόπος χορήγησης μιας ουσίας από το στόμα στον μυ είναι με την ανάμειξη αυτής στην τροφή ή τη διάλυσή της στο πόσιμο νερό.

Πιο ακριβής τεχνική είναι η απευθείας χορήγηση της ουσίας με τη βοήθεια στομαχικού καθετήρα. Αφορά τη χορήγηση ουσιών που βρίσκονται σε υγρή μορφή ή στερεών οι οποίες προηγουμένως διαλύονται. Ο στομαχικός καθετήρας μπορεί να είναι άκαμπτος μεταλλικός ή εύκαμπτος πλαστικός, ευθύς ή κεκαμμένος και φέρει σφαιρική διόγκωση στο ελεύθερο άκρο του, για μείωση της πιθανότητας τραυματισμού του οισοφάγου (Εικόνα 14.10).



Εικόνα 14.10 Στομαχικοί καθετήρες τρωκτικών: (Α) πλαστικοί ευθείς, (Β) πλαστικοί κεκαμμένοι, (Γ) μεταλλικοί ευθείς, (Δ) μεταλλικοί κεκαμμένοι.

Το ζώο συγκρατείται σε κατακόρυφη στάση, αφού έχει συλληφθεί από πτυχή του δέρματος του τραχήλου και της ράχης. Πριν από την εισαγωγή του καθετήρα, υπολογίζεται εξωτερικά στο ζώο το μήκος του καθετήρα που είναι απαραίτητο να εισαχθεί, προκειμένου να καταλήξει το ελεύθερο άκρο του στον στόμαχο (Εικόνα 14.11Α). Εφόσον έχει αναρροφηθεί η ουσία σε σύριγγα, η οποία έχει προσαρτηθεί στον καθετήρα, εισάγεται το ελεύθερο άκρο του από το πλάι του στόματος με ήπιες κινήσεις (Εικόνα 14.11Β). Η παρουσία έντονης αντίστασης υποδηλώνει την εισαγωγή του καθετήρα στην τραχεία και θα πρέπει άμεσα να ανασύρεται. Όταν εισαχθεί όλο το προβλεπόμενο μήκος του καθετήρα, προωθείται αργά το περιεχόμενο της σύριγγας (Εικόνα 14.11Γ). Η παρουσία σημείων αναπνευστικής δυσχέρειας κατά το χρονικό διάστημα αμέσως μετά την προώθηση του περιεχομένου υποδηλώνει έγχυσή του στους πνεύμονες (Anonymous, 2022e).

(Α)



(B)



(Γ)



Εικόνα 14.11 Εισαγωγή στομαχικού καθετήρα στον μυ, για χορήγηση ουσίας από το στόμα. (Α) Υπολογισμός του απαραίτητου μήκους του καθετήρα. (Β) Εισαγωγή του καθετήρα. (Γ) Προώθηση του περιεχομένου της σύριγγας (Anonymous, 2022e).

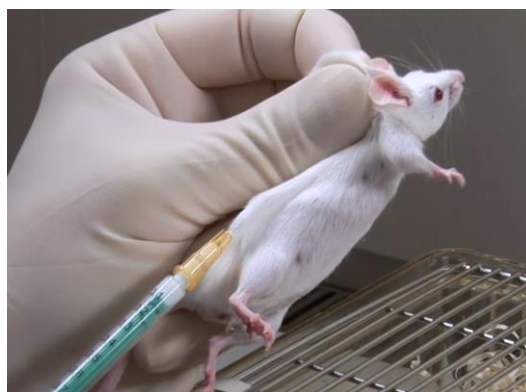
Video: <https://researchanimaltraining.com/articles/oral-gavage-in-the-mouse/>

14.7.2. Υποδόρια έγχυση

Η υποδόρια έγχυση γίνεται συνήθως κάτω από το δέρμα, στην περιοχή ανάμεσα στις ωμοπλάτες. Για τον σκοπό αυτόν, το ζώο τοποθετείται πάνω σε τραχεία επιφάνεια και συγκρατείται, αφού συλληφθεί από πτυχή του δέρματος του τραχήλου (Εικόνα 14.12Α). Εναλλακτικά, η έγχυση μπορεί να γίνει κάτω από το δέρμα της περιοχής των κενεάνων, ενώ το ζώο συγκρατείται στο χέρι μας από πτυχή του δέρματος του τραχήλου (Εικόνα 14.12Β) (Anonymous, 2022f).

(Α)

(Β)



Εικόνα 14.12 Υποδόρια έγχυση στον μυ (A) ανάμεσα στις ωμοπλάτες, (B) πάνω από τον κενεώνα.

Video: <https://researchanimaltraining.com/articles/subcutaneous-injection-in-the-mouse/>

14.7.3. Ενδοδερμική έγχυση

Η έγχυση γίνεται συνήθως στο δέρμα της ράχης. Η περιοχή ξυρίζεται και απολυμαίνεται με αντισηπτική ουσία (Εικόνα 14.13A). Χρειάζεται εμπειρία και προσοχή, λόγω του πολύ λεπτού δέρματος. Για τη μείωση των αντιδράσεων του ζώου, προτείνεται η προηγούμενη αναισθητοποίησή του.

14.7.4. Ενδοπεριτοναϊκή έγχυση

Το ζώο συγκρατείται με το ένα χέρι από πτυχή του δέρματος του τραχήλου σε ύπτια στάση. Η έγχυση γίνεται στο οπίσθιο δεξιό ή αριστερό τεταρτημόριο της κοιλίας, προκειμένου να αποφευχθεί η τρώση του ήπατος και της ουροδόχου κύστης. Η βελόνα εισάγεται με κλίση περίπου 30° και, πριν από την έγχυση της ουσίας, γίνεται αναρρόφηση, για έλεγχο πιθανής τρώσης του εντέρου ή παρεγχυματικού οργάνου (Εικόνα 14.13B).

(A)



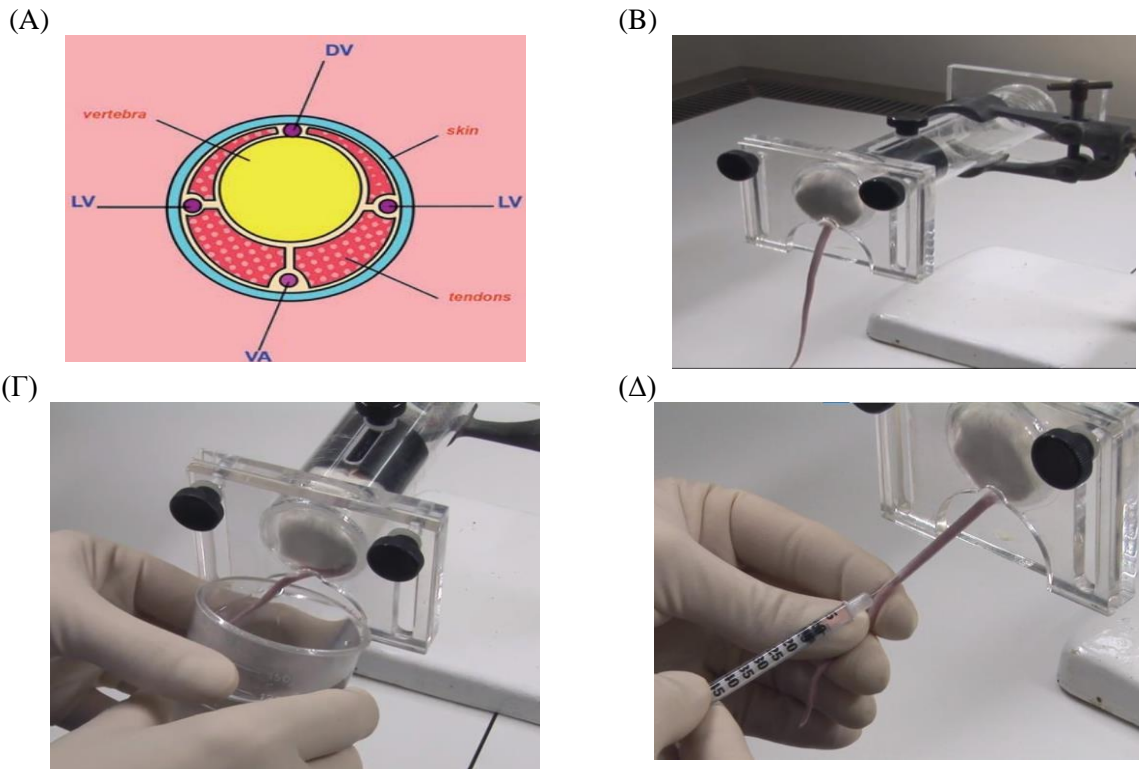
(B)



Εικόνα 14.13 (A) Ενδοδερμική και (B) ενδοπεριτοναϊκή έγχυση στον μυ (Breed and Gulani, 2018).

14.7.5. Ενδοφλέβια έγχυση

Η ενδοφλέβια έγχυση ουσιών συστήνεται να πραγματοποιείται στην πλάγια κοκκυγική (ουραία) φλέβα (Εικόνα 14.14A). Το ζώο συγκρατείται με τοποθέτησή του σε ειδική συσκευή συγκράτησης (Εικόνα 14.14B) ή αναισθητοποιείται. Τα αγγεία παρακεντώνται ευκολότερα αν προηγουμένως διασταλούν, με προθέρμανση είτε ολόκληρου του ζώου είτε μόνο της ουράς του. Η προθέρμανση ολόκληρου του ζώου μπορεί να γίνει με τοποθέτησή του κάτω από θερμαντική λάμπα σε θερμοκρασία 28-30 °C για έως 30 min. Η ουρά μπορεί να προθερμανθεί με βύθισή της σε νερό θερμοκρασίας 30-35 °C για περίπου 1 min (Εικόνα 14.14Γ), κάτω από θερμαντική λάμπα ή αφού τυλιχτεί με μια ζεστή πετσέτα. Στη συνέχεια, η ουρά απολυμαίνεται με διάλυμα αλκοόλης 70%. Η βελόνα εισάγεται με την οπή της προς τα επάνω, σχεδόν παράλληλα προς την ουρά, περίπου στο μέσο αυτής έως και σε απόσταση 2/3 από τη βάση προς το άκρο της (Εικόνα 14.14Δ). Η έγχυση γίνεται αργά και υποδηλώνεται από την έλλειψη αντίστασης κατά την προώθηση του εμβόλου της σύριγγας. Ακολούθως, ασκείται πίεση στο σημείο της έγχυσης για περίπου 1 min, προκειμένου να αποτραπεί η διαφυγή της ουσίας από το σημείο έγχυσης και επιπλέον να προκληθεί αιμόσταση (Hirota and Shimizu, 2012).

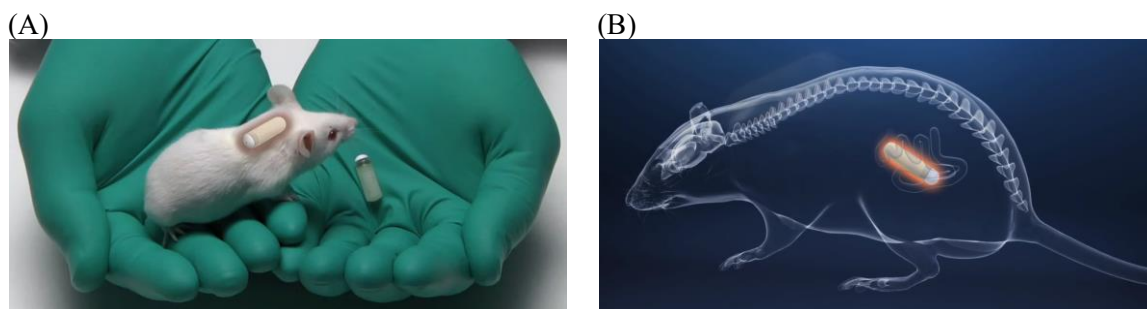


Εικόνα 14.14 Ενδοφλέβια έγχυση ουσίας στον μυ. (Α) Αγγεία της ουράς σε εγκάρσια διατομή: ραχιαία κοκκυγική φλέβα (DV), πλάγιες κοκκυγικές φλέβες (LV), κοκκυγική αρτηρία (VA). (Β) Τοποθέτηση του ζώου σε ειδική συσκευή συγκράτησης. (Γ) Εμβάπτιση της ουράς σε ζεστό νερό. (Δ) Παρακέντηση της πλάγιας κοκκυγικής φλέβας (Anonymous, 2022g).

Video: <https://researchanimaltraining.com/articles/intravenous-injection-in-the-mouse/>

14.7.6. Οσμωτικές μικρο-αντλίες

Για μακροχρόνιες εγχύσεις, σημαντική βοήθεια προσφέρει η υποδόρια (14.15A) ή ενδοπεριτοναϊκή εμφύτευση οσμωτικών μικρο-αντλιών (osmotic minipumps) (Εικόνα 14.15B), με τις οποίες καθίσταται δυνατή η ακριβής και συνεχής έγχυση ουσιών σε ελεύθερα κινούμενα ζώα για ποικίλα χρονικά διαστήματα. Επιπλέον, η σύνδεση των αντλιών με κατάλληλους καθετήρες επιτρέπει την έγχυση ουσιών εντός αγγείων, οργάνων, του σπονδυλικού σωλήνα ή του εγκεφάλου.



Εικόνα 14.15 Οσμωτική μικρο-αντλία για τρωκτικά. (Α) Υποδόρια εμφύτευση. (Β) Ενδοπεριτοναϊκή εμφύτευση (Anonymous, 2022h).

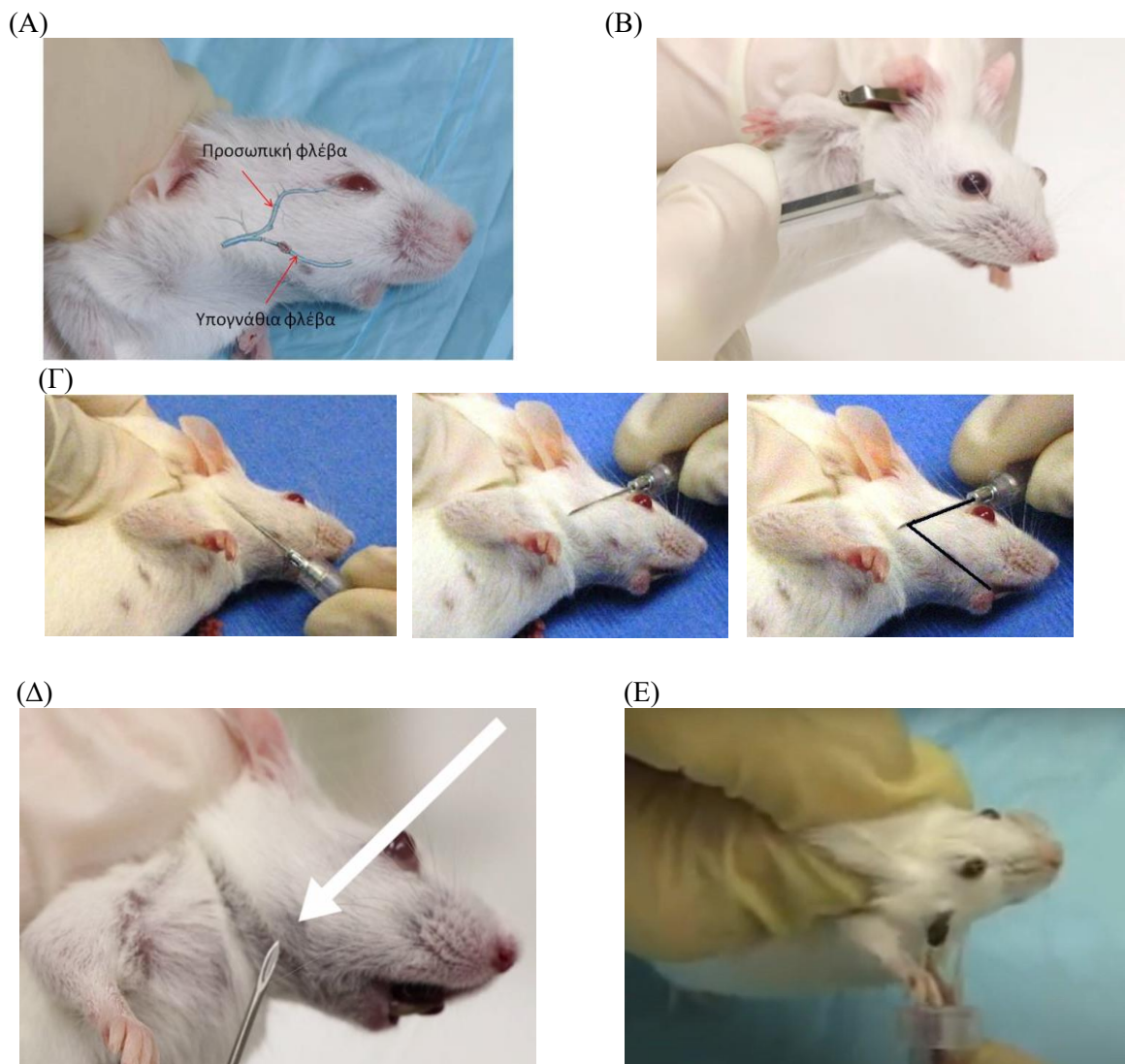
14.8. ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ

Για την αιμοληψία από τον μυ, μπορούν να χρησιμοποιηθούν διάφορες μέθοδοι, οι οποίες διαφοροποιούνται ανάλογα με το αν απαιτείται ή όχι αναισθησία ή αν επιθυμείται η επιβίωση του ζώου (Hoff, 2000).

14.8.1. Μέθοδοι αιμοληψίας που δεν απαιτούν αναισθησία

14.8.1.1. Νύξη της προσωπικής ή της υπογνάθιας φλέβας

Μικρή ποσότητα αίματος (0,2-0,5 mL) μπορεί να συλλεχθεί με νύξη της προσωπικής ή της υπογνάθιας φλέβας (Εικόνα 14.16A). Το ζώο συγκρατείται από πτυχή του δέρματος του τραχήλου. Το σημείο νύξης της προσωπικής φλέβας εντοπίζεται μετρώντας από τον έξω κανθό του οφθαλμού προς τα κάτω απόσταση ίση με το μήκος του οφθαλμού, και ακολούθως οπισθίως αυτού του σημείου απόσταση ίση με το πλάτος του οφθαλμού. Το σημείο αυτό συμπίπτει με το σημείο στο οποίο καταλήγει η γνάθος (κροταφογοναθική άρθρωση) (Εικόνα 14.16B). Το σημείο νύξης της υπογνάθιας φλέβας υπολογίζεται ότι βρίσκεται στο σημείο όπου τέμνεται η ευθεία από τη γωνία του στόματος, με κατεύθυνση προς το κάτω τμήμα του πτερυγίου του ωτός, με την ευθεία από τον έξω κανθό του οφθαλμού, με κατεύθυνση προς την ωμοπλάτη (Εικόνα 14.16Γ), και συμπίπτει με χαρακτηριστική άτριχη περιοχή (Εικόνα 14.16Δ). Η νύξη μπορεί να γίνει με ακίδα ή βελόνα (υπογνάθια φλέβα). Η συλλογή του αίματος γίνεται στάγδην σε σωληνάριο αιμοληψίας (Εικόνα 14.16E). Στο σημείο νύξης ασκείται πίεση, μέχρι τη διακοπή της αιμορραγίας. Η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί για επαναλαμβανόμενες αιμοληψίες με διαφορά 5-7 ημερών.

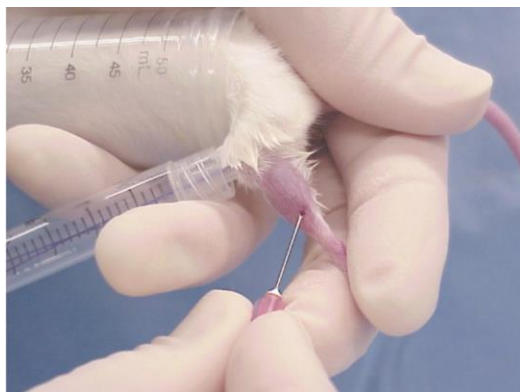


Εικόνα 14.16 (A) Συλλογή αίματος στον μυ από την προσωπική ή την υπογνάθια φλέβα. (B) Σημείο νύξης της προσωπικής φλέβας. (Γ) Υπολογισμός σημείου νύξης της υπογνάθιας φλέβας. (Δ) Σημείο νύξης της υπογνάθιας φλέβας (βλ. βέλος). (E) Συλλογή του αίματος σε σωληνάριο αιμοληψίας (Anonymous, 2019, 2022i).

Video: <https://medipoint.com/for-use-on-mice/>

14.8.1.2. Νύξη της έξω σαφηνούς φλέβας

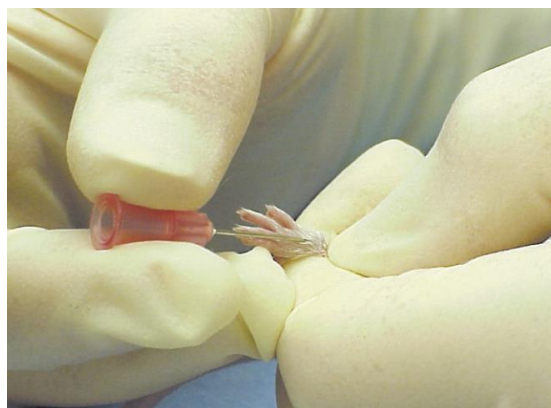
Προτείνεται η προθέρμανση του ζώου με τοποθέτηση θερμαντικής λάμπας για περίπου 5 min πάνω από το κλουβί του, ώστε να προκληθεί αγγειοδιαστολή. Το ζώο συγκρατείται με τοποθέτησή του σε πλαστικό σωλήνα συγκράτησης (π.χ. σωληνάριο Falcon, στην κορυφή του οποίου έχει διανοιχθεί οπή για τον αερισμό του ζώου) που επιτρέπει να προεξέχει ένα οπίσθιο άκρο, το οποίο συγκρατείται σε έκταση με ένα δάκτυλό μας. Ξυρίζεται η εξωτερική πλευρά της κνήμης και επαλείφεται με αντισηπτική ουσία. Εφαρμόζεται ίσχυαιμη περιδέρση κεντρικά και εκτελείται νύξη της έξω σαφηνούς φλέβας, στην πλάγια επιφάνεια της κνήμης, με βελόνα 25 G και κατεύθυνση κάθετη προς το δέρμα. Το αίμα συλλέγεται στάγδην σε σωληνάριο αιμοληψίας (Εικόνα 14.17) (Hoff, 2000).



Εικόνα 14.17 Νύξη της έξω σαφηνούς φλέβας, για αιμοληψία στον μυ (Hoff, 2000).

14.8.1.3. Νύξη της μέσης ραχιαίας πελματιαίας φλέβας

Μετά από συγκράτηση του ζώου σε πλαστικό σωλήνα συγκράτησης, εκτελείται νύξη της μέσης ραχιαίας πελματιαίας φλέβας (medial dorsal pedal vein) με βελόνα 23-27 G και συλλέγεται το αίμα στάγδην σε σωληνάριο μικροαιματοκρίτη (Εικόνα 14.18) (Hoff, 2000).

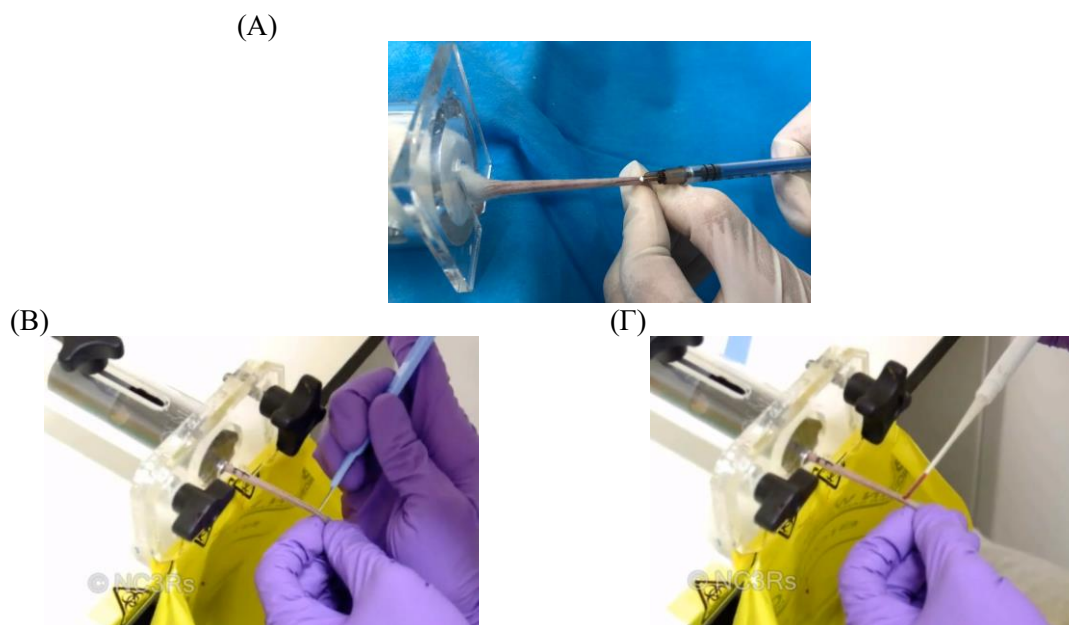


Εικόνα 14.18 Νύξη της μέσης ραχιαίας πελματιαίας φλέβας, για αιμοληψία στον μυ (Hoff, 2000).

14.8.1.4. Από την ουρά

Η αιμοληψία στον μυ μπορεί να πραγματοποιηθεί με παρακέντηση ή μικρή διατομή της πλάγιας κοκκυγικής (ουραίας) φλέβας ή με παρακέντηση της κοκκυγικής αρτηρίας, μετά από προθέρμανση της ουράς ή ολόκληρου του ζώου. Η συγκράτηση του ζώου γίνεται με τοποθέτησή του σε κατάλληλη συσκευή συγκράτησης ή με αναισθητοποίησή του. Η παρακέντηση ή διατομή της φλέβας εκτελείται στο τελευταίο 1/3 της ουράς. Η παρακέντηση γίνεται με σύριγγα με βελόνα 25 G (Εικόνα 14.19A) ή με πεταλούδα 25 G συνδεδεμένη σε σύριγγα. Στην περίπτωση διατομής της φλέβας (Εικόνα 14.19B), το εκρέομενο αίμα

συλλέγεται σε ένα ή περισσότερα μικροσωληνάκια ή με τη βοήθεια πιπέτας (Εικόνα 14.19Γ). Μπορεί να συλλεχθεί 0,05-0,2 mL αίματος και να επαναληφθεί η αιμοληψία έως δύο φορές εντός της ίδιας ημέρας.



Εικόνα 14.19 Αιμοληψία από την πλάγια κοκκυγική φλέβα στον μυ.
(A) Παρακέντηση φλέβας. (B) Διατομή φλέβας. (Γ) Αναρρόφηση του εκρεόμενου αίματος
(Anonymous, 2022j).

Video: <https://nc3rs.org.uk/3rs-resources/blood-sampling/blood-sampling-mouse>

Επίσης, μπορεί να αποκοπεί με νυστέρι το άκρο της ουράς αναισθητοποιημένου μυός, για να συλλεχθεί μικρή ποσότητα αίματος. Ωστόσο, η μέθοδος αυτή δεν προτείνεται εφόσον είναι διαθέσιμες άλλες, όπως η παρακέντηση της πλάγιας κοκκυγικής φλέβας ή η νύξη της έξω σαφηνούς φλέβας.

14.8.2. Μέθοδοι αιμοληψίας υπό γενική αναισθησία σε ζώα στα οποία επιθυμείται η επιβίωσή τους

14.8.2.1. Από τα αγγεία του οφθαλμικού κόγχου

Η μέθοδος δεν προτείνεται πλέον εφόσον υπάρχει άλλη διαθέσιμη μέθοδος αιμοληψίας, καθώς υπάρχει κίνδυνος τραυματισμού του οφθαλμού, μόνιμης βλάβης και εκτεταμένης αιμορραγίας. Στο ζώο χορηγείται ελαφρά αναισθησία και τοποθετείται σε πλάγια κατάκλιση. Ενώ κρατείται σταθερό το κεφάλι του ζώου και με τους δακτύλους προκαλείται εξόφθαλμος, εισάγεται το άκρο πιπέτας Pasteur ή τριχοειδούς σωληναρίου μικροαιματοκρίτη υπό γωνία 45° στον έξω ή έσω κανθό, ώστε να προκληθεί τρώση των αγγείων του οπισθοβολβικού πλέγματος (Εικόνα 14.20Α). Η πιπέτα περιστρέφεται κατά την εισαγωγή της. Με τη διαπίστωση παρουσίας αίματος στην πιπέτα, αυτή ανασύρεται ελαφρώς και το αίμα συλλέγεται σε αυτήν, χάριν του τριχοειδικού φαινομένου, έως τελικού όγκου 0,2 mL (Εικόνα 14.20Β). Μετά την αιμοληψία, απομακρύνεται η πιπέτα, κλείονται τα βλέφαρα και ασκείται ήπια πίεση στο σημείο της παρακέντησης. Μετά τη λήψη, ενσταλάσσεται προληπτικά μία σταγόνα κολλύριου με αντιβιοτικό. Η αιμοληψία δεν συνιστάται να επαναλαμβάνεται μετά από χρονικό διάστημα μικρότερο των 3-4 ημερών (Hoff, 2000, Fukuta, 2012).

(A)

(B)



Εικόνα 14.20 Αιμοληψία από τα αγγεία του οφθαλμικού κόγχου. (Α) Οπισθοβολβικό πλέγμα. (Β) Παρακέντηση των αγγείων του οπισθοβολβικού πλέγματος από τον έξω κανθό του οφθαλμού (Hoff, 2000, Anonymous, 2014).

14.8.2.2. Παρακέντηση της σφαγίτιδας

Παρακεντάται η σφαγίτιδα, με το ζώο συγκρατημένο από πτυχή του δέρματος του τραχήλου σε ύπτια κατάκλιση με υπερέκταση κεφαλής (Εικόνα 14.21Α). Ξυρίζεται η περιοχή του λαιμού και γίνεται τοπική αντισηψία με αλκοολούχο διάλυμα. Η σφαγίτιδα παρακεντάται με σύριγγα με βελόνα 25 G, 2-4 mm εξωτερικά του στερνοκλειδικού συνδέσμου, με κοιλιο-κεφαλική κατεύθυνση (Εικόνα 14.21Β).



Εικόνα 14.21 Αιμοληψία από τη σφαγίτιδα στον μν. (Α) Συγκράτηση του ζώου. (Β) Παρακέντηση σφαγίτιδας (Hoff, 2000).

14.8.2.3. Καθετηριασμός της πρόσθιας κοίλης φλέβας

Για τακτικές αιμοληψίες, είναι δυνατό να καθετηριαστεί η πρόσθια κοίλη φλέβα, διαμέσου της σφαγίτιδας, με το ζώο υπό γενική αναισθησία. Ο καθετηριασμός απαιτεί ιδιαίτερη εμπειρία.

14.8.3. Μέθοδοι αιμοληψίας υπό γενική αναισθησία σε ζώα στα οποία δεν επιθυμείται η επιβίωσή τους

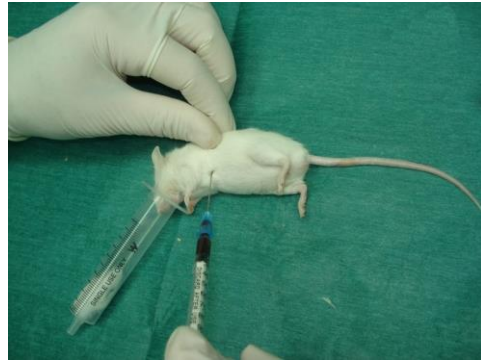
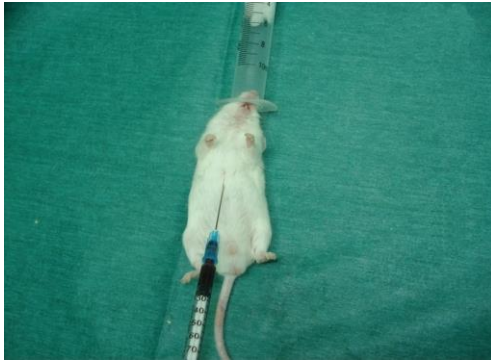
Για τη συλλογή μεγάλων ποσοτήτων αίματος, μπορούν να χρησιμοποιηθούν μέθοδοι, μετά την εφαρμογή των οποίων δεν επιβιώνει το ζώο.

14.8.3.1. Καρδιακή παρακέντηση

Η καρδιακή παρακέντηση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για λήψη 0,1-1 mL αίματος. Το ζώο αναισθητοποιείται και τοποθετείται σε ραχιαία κατάκλιση. Στη συνέχεια, εισάγεται υπό γωνία 30° σύριγγα 1 mL με βελόνα 23-25 G, από το ύψος της ξιφοειδούς απόφυσης του στέρνου με κατεύθυνση προς την καρδιά, από όπου συλλέγεται το αίμα (Εικόνα 14.22Α). Αιμοληψία με καρδιακή παρακέντηση μπορεί να εκτελεστεί και με το ζώο σε δεξιά πλάγια κατάκλιση, μετά από ψηλάφηση των καρδιακών παλμών (Εικόνα 14.22Β). Εναλλακτικά, η αιμοληψία μπορεί να εκτελεστεί μετά από θωρακοτομή.

(Α)

(Β)



Εικόνα 14.22 Αιμοληψία με καρδιακή παρακέντηση στον μυ υπό (Α) ραχιαία κατάκλιση, (Β) δεξιά πλάγια κατάκλιση.

Video: <https://www.research.psu.edu/animalresourceprogram/training/videos/blood-collection-in-mice>

14.8.3.2. Παρακέντηση της οπίσθιας κοίλης φλέβας

Παρακεντάται η οπίσθια κοίλη φλέβα στον αναισθητοποιημένο μυ, μετά από μέση λαπαροτομή.

14.8.3.3. Μετά από αποκεφαλισμό

Αίμα μπορεί να συλλεχθεί μετά από αποκεφαλισμό του ζώου, με κατάλληλη μέριμνα συλλογής καθαρού δείγματος.

14.9. ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ

Η αναισθησία του μυός αποτελεί πρόκληση, λόγω ιδιαίτερων προβλημάτων που αντιμετωπίζει, όπως ότι α) είναι επιρρεπής σε υποθερμία κατά την αναισθησία, β) έχει ποικίλη ανταπόκριση στη χορήγηση ενέσιμων αναισθητικών, ανάλογα με τη φυλή, το φύλο και την ηλικία, γ) από τα διαθέσιμα μόνιτορ παρακολούθησης της αναπνευστικής και καρδιαγγειακής λειτουργίας οι ενδείξεις δεν είναι πάντα αξιόπιστες και δ) η ταχεία απώλεια έστω και μικρής ποσότητας αίματος μπορεί να οδηγήσει σε καρδιαγγειακή ανεπάρκεια.

Λόγω του υψηλού μεταβολικού ρυθμού του και του γεγονότος ότι ο μυς δεν μπορεί να εμέσει, δεν είναι απαραίτητη η προαναισθητική στέρση τροφής. Ωστόσο, σε περίπτωση που αυτή εφαρμοστεί, δεν θα πρέπει να υπερβαίνει σε διάρκεια τις 3 ώρες, ενώ θα πρέπει να βρίσκεται νερό στη διάθεση του ζώου μέχρι την τελευταία στιγμή.

Η προνάρκωση δεν είναι απαραίτητη, εκτός αν υπάρχουν ενδείξεις για ηρέμηση του ζώου, π.χ. σε περίπτωση που πρέπει να χορηγηθεί ενδοφλέβια το αναισθητικό. Προναρκωτικές ουσίες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν είναι η φεντανύλη-δροπεριδόλη, η διαζεπάμη, η μιδαζολάμη, η ατροπίνη, η γλυκοπυρολάτη, η ακετυλοπρομαζίνη, η ξυλαζίνη και η μεδετομιδίνη (Πίνακας 14.2).

Για την εγκατάσταση της αναισθησίας, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ενέσιμες ή εισπνευστικές ουσίες. Από τις ενέσιμες ουσίες, προτιμώνται οι συνδυασμοί νευροληπταναλγητικών και ιδιαίτερα ο συνδυασμός φεντανύλης-φλουανιζόνης με διαζεπάμη ή μιδαζολάμη. Η αναισθησία μπορεί να διατηρηθεί με πρόσθετη χορήγηση φεντανύλης-φλουανιζόνης κάθε 30-40 min. Ως ανταγωνιστής μπορεί να χορηγηθεί η ναλοξόνη. Για την εγκατάσταση και στη συνέχεια διατήρηση της αναισθησίας, μπορούν να γίνουν και επαναλαμβανόμενες εγχύσεις συνδυασμού αλφαδολόνης-αλφαξαλόνης (κάθε 10-15 min). Εναλλακτικά, μπορούν να χρησιμοποιηθούν όλα τα αναισθητικά που αναφέρονται στον Πίνακα 14.3.

Από τα εισπνευστικά αναισθητικά, μπορούν να χρησιμοποιηθούν το αλοθάνιο, το ισοφλουράνιο, το ενφλουράνιο, το σεβοφλουράνιο ή το μεθοξυφλουράνιο, σε συγκεντρώσεις 1-2,5%. Αυτά μπορούν να χορηγηθούν με ακρίβεια για την εγκατάσταση της αναισθησίας με τη βοήθεια συσκευών χορήγησης εισπνευστικής αναισθησίας, με τη διοχέτευσή τους σε ειδικούς αεροστεγείς θαλάμους από plexiglas, όπου προηγουμένως έχει τοποθετηθεί το ζώο. Εναλλακτικά, μπορεί να τοποθετηθεί γάζα εμποτισμένη με το αναισθητικό, χωρίς ωστόσο να εξασφαλίζεται η ακρίβεια στην επίτευξη της επιθυμητής συγκέντρωσης του αναισθητικού. Για τη διατήρηση της αναισθησίας, χορηγείται το αναισθητικό μέσω προσωπίδας ή ακόμη και μέσω τραχειοσωλήνα, μετά από διασωλήνωση του ζώου.

Η πιο συνηθισμένη επιπλοκή κατά τη διάρκεια της αναισθησίας του μυός είναι η υποθερμία, γι' αυτό προτείνεται να τοποθετείται το ζώο πάνω σε θερμαινόμενη τράπεζα ή η κάλυψή του με πλαστική μεμβράνη ή

φύλλο αλουμινίου. Επίσης, είναι δυνατό προϋπάρχουσες πνευμονικές παθήσεις να οδηγήσουν σε ανεπαρκή αερισμό και μοιραία κατάληξη κατά τη διάρκεια της αναισθησίας.

14.10. ΕΥΘΑΝΑΣΙΑ

Από τις φυσικές μεθόδους ευθανασίας, πιο συχνά χρησιμοποιείται η εξάρθρωση του τραχήλου, η αποπληξία και ο αποκεφαλισμός.

Από τις χημικές μεθόδους ευθανασίας, μπορούν να χορηγηθούν εισπνευστικά αναισθητικά σε υψηλές δόσεις και διοξείδιο του άνθρακα σε σταδιακά αυξανόμενη έως θανατηφόρο συγκέντρωση. Από τις ενέσιμες ουσίες, προτιμάται η ενδοπεριτοναϊκή έγχυση βαρβιτουρικών, και συγκεκριμένα πεντοβαρβιτόνης, σε δόση

15	mg	/	100	g	ΣΒ.
----	----	---	-----	---	-----

Πίνακας 14.2 Δόσεις ουσιών που χορηγούνται στην προνάρκωση και φαρμάκων επείγουσας ιατρικής που χρησιμοποιούνται σε τρωκτικά και κουνέλια. Η δοσολογία είναι mg/kg, εκτός αν δηλώνεται διαφορετικά (Heatley and Harris, 2009, Hedenqvist and Flecknell, 2011, Clemons and Seeman, 2018).

	Ουσία	Μυς	Επίμυς	Γέρβιλος	Χάμστερ	Ινδικό χοιρίδιο	Κουνέλι
Αντιχολινεργικά	Ατροπίνη	0,04, s.c.	0,04, s.c.	0,05, s.c., i.m.	0,04, s.c.	0,05, s.c.	1-2, s.c.
	Γλυκοπυρολάτη	0,5, s.c.		0,01-0,02, s.c., i.m.	0,01-0,02, s.c., i.m.		0,1, i.v. 0,5, s.c.
Ηρεμιστικά	Μεδετομιδίνη	30-100, s.c., i.p.	30-100, s.c., i.p.		100, s.c., i.p.	0,3, i.m.	0,1-0,5, s.c.
	Ξυλαζίνη	5-10, i.p.	1-5, i.p.	5-10, i.m., s.c., i.p.	5-10, i.m., s.c., i.p.	3-5, i.m.	2-5, s.c.
	Μιδαζολάμη	5, i.p.		3-5, i.m., s.c.	3-5, i.m., s.c.	1-2, i.p., i.m.	0,5-2, i.v., s.c.
Αναλγητικά	Μπουπρενορφίνη	0,05-0,1, s.c.	0,01-0,05, s.c.	0,05-0,1, s.c., i.v.	0,05-0,1, s.c., i.v.	0,05-0,06, s.c., i.m.	0,01-0,05, s.c., i.v.
	Καρπροφαίνη	5, s.c.	5, s.c.	5, s.c.	5, s.c.		5, s.c.
Ανταγωνιστές	Ατιπαμεζόλη	0,1-1, i.m., i.p., s.c., i.v.					0,1-1, i.m., s.c., i.v.
	Ναλοξόνη	0,01-0,1, i.v., i.m., i.p.		0,01-0,1, s.c., i.p.	0,01-0,1, s.c., i.p.		0,01-0,1 i.v., i.m.
Φάρμακα επείγουσας ιατρικής	Αδρεναλίνη	0,3 mL/kg 1:10.000, i.v., ενδοκαρδιακά					
	Ατροπίνη	0,02, i.v., ενδοκαρδιακά					
	Ξυλοκαΐνη	2, i.v., ενδοκαρδιακά					

Πίνακας 14.3 Αναισθητικές ουσίες για χρήση σε τρωκτικά και κουνέλια. Η δοσολογία είναι mg/kg, εκτός αν δηλώνεται διαφορετικά (Gaertner et al., 2008, Heatley and Harris, 2009, Hedenqvist and Flecknell, 2011, Clemons and Seeman, 2018).

Ουσία	Είδος	Δοσολογία
α-χλωραλόζη	Μυς	114 (διάλυμα 5%), i.p.
	Επίμυς	31-65, i.p.
Αλφαξολόνη-αλφαδολόνη	Μυς	60-120, i.p.
	Επίμυς	10-25, i.v., 25-30, i.p.
Ένυδρη χλωράλη	Μυς	370-400, i.p.
	Επίμυς	300-450, i.p., 400-600, s.c.
Θειοβαρβιτάλη	Μυς	80, i.p.
Θειούχος πεντοβαρβιτάλη	Μυς	30-90, i.p.
	Επίμυς	30-60, i.p.
	Ινδικό χοιρίδιο	15-30, i.v., i.p.
Φεντανύλη/φλουανιζόνη (Hypnorm) + μιδαζολάμη	Μυς	10 mL/kg, i.p. ή 5-7 mL/kg, s.c. μείγματος 1:1:2 Hypnorm, μιδαζολάμης και water for injection
	Επίμυς	2,7 mL/kg, i.p. ή 1,5-2 mL/kg, s.c. μείγματος 1:1:2 Hypnorm, μιδαζολάμης και water for injection
	Ινδικό χοιρίδιο	8 mL/kg, i.p. μείγματος 1:1:2 Hypnorm, μιδαζολάμης και water for injection
	Χάμστερ	4 mL/kg, i.p. μείγματος 1:1:2 Hypnorm, μιδαζολάμης και water for injection
	Κουνέλι	0,3 mL/kg Hypnorm, s.c. + 2 mg/kg μιδαζολάμης, s.c., i.v.
Ισοφλουράνιο	Μυς	0,08-1,5% εισπνοή, 0,25-2,5% (νεογνά)
	Επίμυς	0,25-2,5% εισπνοή
	Γέρβιλος, Χάμστερ	1,8% εισπνοή
	Ινδικό χοιρίδιο	1,15% εισπνοή
Κεταμίνη + διαζεπάμη	Μυς	100 K + 5 Δ, i.p.
	Επίμυς	40 K / 5 Δ, i.p.
	Ινδικό χοιρίδιο	44 K + 0,1 Δ, i.m.
Κεταμίνη + μεδετομιδίνη	Επίμυς	60-75 K + 0,25-0,5 M, i.p.
	Ινδικό χοιρίδιο	40 K + 0,5 M, i.m., i.p.
	Χάμστερ	100 K + 0,25 M, i.p.
	Γέρβιλος	75 K + 0,5 M
Κουνέλι	15 K + 0,25 M, s.c.	
Κεταμίνη + ξυλαζίνη	Μυς	90-150 K + 7,5-16 Ξ, i.p.
	Επίμυς	40-80 K + 5-10 Ξ, i.m., i.p.
	Ινδικό χοιρίδιο	25-80 K + 0,15-13 Ξ, i.m.
Κεταμίνη + ξυλαζίνη + ακετυλοπρομαζίνη	Μυς	100 K + 2,5 Ξ + 2,5 A
	Επίμυς	40 K / 8 Ξ / 4 A
Μεδετομιδίνη + φεντανύλη	Επίμυς	200-300 μg/kg M + 300 μg/kg Φ, i.p. 150 μg/kg M + 40-50 μg/kg, s.c.
Προποφόλη	Κουνέλι	10 εφάπαξ χορήγηση, i.v. 0,2-0,6 mg/kg/min συνεχής i.v. έγχυση

Συνεχίζεται...

...συνέχεια **Πίνακα 14.3**

Ουσία	Είδος	Δοσολογία
Σεβοφλουράνιο	Επίμυς	2-2,4% εισπνοή
	Γέρβιλος, Χάμστερ	3,5% εισπνοή
Τιλεταμίνη/ζολαζεπάμη	Επίμυς	20-40, i.p.
	Γέρβιλος	50-80, i.p.
	Ινδικό χοιρίδιο	10-80, i.m.
Τριβρωμοαιθανόλη	Μυς	0,015-0,017 mL διαλύματος 0,5% / g ΣΒ, i.p. 125-300, i.p.
Τριβρωμοαιθανόλη + μεδετομιδίνη	Επίμυς	150 T + 0,5 M (αντίδοτο, 2,5 mg/kg ατιπαμεζόλη), i.p.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Anonymous. (2014). Retrobulbar injection and retro-orbital bleeds. University of South Florida. <https://www.usf.edu/research-innovation/comparative-medicine/documents/training/mouse-roi-rob.pdf>
- Anonymous. (2019) Submandibular Blood Collection in Mice. IACUC Standard Procedure. UCSF. Office of Research. Institutional Animal Care and Use Program. <https://iacuc.ucsf.edu/sites/g/files/txsra751/f/wysiwyg/STD%20PROCEDURE%20-%20Misc%20Rodent%20Procedures%20-%20SubMandibular%20Blood%20Collection%20Mice.pdf>
- Anonymous. (2021). Mouse Genome Informatics. Guidelines for Nomenclature of Mouse and Rat Strains. <http://www.informatics.jax.org/mgihome/nomen/strains.shtml>
- Anonymous. (2022). Newborn mice. <https://pixels.com/featured/1-newborn-mice-scott-camazine.html>
- Anonymous. (2022a). Mouse handling. National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research. <https://www.nc3rs.org.uk/3rs-resources/mouse-handling>
- Anonymous. (2022b). Handling and restraint in the mouse. Research animal training. <https://researchanimaltraining.com/articles/handling-and-restraint-in-the-mouse/>
- Anonymous. (2022c). Scruffguard. Research devices. <https://researchdevices.com/scruffguard/>
- Anonymous. (2022d). Routine dosing in rodents. University of South Florida. <https://www.usf.edu/research-innovation/comparative-medicine/documents/training/rodent-dosing-revision.pdf>
- Anonymous. (2022e). Oral gavage of a substance in the mouse. Research animal training. <https://researchanimaltraining.com/articles/oral-gavage-in-the-mouse/>
- Anonymous. (2022f). Subcutaneous injection in the mouse. Research animal training. <https://researchanimaltraining.com/articles/subcutaneous-injection-in-the-mouse/>
- Anonymous. (2022g). Intravenous injection in the mouse. Research animal training. <https://researchanimaltraining.com/articles/intravenous-injection-in-the-mouse/>
- Anonymous. (2022h). Alzet osmotic pumps. <https://www.alzet.com/>
- Anonymous. (2022i). Blood withdrawal II. JoVE. <https://www.jove.com/v/10247/blood-withdrawal-ii>
- Anonymous. (2022j). Blood sampling: Mouse. National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research. <https://nc3rs.org.uk/3rs-resources/blood-sampling/blood-sampling-mouse>
- Breed, M., & Gulani, J. (2018). Common rodent techniques used in cancer models. Laboratory Animal Science Program. [file:///C:/Users/Owner/Downloads/6-12-18%20-Breed-Gulani-Common%20Techniques %20Used%20in%20Cancer%20Models-Mouse%20101-2018.pdf](file:///C:/Users/Owner/Downloads/6-12-18%20-Breed-Gulani-Common%20Techniques%20Used%20in%20Cancer%20Models-Mouse%20101-2018.pdf)
- Clemons, D.J., & Seeman, J.L. (2018). *The laboratory guinea pig*. 2nd edition. CRC Press. ISBN-13: 9781138473645
- Collingwood, R. (2020). Mouse injection techniques. Flinders University. <https://staff.flinders.edu.au/content/dam/staff/research/ebi/animal/sops/swms-mouse-injection-techniques.pdf>
- Flurkey, K., Curren, J.M., & Harrison, D.E. (2007). Mouse models in Aging Research. In J.G. Fox, F.W. Quimby, C.E. Newcomer, M.T. Davisson, S.W. Barthold, & A.L. Smith (Eds.), *The Mouse in Biomedical Research*. 2nd Edition, Vol III (pp 637–672). American College of Laboratory Animal Medicine, Elsevier. ISBN: 9780123694577
- Fukuta, K. (2012). Collection of body fluids. In H. J. Hedrich (Ed.), *The laboratory mouse*. 2nd edition (pp. 727-738). Elsevier. ISBN: 9780123820082

- Gaertner, D.J., Hallman, T.M., Hankenson, F.C., & Batchelder, M.A. (2008). Anesthesia and analgesia for laboratory rodents. In R.E. Fish, M.J. Brown, P.J. Danneman, & A.J. Karas (Eds.), *Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals*. 2nd edition (pp. 239-298). American College of Laboratory Animal Medicine Series, Academic Press, Elsevier. ISBN-13: 978-0123738981
- Havenaar, R., Meijer, J.C., Morton, D.B., Ritskes-Hoiting, J., & Zwart, P (2001). Biology and husbandry of laboratory animals. In L.F.M. van Zutphen, V. Baumans, & A.C. Beyen (Eds.), *Principles of Laboratory Animal Science. A contribution to the humane use and care of animals and to the quality of experimental results*. Revised Edition (pp. 19-76), Elsevier. ISBN-13: 978-0444812704
- Heatley, J.J., & Harris, M.C (2009). Hamster and Gerbils. In M.A. Mitchell, & T.N. Tully (Eds.), *Manual of Exotic Pet Practice* (pp. 406-432). Elsevier. ISBN: 978-1-4160-0119-5
- Hedenqvist, P., & Flecknell, P. (2011). Anaesthesia and Analgesia. In: B. Howard, T. Nevalainen, G. Perretta (Eds). *The COST manual of laboratory animal care and use. Refinement, Reduction and Research* (pp. 313-332). CRC Press. ISSN: 978-1-4398-2492-4
- Hedrich, H.J., & Nicklas, W. (2012). Husbandry and maintenance. In H. J. Hedrich (Ed.), *The laboratory mouse*. 2nd edition (pp. 521-546). Elsevier. ISBN: 9780123820082
- Hirota, J., & Shimizu, S. (2012). Routes of administration. In H. J. Hedrich (Ed.), *The laboratory mouse*. 2nd edition (pp. 709-726). Elsevier. ISBN: 9780123820082
- Hoff, J. (2000). Methods of blood collection in the mouse. *Laboratory Animals*, 29, 47-53
- Montoliu, L. (2022). Vaginal plug positive on an albino female. International Society for Transgenic Technologies. [https://www.transtechsociety.org/index.php?xsearch\[0\]=Mixed&xsearch_id=images_search2&src=directory&srctype=images_lister&view=images](https://www.transtechsociety.org/index.php?xsearch[0]=Mixed&xsearch_id=images_search2&src=directory&srctype=images_lister&view=images)
- Mouse Genome Sequencing Consortium. (2002). Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. *Nature*, 420, 520-562. <http://doi.org/10.1038/nature01262>
- Saxton, K. (2018). Bruce Effect. In J. Vonk, & T. Shackelford (Eds.), *Encyclopedia of Animal Cognition and Behavior*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-47829-6_1922-1
- Smith, C. (2022) Mouse Genome Informatics. Glossary term. <http://www.informatics.jax.org/glossary/congenic>

Κεφάλαιο 15

Σύνοψη

Στο κεφάλαιο αυτό γίνεται αναφορά σε στοιχεία ανατομίας, φυσιολογίας και βιολογίας του επίμυος. Περιγράφονται οι συνθήκες εκτροφής, οι μέθοδοι σύλληψης, συγκράτησης, χορήγησης ουσιών, αιμοληψίας, αναισθησίας και ευθανασίας.

Προαπαιτούμενη γνώση

Είναι χρήσιμη η γνώση που έχει αποκομισθεί από το Γενικό Μέρος του συγγράμματος επί των συνθηκών εκτροφής και των μεθόδων σύλληψης, συγκράτησης, χορήγησης ουσιών, αιμοληψίας, αναισθησίας και ευθανασίας.

15 ΕΠΙΜΥΣ (ΑΡΟΥΡΑΙΟΣ, RAT)

15.1. ΦΥΛΕΣ – ΧΡΗΣΕΙΣ

Ο επίμυς (*Rattus norvegicus*) προέρχεται από τον άγριο αρουραίο. Είναι ένα από τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα ζώα εργαστηρίου στη βιοϊατρική έρευνα. Σήμερα, υπάρχουν περί τις 50 φυλές επιμύων. Στις επικρατέστερες φυλές που χρησιμοποιούνται στη βιοϊατρική έρευνα συγκαταλέγονται οι παρακάτω (Hendrich, 2000, Johnson, 2022):

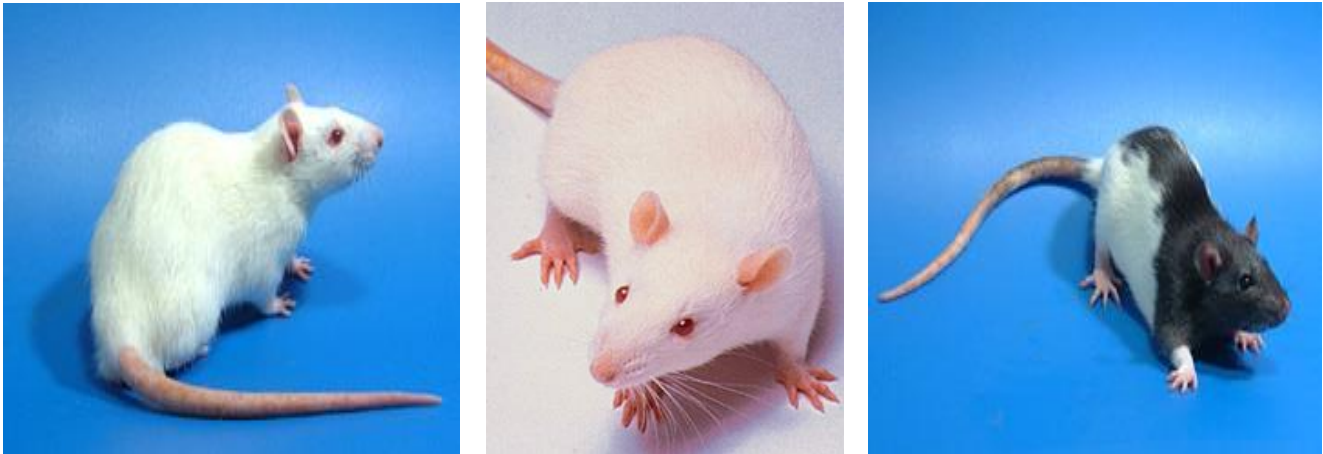
1. Wistar. Πρόκειται για φυλή μικρού σωματικού μεγέθους. Ο αλφικός επίμυς Wistar έχει λευκό τρίχωμα και δέρμα και κόκκινα μάτια (Εικόνα 15.1A). Η κεφαλή του είναι πλατιά και η ουρά έχει συνήθως μήκος μικρότερο από το μήκος του σώματός του.
2. Sprague-Dawley. Πρόκειται για αλφικό επίμυ μεσαίου σωματικού μεγέθους με επιμήκη κεφαλή και μακριά ουρά (Εικόνα 15.1B). Οι χειρισμοί τους είναι εύκολοι, λόγω του πράου χαρακτήρα τους.
3. Long-Evans. Είναι μικρόσωμη φυλή με μαύρο κεφάλι και λευκό σώμα με μία μαύρη λωρίδα κατά μήκος της ράχης (Εικόνα 15.1Γ).

Στην έρευνα χρησιμοποιούνται αμιγείς φυλές (περισσότερες από 220) και υποφυλές, διαγονιδιακοί επίμυες, συγγενικές, co-isogenic, segregating, hybrids, recombinant inbred, consomic φυλές καθώς και outbred stocks (Zimmermann et al., 2000). Μερικές από τις αμιγείς φυλές που χρησιμοποιούνται στην έρευνα είναι οι F₃₄₄, M₅₂₀, LEW και WAG (Gauguier, 2013). Ο επίμυς χρησιμοποιείται κυρίως σε έρευνες που αφορούν τη διατροφή, τον μεταβολισμό, την Ενδοκρινολογία, τη Γεροντολογία, τον καρκίνο, τις μεταμοσχεύσεις, τη δημιουργία νέων φαρμάκων, τη Μικροχειρουργική, τη Γναθοχειρουργική, τη Νευροφυσιολογία, την Πειραματική φυσιολογία, την Τοξικολογία, τη Βιοχημεία και την Ψυχολογία.

(Α)

(Β)

(Γ)



Εικόνα 15.1 Φυλές επιμύων: (Α) Wistar, (Β) Sprague-Dawley, (Γ) Long-Evans.

15.2. ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ

Οι επίμυες είναι φιλικά ζώα, όταν δέχονται ήπιους χειρισμούς. Οι τακτικοί χειρισμοί τα κάνουν ακόμη πιο φιλικά προς τον άνθρωπο. Έχουν συνήθως περιέργεια και τάση προς εξερεύνηση του γύρω χώρου. Θεωρούνται νυκτόβια ζώα, δεδομένου ότι αναπτύσσουν δραστηριότητα κατά τις νυκτερινές κυρίως ώρες. Ωστόσο, η όρασή τους δεν είναι καλή.

15.3. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ

Η ανατομία και η φυσιολογία των επιμύων μοιάζουν σε γενικές γραμμές με εκείνες των μυών. Παρακάτω, αναφέρονται ορισμένες ιδιαιτερότητες. Οι επίμυες, σε αντίθεση με τους μυς, δεν έχουν χοληδόχο κύστη. Τα επινεφριδία τους βρίσκονται μακριά από τα κεντρικά αιμοφόρα αγγεία, γεγονός που κάνει την επινεφριδεκτομή λιγότερο επικίνδυνη στο είδος αυτό. Στον έσω κανθό του οφθαλμού τους υπάρχει ο *αδένας του Harder*. Πρόκειται για τροποποιημένο δακρυϊκό αδένα, ο οποίος παράγει εκκρίσεις πλούσιες σε πορφυρίνη, που λιπαίνουν τον οφθαλμό. Σε καταστάσεις στρες, παρατηρείται αύξηση της παραγωγής του εκκρίματός του, με αποτέλεσμα την εμφάνιση χαρακτηριστικής κόκκινης κηλίδας γύρω από τους οφθαλμούς (Εικόνα 15.2).



Εικόνα 15.2 Χαρακτηριστική κόκκινη κηλίδα γύρω από τους οφθαλμούς του επίμυος, λόγω υπερέκκρισης του αδένα του Harder.

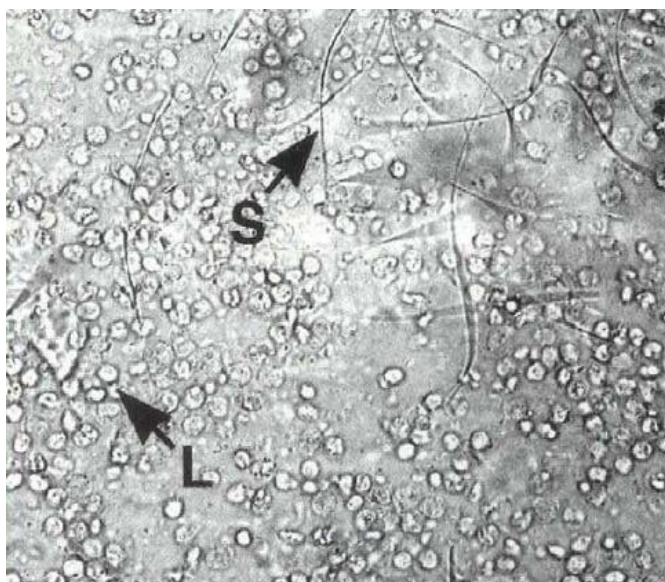
Το σωματικό βάρος των ενήλικων επιμύων είναι 300-500 g στα αρσενικά και 250-300 g στα θηλυκά. Έχουν διάρκεια ζωής 2-3 χρόνια. Η θερμοκρασία του σώματός τους είναι 37,5-38,5 °C και ρυθμίζεται με τη βοήθεια ιδρωτοποιών αδένων που βρίσκονται στην πελματιαία επιφάνεια του άκρου ποδός καθώς και με διαστολή

των αγγείων της ουράς. Ο καρδιακός ρυθμός είναι 300-500 παλμοί/min και ο αναπνευστικός 70-110 αναπνοές/min (Havenaar et al., 2001).

15.4. ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ

Ο επίμυς ενηβώνεται σε ηλικία 6-8 εβδομάδων, αλλά οδηγείται σε σύζευξη σε ηλικία 12-16 εβδομάδων (ή όταν το θηλυκό φτάσει τα 250 g ΣΒ και το αρσενικό τα 300 g). Η διάρκεια της αναπαραγωγικής δραστηριότητάς τους είναι 12-18 μήνες, αλλά σε εκτροφές ζώων τα θηλυκά αποσύρονται από την αναπαραγωγική διαδικασία σε ηλικία 8 μηνών. Οι ωοθηκικοί κύκλοι εκδηλώνονται καθ' όλη τη διάρκεια του έτους (πολυοιστρικό ζώο) και διαρκούν 4-5 ημέρες, ενώ το στάδιο του οίστρου 14 ώρες. Χαρακτηριστικά συμπτώματα του οίστρου είναι η υπερβολική κινητικότητα του ζώου, το τρεμούλιασμα των αυτιών του και η λήψη στάσης ζευγαρώματος. Αξίζει να σημειωθεί ότι, για την εκδήλωση φυσιολογικής αναπαραγωγικής δραστηριότητας, η φωτοπερίοδος θα πρέπει να διαρκεί 12-16 ώρες. Παρατεταμένη έκθεση σε φως, π.χ. για 3 συνεχείς ημέρες, μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρή μείωση της γονιμότητας. Στον επίμυ εκδηλώνεται το φαινόμενο *Whitten*, αλλά λιγότερο έντονα συγκριτικά με τον μυ. Ωστόσο, συγχρονισμός του οίστρου μπορεί να προκληθεί και φαρμακευτικά, π.χ. με χορήγηση προγεστερόνης επί 4 ημέρες, ακολουθούμενη από έγχυση PMSG την 5η ημέρα.

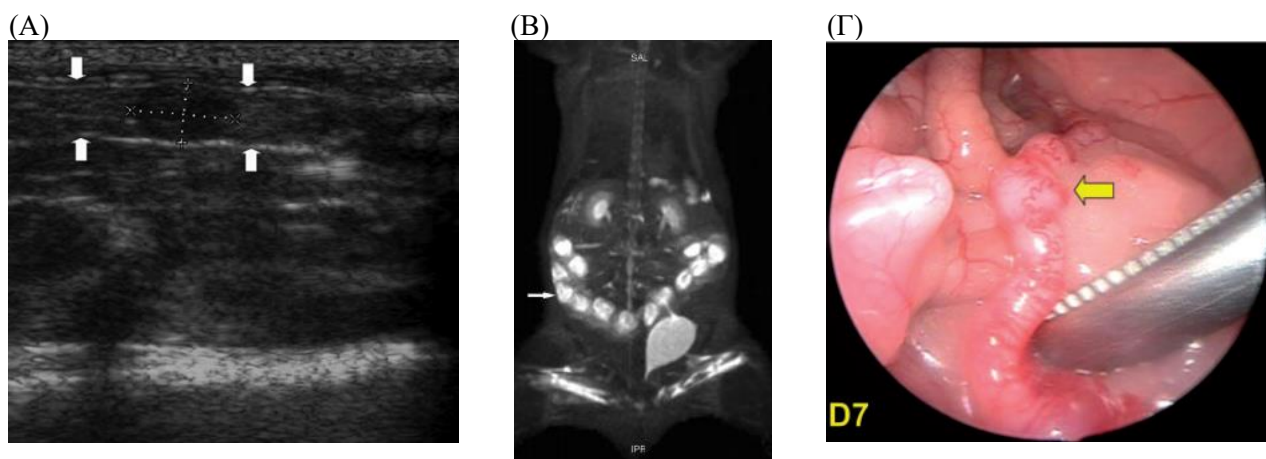
Για την αναπαραγωγή, εφαρμόζονται δύο συστήματα. Συστεγάζονται ένα αρσενικό είτε με ένα (μονογαμικό σύστημα) είτε με δύο θηλυκά (σύστημα «τρίο»). Η επιβεβαίωση της επίβασης γίνεται είτε από την παρουσία ζελατινώδους βύσματος στον κόλπο του ζώου, τις πρώτες 24-48 ώρες μετά τη σύζευξη, είτε με την ανεύρεση σπερματοζωαρίων σε παρατήρηση στο μικροσκόπιο κολπικού εκπλύματος (Εικόνα 15.3) (Maeda et al., 2000). Ακολουθεί απομάκρυνση του αρσενικού από το κλουβί. Η εγκυμοσύνη διαρκεί 21-23 ημέρες, εκτός αν κατά τη διάρκειά της η μητέρα γαλουχεί προηγούμενα νεογνά, γεγονός που παρατείνει την εγκυμοσύνη κατά 3-7 ημέρες. Σε κάθε τοκετό γεννιούνται συνήθως 6-12 νεογέννητα βάρους, κατά μέσο όρο, 5 g το καθένα. Η γαλουχία διαρκεί 21-22 ημέρες.



Εικόνα 15.3 Ανίχνευση σπερματοζωαρίων (S) σε παρατήρηση στο μικροσκόπιο σε κολπικό έκπλυμα, την επόμενη ημέρα μετά από επιτυχή σύζευξη. (L) Λευκοκύτταρα (Maeda et al., 2000).

Η διάγνωση της εγκυμοσύνης μπορεί να βασιστεί στην αύξηση του σωματικού βάρους του έγκυου ζώου, μετά τη 14η ημέρα μετά τη σύζευξη (Paronis et al., 2015). Για ερευνητικούς σκοπούς, πιο ακριβείς μέθοδοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν, με στόχο, εκτός από τη διάγνωση της εγκυμοσύνης, και την ακριβή καταμέτρηση των εμβρύων. Με την υπερηχοτομογραφία, είναι δυνατή η διάγνωση της εγκυμοσύνης από την 11η ημέρα p.c., χωρίς ωστόσο να είναι δυνατή η ακριβής καταμέτρηση των εμβρύων (Εικόνα 15.4A) (Ypsilantis et al., 2009). Με τη βοήθεια της μαγνητικής τομογραφίας (MRI), η εγκυμοσύνη διαγιγνώσκεται από την 11η ημέρα p.c., ενώ ακριβής καταμέτρηση των εμβρύων είναι δυνατή από την 12η ημέρα p.c.

(Εικόνα 15.4B) (Υψιλάντης et al., 2021). Η ελάχιστη επεμβατική μέθοδος της λαπαροσκόπησης δίνει τη δυνατότητα τόσο διάγνωσης της εγκυμοσύνης όσο και ακριβούς καταμέτρησης των εμβρύων από την 7η ημέρα p.c. (Εικόνα 15.4Γ) (Υψιλάντης et al., 2018).



Εικόνα 15.4 Διάγνωση εγκυμοσύνης στον επίμω (A) με υπερηχοτομογραφία την 11η ημέρα, (B) με μαγνητική τομογραφία τη 12η ημέρα και (C) λαπαροσκοπικά την 7η ημέρα της εγκυμοσύνης (Υψιλάντης et al., 2009, 2018, 2021).

15.5. ΕΚΤΡΟΦΗ

Οι επίμωες στεγάζονται ομαδικά σε κλουβιά, εκτός αν το πειραματικό πρωτόκολλο απαιτεί την ατομική τους στέγαση, η οποία θα πρέπει να αιτιολογείται πλήρως, σύμφωνα με την ισχύουσα νομοθεσία. Δεδομένου ότι ο επίμωος είναι λιγότερο επιθετικός από τον μυ, τα αρσενικά μπορούν να στεγάζονται ομαδικά, αρκεί να ανήκουν στην ίδια τοκετοομάδα. Τα κλουβιά των επιμύων είναι κατά κανόνα πλαστικά (πολυανθρακικά). Το δάπεδό τους είναι συμπαγές, με στρωμένη ή σχαρωτό (λιγότερο επιθυμητό). Σε αυτά τοποθετούνται στοιχεία εμπλουτισμού του περιβάλλοντός τους (Εικόνα 15.5). Οι ελάχιστες διαστάσεις των κλουβιών αναφέρονται στον Πίνακα 5.2.



Εικόνα 15.5 Κλουβί επιμύων με στοιχεία εμπλουτισμού του περιβάλλοντος.

15.5.1. Συνθήκες περιβάλλοντος

Ο έλεγχος της θερμοκρασίας, ιδιαίτερα στην περίπτωση της ομαδικής στέγασης, είναι σημαντικός, δεδομένου ότι είναι πολύ εύκολο να προκληθεί υπερθερμία. Σε περίπτωση συνωστισμού ή υψηλής θερμοκρασίας περιβάλλοντος, οι επίμωες αντιδρούν καλύπτοντας το σώμα τους με σίελο. Η ιδανική θερμοκρασία περιβάλλοντος είναι 20-24 °C. Η σχετική υγρασία θα πρέπει να είναι 60% και ο αέρας να ανανεώνεται 10-15 φορές την ώρα. Αν η σχετική υγρασία μειωθεί κάτω από 45% για μεγάλο χρονικό διάστημα, αναπτύσσονται στα ανήλικα ζώα δακτυλιοειδείς περισφιξεις στην ουρά (ringtail), λόγω τοπικών συσπάσεων της. Η

φωτοπερίοδος συστήνεται να διαρκεί 12-14 ώρες, ενώ η ένταση του φωτός πρέπει να είναι χαμηλή, παρόμοια με εκείνη που εφαρμόζεται στους μυς.

15.5.2. Διατροφή

Χορηγείται συμπυκνωμένη τροφή σε μορφή συμπύκτων με συγκέντρωση πρωτεϊνών από 16% (συντήρηση) έως 22% (ανάπτυξη, αναπαραγωγή, γαλουχία) για κατά βούληση κατανάλωση. Η ποσότητα τροφής που καταναλώνουν ημερησίως είναι περίπου 5 g / 100 g ΣΒ.

Το νερό χορηγείται για κατά βούληση κατανάλωση από αυτόματες ποτίστρες ή πλαστικά μπουκάλια. Η ημερήσια κατανάλωση νερού είναι περίπου 10 mL / 100 g ΣΒ. Το νερό, πριν από τη λήψη του, μπορεί να υποστεί οξίνιση, χλωρίωση ή αποστείρωση, ανάλογα με τη μικροβιολογική κατάσταση των ζώων.

15.6. ΣΥΛΛΗΨΗ – ΣΥΓΚΡΑΤΗΣΗ

15.6.1. Σύλληψη από τη βάση της ουράς

Ο πιο συνηθισμένος τρόπος σύλληψης του επίμυος –ο οποίος ωστόσο δεν προτείνεται για ζώα με αυξημένο βάρος– είναι από τη βάση της ουράς του (Εικόνα 15.6). Σε ήρεμα ζώα θα πρέπει, αμέσως μετά τη σύλληψη, να στηρίζεται το σώμα στο αντιβράχιο του χειριστή.



Εικόνα 15.6 Σύλληψη του επίμυος από τη βάση της ουράς του.

15.6.2. Σύλληψη πίσω από τους ώμους

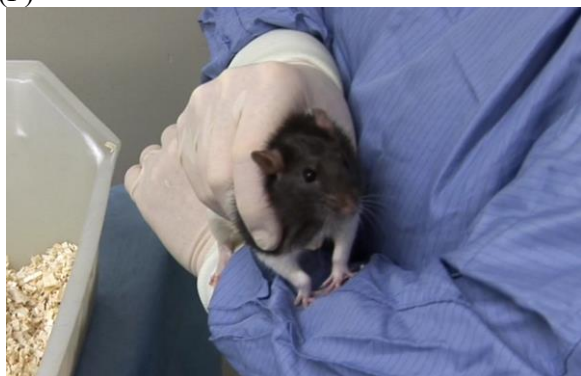
Ο επίμυος μπορεί να συλληφθεί με τοποθέτηση του αντίχειρα και του δείκτη του χεριού μας πίσω από τους ώμους του (Εικόνα 15.7Α). Ένα δραστήριο ζώο συλλαμβάνεται από τη βάση της ουράς του, προτού το ανασηκώσουμε συγκρατούμενο πίσω από τους ώμους του (Εικόνα 15.7Β). Ακολουθώντας, μπορεί να τοποθετηθεί πάνω στο αντιβράχιο μας (Εικόνα 15.7Γ) ή σε σταθερή επιφάνεια, με συγκράτησή του από την ουρά, ενώ κρατείται χαλαρά πίσω από τους ώμους. Για περαιτέρω συγκράτηση, μπορούμε να ασκήσουμε πίεση στους ώμους, ώστε τα πρόσθια άκρα να διασταυρωθούν, ενώ με το άλλο χέρι μας κρατάμε σταθερά τα οπίσθια άκρα (Εικόνα 15.8).

(A)

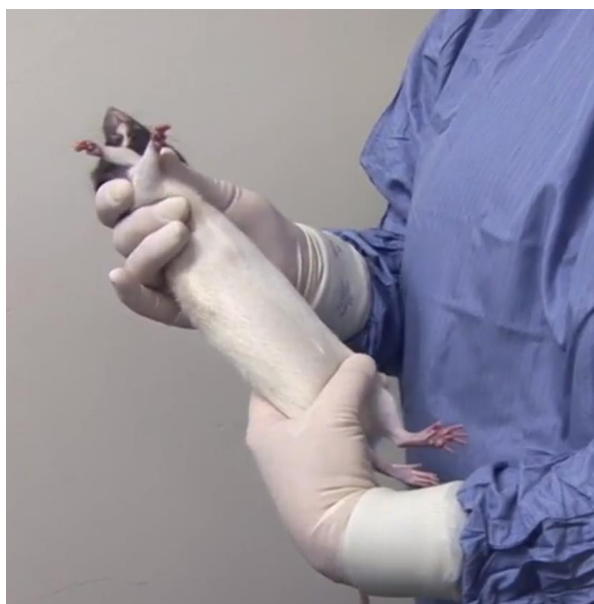
(B)



(Γ)



Εικόνα 15.7 (Α) Σύλληψη του επίμοις πίσω από τους ώμους του ή (Β) πίσω από τους ώμους με επιπλέον σύλληψή του από την ουρά. (Γ) Τοποθέτησή του πάνω στο αντιβράχιο του χειριστή (Anonymous, 2022a).



Εικόνα 15.8 Συγκράτηση του επίμοις με διασταύρωση των πρόσθιων άκρων του (Anonymous, 2022a).

15.6.3. Σύλληψη και συγκράτηση με τρία δάκτυλα

Ο επίμοις μπορεί να συλληφθεί αρχικά κρατώντας τη βάση της ουράς του με το ένα χέρι και στη συνέχεια τοποθετώντας τον δείκτη και το μέσο δάκτυλο εκατέρωθεν της κεφαλής του, ενώ με τον αντίχειρα από τη μία πλευρά και τα υπόλοιπα δάκτυλα από την άλλη υποστηρίζουμε το σώμα του πίσω από τους ώμους του

(Εικόνα 15.9). Ανασηκώνουμε το ζώο, και με το άλλο χέρι υποστηρίζουμε ή συγκρατούμε τα οπίσθια άκρα του.



Εικόνα 15.9 Σύλληψη και συγκράτηση του επίμυος με την τεχνική των τριών δακτύλων (Anonymous, 2022b).

15.6.4. Συγκράτηση από πτυχή του δέρματος του τραχήλου και της ράχης

Το ζώο αρχικά τοποθετείται στο αντιβράχιο μας με τρόπο ώστε να μπορεί να κρύψει την κεφαλή του μεταξύ του αγκώνα μας και του σώματός μας, προκειμένου να εξοικειωθεί (Εικόνα 15.10Α). Το ανασηκώνουμε πίσω από τους ώμους του και του επιτρέπουμε να στηριχθεί πάνω στην ποδιά μας. Καθώς μετακινούμε αργά το χέρι μας, ασκώντας ήπια πίεση από τη ράχη του προς τον τράχηλο (Εικόνα 15.10Β), συλλαμβάνουμε πτυχή του δέρματος του τραχήλου μεταξύ του δείκτη και του αντίχειρά μας, ενώ με τα υπόλοιπα δάκτυλά μας επεκτείνουμε τη λαβή μας και συλλαμβάνουμε το δέρμα της ράχης (Εικόνα 15.10Γ). Η ίδια τεχνική μπορεί να εφαρμοστεί ενώ το ζώο βρίσκεται πάνω στο αντιβράχιο μας. Κατά τη σύλληψη πτυχής του δέρματος του τραχήλου, μπορεί να συμπεριληφθεί στη λαβή μας και ένα πρόσθιο άκρο (Εικόνα 15.10Δ). Με το άλλο χέρι μπορούμε να κρατήσουμε σταθερή την ουρά. Αυτή η μέθοδος συγκράτησης είναι κατάλληλη για εισαγωγή στομαχικού καθετήρα ή χορήγηση ουσιών.

(Α)



(Β)



(Γ)



(Δ)



Εικόνα 15.10 Συγκράτηση του επίμωος από πτυχή του δέρματος του τραχήλου και της ράχης. (Α) Εξοικείωση του ζώου πάνω στο αντιβράχιό μας. (Β) Μετακίνηση του χεριού του χειριστή από τη ράχη προς τον τράχηλο. (Γ) Σύλληψη πτυχής του δέρματος του τραχήλου και της ράχης. (Δ) Σύλληψη πτυχής του δέρματος του τραχήλου, συμπεριλαμβάνοντας στη λαβή και ένα πρόσθιο άκρο του ζώου (Anonymous, 2022c).

15.6.5. Συγκράτηση με περιτύλιξη σε πετσέτα

Το ζώο τοποθετείται πάνω σε πετσέτα ή ύφασμα και τυλίγεται σε αυτήν με ελεύθερα τα οπίσθια άκρα του. Με το ένα χέρι μας συγκρατούμε το ζώο πάνω από την πετσέτα, πίσω από τους ώμους του, με τον αντίχειρα και τον δείκτη μας, ενώ με το άλλο χέρι συγκρατούμε τα οπίσθια άκρα του (Εικόνα 15.11). Η τεχνική συγκράτησης προσφέρεται για υποδόριες, ενδομυϊκές ή ενδοπεριτοναϊκές εγχύσεις.

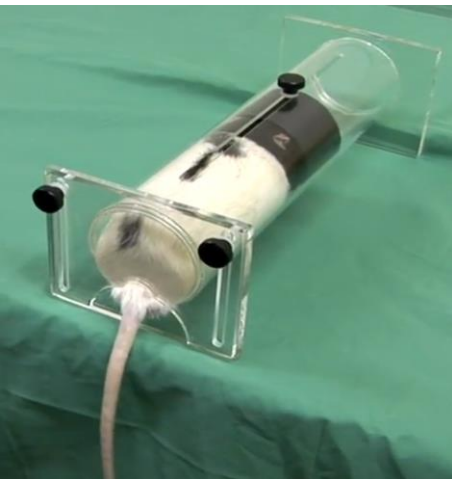


Εικόνα 15.11 Συγκράτηση του επίμωος με περιτύλιξή του σε πετσέτα (Anonymous, 2022b).

15.6.6. Συσκευές συγκράτησης – πλαστικές σακούλες συγκράτησης

Για ενδοφλέβιες εγχύσεις ή αιμοληψία από τα αγγεία της ουράς, ο επίμωος μπορεί να τοποθετηθεί σε ειδικές συσκευές συγκράτησης από plexiglas (Εικόνα 15.12Α). Επίσης, μπορεί να συγκρατηθεί με τοποθέτηση μέσα σε ειδικά σχεδιασμένη πλαστική διάφανη κωνική σακούλα, με κατάλληλο άνοιγμα στο πρόσθιο τμήμα της για επαρκή αερισμό (Εικόνα 15.12Β).

(Α)



(Β)



Εικόνα 15.12 Συγκράτηση του επίμωος με (Α) τοποθέτησή του σε ειδική συσκευή συγκράτησης από plexiglas (Anonymous, 2022d) και (Β) σε πλαστική κωνική σακούλα (Perret-Gentil, 2022).

Σε περίπτωση χειρισμού μητέρων με τα νεογέννητά τους, περιμένουμε πάντα τη μητέρα να βγει από τη φωλιά. Προτού επιχειρήσουμε να μετακινήσουμε τα νεογέννητα, μεταφέρουμε πρώτα τη μητέρα εκτός κλουβιού.

15.7. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΟΥΣΙΩΝ

Στον Πίνακα 15.1 παρουσιάζονται οι μέγιστες συνιστώμενες ποσότητες και οι διάμετροι των βελονών για κάθε τύπο έγχυσης στον επίμυ.

Πίνακας 15.1 Σημεία έγχυσης, μέγιστοι χορηγούμενοι όγκοι και διάμετροι βελόνας, για έγχυση ουσιών στον επίμυ.

Οδός χορήγησης	Σημείο έγχυσης	Μέγιστος χορηγούμενος όγκος	Διάμετρος βελόνας
Υποδόρια	τράχηλος, ράχη, πλάγια κοιλιακά τοιχώματα	1-2 mL (max 2-4 εγχύσεις)	25 G
Ενδοδερμική	ράχη	100 μL / έγχυση	26 G
Ενδομυϊκή	πρόσθιο και οπίσθιο τμήμα μηρού	0,1 mL	25 G
Ενδοφλέβια	πλάγια κοκκυγική φλέβα, σφαγίτιδα	1 mL (αργά)	25-27 G
Ενδοπεριτοναϊκή	οπίσθιο δεξιό ή αριστερό τεταρτημόριο της κοιλιάς	5-10 mL	23-25 G

15.7.1. Χορήγηση από το στόμα

Η χορήγηση μιας ουσίας από το στόμα μπορεί να γίνει με ανάμειξή της στην τροφή ή διάλυσή της στο πόσιμο νερό. Μπορεί να αναμειχθεί με άλλες, εύγεστες ουσίες, για να διευκολυνθεί η κατανάλωσή της. Δεν θεωρείται ακριβής τεχνική για ουσίες που επιθυμούμε να χορηγήσουμε σε συγκεκριμένη ποσότητα και χρονική στιγμή. Ωστόσο, ειδικά για επαναλαμβανόμενες χορηγήσεις, ο επίμυς μπορεί να εκπαιδευτεί να προσλαμβάνει εύγεστες ουσίες απευθείας από τη σύριγγα, ώστε να εξασφαλίζεται ακρίβεια στη χορήγηση (Tillmann and Wegener, 2018) (Εικόνα 15.13).



Εικόνα 15.13 Πρόσληψη ουσίας απευθείας από σύριγγα στον επίμυ (Tillmann and Wegener, 2018).

Πιο ακριβής τεχνική χορήγησης υγρών ουσιών από το στόμα στον επίμυ είναι η προώθησή τους με τη βοήθεια στομαχικού καθετήρα. Οι στομαχικοί καθετήρες μπορεί να είναι είτε μεταλλικοί άκαμπτοι είτε πλαστικοί εύκαμπτοι (Εικόνα 14.10). Για την αποφυγή τραυματισμού προτείνεται η χρήση εύκαμπτων καθετήρων από πολυαιθυλένιο (3-4 G). Προηγουμένως, υπολογίζεται πάνω στο ζώο το μήκος του καθετήρα που είναι απαραίτητο να εισαχθεί, προκειμένου να καταλήξει το ελεύθερο άκρο του στον στόμαχο (Εικόνα 15.14Α). Ο καθετήρας συνδέεται με σύριγγα και αναρροφάται η ουσία προς χορήγηση. Με το ζώο να συγκρατείται σε κατακόρυφη στάση από πτυχή του δέρματος του τραχήλου, ο καθετήρας εισάγεται με ήπιες κινήσεις από το πλάι της στοματικής κοιλότητας έως τον στόμαχο (Εικόνα 15.14Β). Θα πρέπει να υπάρχει ελάχιστη ή καμία αντίσταση κατά την εισαγωγή του. Στη συνέχεια, προωθείται αργά η ουσία και απομακρύνεται ο καθετήρας (Εικόνα 15.14Γ).

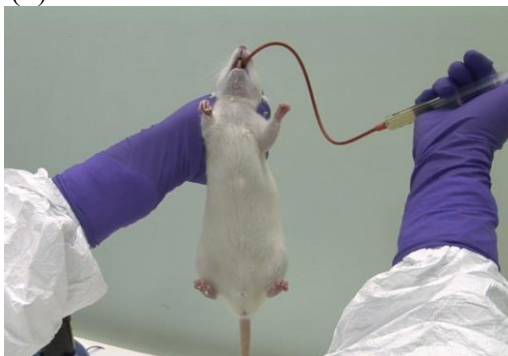
(A)



(B)



(Γ)



Εικόνα 15.14 Χορήγηση ουσιών στον επίμυ με τη βοήθεια εύκαμπτου στομαχικού καθετήρα.
(Α) Υπολογισμός του μήκους του στομαχικού καθετήρα που είναι απαραίτητο να εισαχθεί.
(Β) Εισαγωγή του καθετήρα από το πλάι της στοματικής κοιλότητας. (Γ) Προώθηση της ουσίας
(Anonymous, 2022e).

Video: <https://researchanimaltraining.com/articles/oral-gavage-in-the-rat/>

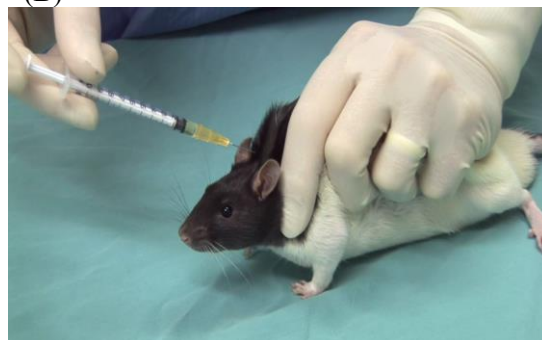
15.7.2. Υποδόρια έγχυση

Η υποδόρια έγχυση μπορεί να γίνει με το ζώο να συγκρατείται πίσω από τους ώμους του, με διασταυρωμένα τα πρόσθια άκρα του και συγκρατώντας με το άλλο χέρι μας τα οπίσθια άκρα του. Ένας βοηθός εκτελεί την έγχυση στην περιοχή της ράχης ή στα πλάγια κοιλιακά τοιχώματα, αφού προηγουμένως έλξει πτυχή του δέρματος (Εικόνα 15.15Α). Εναλλακτικά, μπορεί να συγκρατηθεί το ζώο με περιτύλιξη του μέσα σε πετσέτα. Η έγχυση μπορεί επίσης να γίνει στην περιοχή του τραχήλου, αφού το ζώο τοποθετηθεί πάνω σε σταθερή επιφάνεια, συγκρατώντας το με το ένα χέρι μας από πτυχή του δέρματος του τραχήλου (Εικόνα 15.15Β)

(Α)



(Β)



Εικόνα 15.15 Υποδόρια έγχυση στον επίμυ (Α) στην περιοχή της ράχης, (Β) στην περιοχή του τραχήλου
(Anonymous, 2022a).

Video: <https://researchanimaltraining.com/articles/subcutaneous-injection-in-the-rat/>

15.7.3. Ενδοδερμική έγχυση

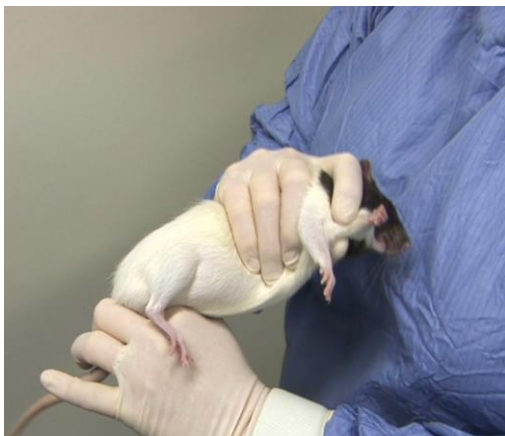
Η έγχυση γίνεται στο δέρμα της ράχης, αφότου ξυριστεί και καθαριστεί η περιοχή με αντισηπτική ουσία. Το ζώο προτείνεται να τελεί υπό γενική αναισθησία.

15.7.4. Ενδομυϊκή έγχυση

Ενδομυϊκή έγχυση μιας ουσίας με μικρό όγκο ($\leq 0,1$ mL) μπορεί να γίνει στο πρόσθιο ή οπίσθιο τμήμα του μηρού του επίμυος. Το ζώο συγκρατείται με σύλληψή του πίσω από τους ώμους, διασταυρώνοντας τα πρόσθια άκρα του, ενώ με το άλλο χέρι μας συγκρατούμε την ουρά και ένα οπίσθιο άκρο του (Εικόνα 15.16Α). Ένας βοηθός έλκει το ελεύθερο οπίσθιο άκρο και εκτελεί την έγχυση (Εικόνα 15.16Β). Εναλλακτικά, η έγχυση μπορεί να γίνει με το ζώο να συγκρατείται μετά από περιτύλιξη σε πετσέτα, έχοντας

αφήσει ελεύθερο ένα οπίσθιο άκρο (Εικόνα 15.16Γ). Το τελευταίο έλκεται και η έγχυση εκτελείται από έναν βοηθό.

(A)



(B)



(Γ)

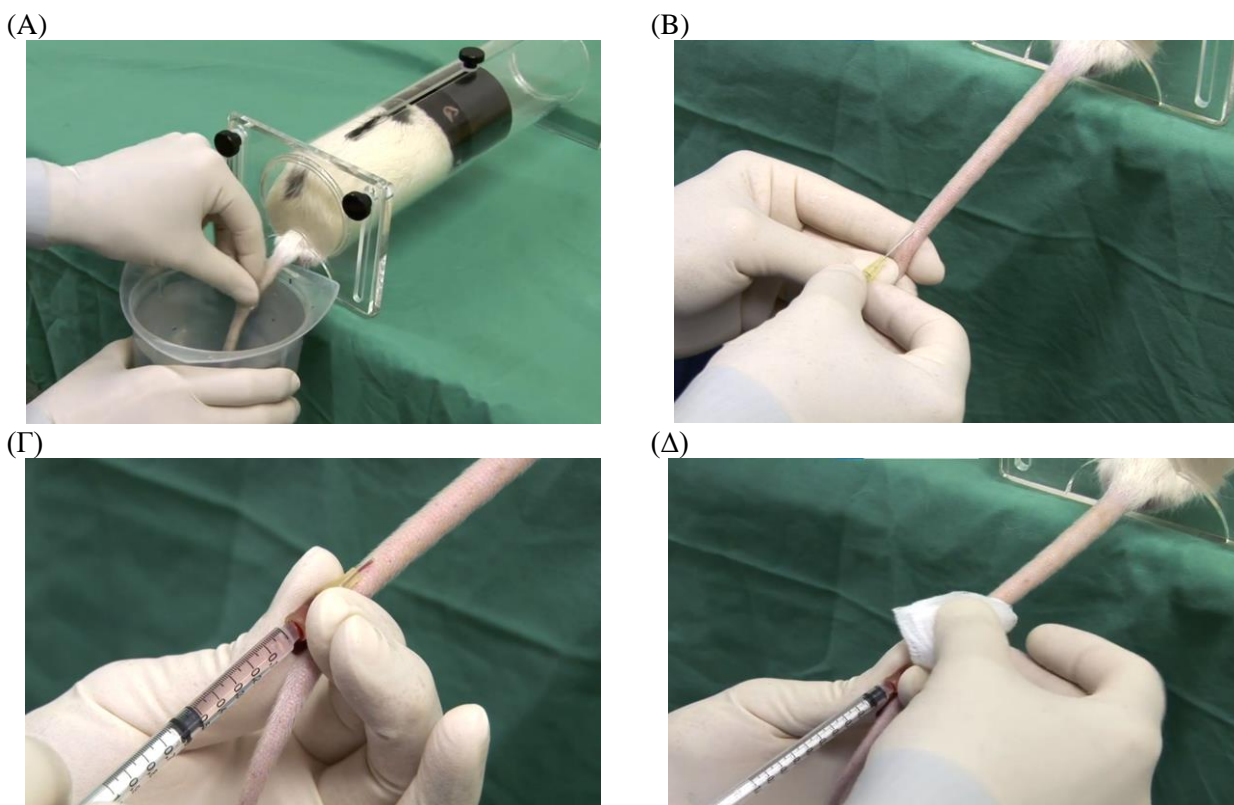


Εικόνα 15.16 Ενδομυϊκή έγχυση στον επίμυ. (A) Συγκράτηση του ζώου. (B) Εκτέλεση της έγχυσης από βοηθό.
(Γ) Συγκράτηση του ζώου με περιτύλιξη σε πετσέτα
(Anonymous, 2022f, Fernandez, 2022).

Video: <https://researchanimaltraining.com/articles/intramuscular-injection-in-the-rat/>

15.7.5. Ενδοφλέβια έγχυση

Για την ενδοφλέβια έγχυση μιας ουσίας, ο επίμυς τοποθετείται σε ειδική συσκευή συγκράτησης γυάλινη ή από plexiglas. Εναλλακτικά, μπορεί να τοποθετηθεί σε ειδική κωνική σακούλα συγκράτησης. Για την έγχυση, προτιμώνται οι πλάγιες κοκκυγικές φλέβες. Για πρόκληση αγγειοδιαστολής πριν από την έγχυση, μπορεί να προθερμανθεί α) ολόκληρο το ζώο, με τοποθέτηση θερμαντικής λάμπας πάνω από το κλουβί του ή με τοποθέτηση του κλουβιού με το ζώο σε επωαστήριο σε θερμοκρασία 28-30 °C για χρονικό διάστημα έως 30 min ή β) μόνο η ουρά του, με εμβάπτισή της σε ζεστό νερό θερμοκρασίας 30-35 °C για 1-2 min (Εικόνα 15.17A). Για την έγχυση, μπορεί να χρησιμοποιηθεί βελόνα, πεταλούδα ή καθετήρας κατάλληλης διαμέτρου, που εισάγεται με την οπή της/του προς τα επάνω, σε απόσταση 1/2-2/3 της ουράς από τη βάση της και με ελάχιστη κλίση ως προς τον επιμήκη άξονά της (Εικόνα 15.17B). Ακολουθεί αργή έγχυση της ουσίας με σύριγγα (Εικόνα 15.17Γ). Δεν θα πρέπει να συναντάται αντίσταση κατά την προώθηση του εμβόλου της σύριγγας. Τέλος, ασκείται ήπια πίεση στο σημείο της έγχυσης για περίπου 1 min (Εικόνα 15.17Δ). Μπορεί να επαλειφθεί αναισθητική κρέμα στην περιοχή της παρακέντησης, 30 min νωρίτερα, για μείωση της αντίδρασης του ζώου.



Εικόνα 15.17 Ενδοφλέβια έγχυση ουσίας στον επίμω. (Α) Προθέρμανση της ουράς. (Β) Εισαγωγή ενδοφλέβιου καθετήρα. (Γ) Προώθηση της ουσίας με σύριγγα. (Δ) Άσκηση πίεσης στο σημείο της έγχυσης (Anonymous, 2022d).

Video: <https://researchanimaltraining.com/articles/intravenous-injection-in-the-rat/>

15.7.6. Ενδοπεριτοναϊκή έγχυση

Για την ενδοπεριτοναϊκή έγχυση, το ζώο συγκρατείται με σύλληψή του πίσω από τους ώμους, διασταυρώνοντας τα πρόσθια άκρα του, ή με την τεχνική των τριών δακτύλων, ενώ με το άλλο χέρι μας συλλαμβάνονται τα οπίσθια άκρα. Η έγχυση εκτελείται από έναν βοηθό συνήθως στο δεξιό οπίσθιο τεταρτημόριο της κοιλίας, ώστε να αποφευχθεί τρώση του ήπατος, της ουροδόχου κύστης ή του τυφλού, υπό γωνία περίπου 30°. Προτείνεται να συγκρατείται το ζώο με τέτοια κλίση του σώματος, ώστε η κεφαλή του να βρίσκεται σε χαμηλότερο επίπεδο από τα οπίσθια άκρα, προκειμένου να μετατοπιστούν τα κοιλιακά όργανα προς τα εμπρός και να μειωθεί ο κίνδυνος τρώσης τους (Εικόνα 15.18).



Εικόνα 15.18 Ενδοπεριτοναϊκή έγχυση στον επίμω (Andrews, 2014).

Εναλλακτικά, μπορεί το ζώο να συγκρατηθεί με περιτύλιξη του σε πετσέτα, σε πρόσθια κατάκλιση πάνω σε σταθερή επιφάνεια. Με τον αντίχειρα και τον δείκτη του ενός χεριού μας συλλαμβάνουμε τη βάση της ουράς του ζώου και ανασηκώνουμε το σώμα του, ώστε να σχηματίσει γωνία περίπου 45° με την επιφάνεια στήριξης, προκειμένου να γίνει ορατή η κοιλιακή χώρα του. Η έγχυση εκτελείται στο δεξιό οπίσθιο τεταρτημόριο της κοιλίας (Εικόνα 15.19). Εναλλακτικά, το ζώο μπορεί να συγκρατείται κατά την έγχυση με περιτύλιξη του σε πετσέτα, σε ραχιαία κατάκλιση.



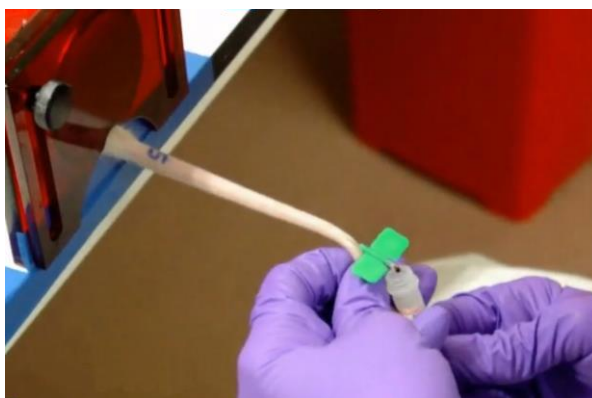
Εικόνα 15.19 Ενδοπεριτοναϊκή έγχυση στον επίμου, μετά από συγκράτησή του με περιτύλιξη του σε πετσέτα (Perret-Gentil, 2022).

15.8. ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ

15.8.1. Μέθοδοι αιμοληψίας που δεν απαιτούν αναισθησία

15.8.1.1. Παρακέντηση των κοκκυγικών φλεβών

Αιμοληψία στον επίμου μπορεί να γίνει με παρακέντηση της ραχιαίας ή των πλάγιων κοκκυγικών φλεβών, για λήψη 0,1-2,0 mL αίματος. Το ζώο εισάγεται σε κατάλληλη συσκευή συγκράτησης, με την ουρά του να προεξέχει. Πριν από την αιμοληψία, προθερμαίνεται ολόκληρο το ζώο, με τοποθέτησή του σε ειδικό θερμαντικό θάλαμο σε θερμοκρασία 38 °C για διάστημα έως 10 min, ή μόνο η ουρά του, με εμβάπτισή της σε νερό θερμοκρασίας 38 °C για 1-2 min. Η ουρά καθαρίζεται με αντισηπτικό διάλυμα. Κεντρικά της φλέβας μπορεί να ασκηθεί πίεση ή να εφαρμοστεί ίσχυαμη περίδεση, για καλύτερη θέαση και διαστολή των αγγείων. Η παρακέντηση γίνεται σε απόσταση περίπου 1/3 του μήκους της ουράς από την άκρη της. Για την παρακέντηση, χρησιμοποιείται βελόνα ή πεταλούδα με κομμένο σωληνάκι 21-23 G και το αίμα συλλέγεται στάγδην σε σωληνάριο αιμοληψίας (Εικόνα 15.20).



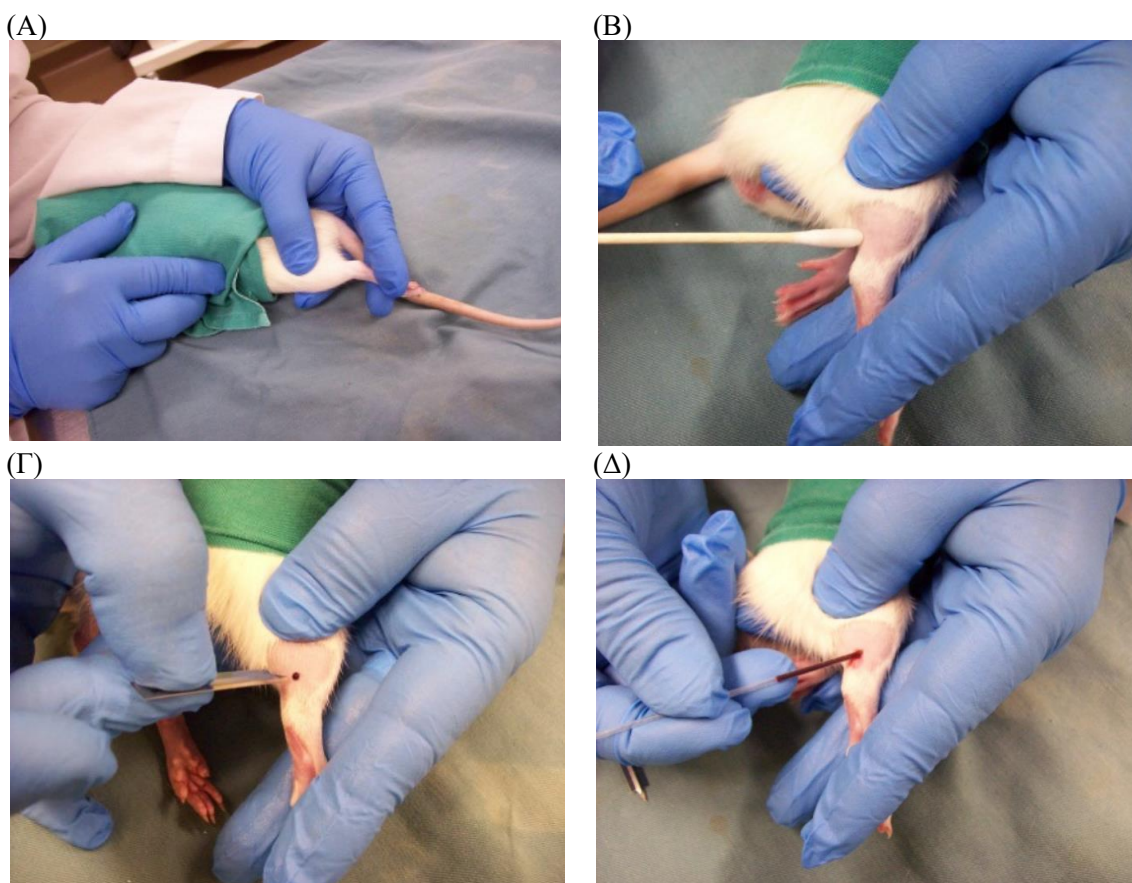
Εικόνα 15.20 Αιμοληψία στον επίμου από την πλάγια κοκκυγική φλέβα (Anonymous, 2022g).

Video: <https://www.nc3rs.org.uk/3rs-resources/blood-sampling/blood-sampling-rat>

Για επαναλαμβανόμενες αιμοληψίες σε μικρό χρονικό διάστημα, μπορεί να τοποθετηθεί προσωρινά φλεβοκαθετήρας στην κοκκυγική φλέβα και να διατηρηθεί εκεί για διάστημα έως περίπου 8 ωρών.

15.8.1.2. Νύξη της έξω σαφηνούς φλέβας

Η τεχνική μπορεί να εφαρμοστεί με τοποθέτηση του ζώου σε σταθερή επιφάνεια και συγκράτηση με το ένα χέρι μας σε πρόσθια κατάκλιση, με περιτύλιξη του σε πετσέτα, ενώ τα οπίσθια άκρα και η ουρά του προεξέχουν. Το ένα οπίσθιο άκρο διατηρείται σε έκταση, με συγκράτηση μεταξύ του δείκτη και του μέσου του άλλου χεριού μας (Εικόνα 15.21Α). Η εξωτερική περιοχή της κνήμης ξυρίζεται και καθαρίζεται με αντισηπτική ουσία (Εικόνα 15.21Β). Το αγγείο νύσσεται με τη βοήθεια ακίδας (Εικόνα 15.21Γ) και το αίμα συλλέγεται με τη βοήθεια σωληναρίου μικροαιματοκρίτη (Εικόνα 15.21Δ) ή στάγδην σε σωληνάριο αιμοληψίας.



Εικόνα 15.21 Αιμοληψία από την έξω σαφηνή φλέβα στον επίμυ. (Α) Συγκράτηση του ζώου. (Β) Ξύρισμα και καθαρισμός της περιοχής με αντισηπτική ουσία. (Γ) Νύξη του αγγείου με ακίδα. (Δ) Συλλογή του αίματος με τη βοήθεια σωληναρίου μικροαιματοκρίτη (Jones, 2012).

15.8.1.3. Παρακέντηση της σφαγίτιδας

Η τεχνική μπορεί να εκτελεστεί με το ζώο υπό γενική αναισθησία ή σε εγρήγορση, μετά από κατάλληλη συγκράτησή του από έναν βοηθό. Στη δεύτερη περίπτωση, το ζώο συγκρατείται από πτυχή του δέρματος του τραχήλου σε ραχιαία κατάκλιση. Με τον δείκτη του άλλου χεριού απωθείται η κάτω σιαγόνα και διατηρείται η κεφαλή σε έκταση, ενώ με τον αντίχειρα συγκρατούνται τα πρόσθια άκρα. Η περιοχή παρακέντησης ξυρίζεται και καθαρίζεται με αντισηπτικό. Στη συνέχεια, με τον αντίχειρα πιέζεται το αγγείο κεντρικά, για να βοηθηθεί η διαστολή του. Παρακεντάται η σφαγίτιδα με σύριγγα που φέρει βελόνα 23 G στο μέσο της απόστασης από το στήρνο έως τον ώμο, με φορά κεφαλο-ουραία (Εικόνα 15.22).

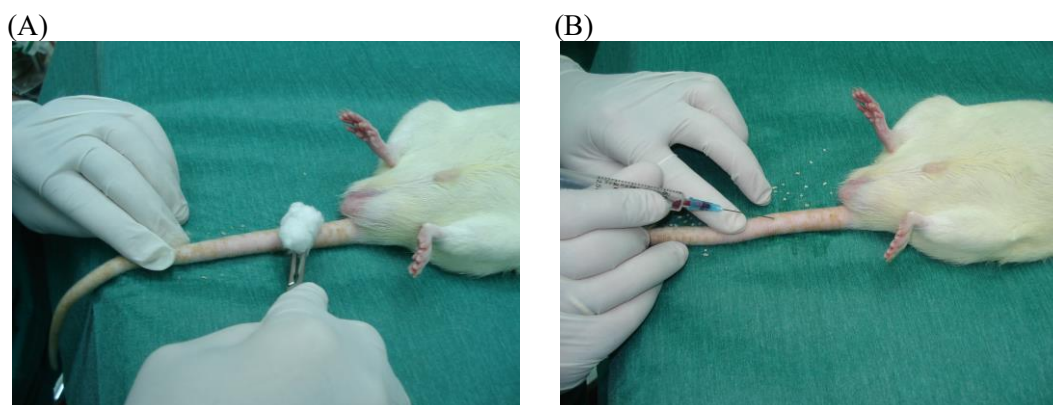


Εικόνα 15.22 Αιμοληψία από τη σφαγίτιδα στον επίμυ (Anonymous, 2022h).

15.8.2. Μέθοδοι αιμοληψίας υπό γενική αναισθησία σε ζώα στα οποία επιθυμείται η επιβίωσή τους

15.8.2.1. Από την κοκκυγική αρτηρία

Αίμα μπορεί να συλλεχθεί από αναισθητοποιημένο επίμυ με παρακέντηση της κοκκυγικής αρτηρίας, η οποία βρίσκεται στην κοιλιακή επιφάνεια της ουράς. Ο επίμυς τοποθετείται σε ραχιαία κατάκλιση σε θερμαινόμενη τράπεζα. Η κοιλιακή επιφάνεια της ουράς τρίβεται στην περιοχή της παρακέντησης με βαμβάκι εμποτισμένο με διάλυμα αλκοόλης για 1-2 min, προκειμένου να προκληθεί τοπική αγγειοδιαστολή (Εικόνα 15.23A). Εναλλακτικά, μπορεί να προθερμανθεί η ουρά του ζώου με εμφύσησή της σε νερό θερμοκρασίας 38 °C ή με κάλυψή της με πετσέτα εμποτισμένη με νερό θερμοκρασίας 38 °C για 1-2 min. Ακολούθως, με τον δείκτη μας ασκούμε πίεση περιφερικά του σημείου παρακέντησης, ώστε να υποβοηθηθεί η διαστολή του αγγείου. Η αρτηρία παρακεντάται περίπου στο μέσο της ουράς υπό γωνία 45° με βελόνα 23 G συνδεδεμένη με σύριγγα 2,5 mL, της οποίας το έμβολο έχει προηγουμένως αφαιρεθεί (Εικόνα 15.23B). Το αίμα εισρέει στη σύριγγα χωρίς αναρρόφηση, λόγω της υψηλής πίεσης στο αγγείο. Μετά την αιμοληψία, ασκείται ήπια πίεση στο σημείο παρακέντησης για 2-3 min, προκειμένου να προκληθεί αιμόσταση. Ωστόσο, αξίζει να σημειωθεί ότι η τριβή της ουράς πριν από την αιμοληψία έχει βρεθεί ότι οδηγεί σε αύξηση του αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων (Waynforth and Flecknell, 1992).



Εικόνα 15.23 Αιμοληψία στον επίμυ από την κοκκυγική αρτηρία. (A) Τριβή της ουράς με βαμβάκι εμποτισμένο με διάλυμα αλκοόλης. (B) Παρακέντηση της κοκκυγικής αρτηρίας, ενώ παράλληλα ασκείται πίεση στο αγγείο περιφερικά.

15.8.2.2. Καθετηριασμός αγγείων για τακτικές αιμοληψίες

Για τακτικές αιμοληψίες, είναι δυνατό να καθετηριαστεί η πρόσθια κοίλη φλέβα διαμέσου της σφαγίτιδας ή η οπίσθια κοίλη φλέβα διαμέσου της μηριαίας φλέβας, με το ζώο υπό γενική αναισθησία. Το άκρο του καθετήρα εκβάλλει, μετά από υποδόρια διαδρομή, στον τράχηλο του ζώου.

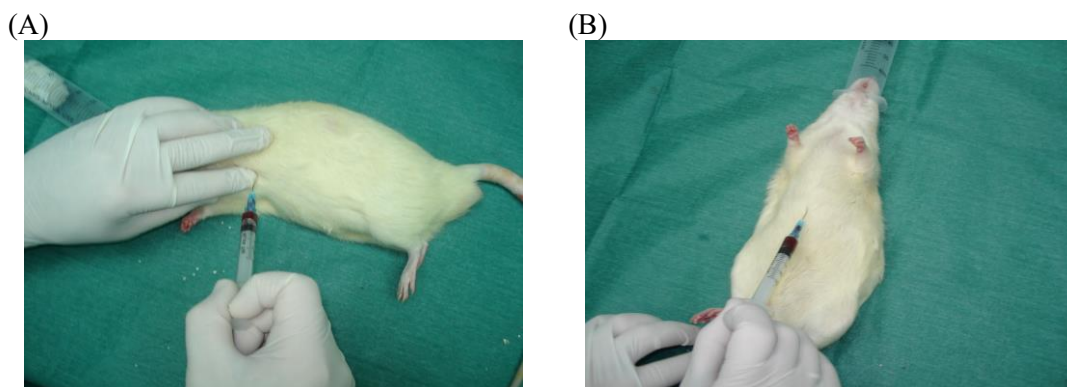
15.8.3. Μέθοδοι αιμοληψίας υπό γενική αναισθησία σε ζώα στα οποία δεν επιθυμείται η επιβίωσή τους (τελική αιμοληψία)

15.8.3.1. Παρακέντηση αγγείων οφθαλμικού κόγχου

Η τεχνική εκτελείται με το ζώο υπό γενική αναισθησία –όπως περιγράφηκε στον μυ– και εφαρμόζεται σε ζώα των οποίων η επιβίωση δεν επιθυμείται. Η τεχνική δεν προτιμάται σε ζώα στα οποία επιθυμείται η επιβίωσή τους εφόσον υπάρχουν άλλες διαθέσιμες, λόγω των πιθανών παρενεργειών από την εφαρμογή της, όπως οπισθοβολβικό αιμάτωμα, βλάβη του οπτικού νεύρου κ.λπ.

15.8.3.2. Καρδιακή παρακέντηση

Η καρδιακή παρακέντηση εκτελείται σε επίμυς υπό γενική αναισθησία. Εφαρμόζεται σε ζώα στα οποία δεν επιθυμείται η επιβίωσή τους. Χρησιμοποιείται σύριγγα με βελόνα 21-25 G. Μπορούν να εφαρμοστούν τρεις τρόποι προσέγγισης: α) Το ζώο τοποθετείται σε δεξιά πλάγια κατάκλιση. Μετά από ψηλάφηση της παλλόμενης καρδιάς, στο 6ο μεσοπλεύριο διάστημα του αριστερού θωρακικού τοιχώματος εισάγεται η βελόνα κάθετα προς το θωρακικό τοίχωμα, ενώ παράλληλα έλκεται το έμβολο της σύριγγας, ώστε να προκαλέσει αρνητική πίεση. Μόλις διαπιστωθεί εισροή αίματος στη σύριγγα, σταθεροποιείται η βελόνα και συνεχίζεται η αιμοληψία. Έτσι λαμβάνεται αρτηριακό αίμα (Εικόνα 15.24Α). β) Τοποθετείται το ζώο σε αριστερή πλάγια κατάκλιση και εισάγεται η βελόνα από το 6ο μεσοπλεύριο διάστημα, διαμέσου των πνευμόνων, στην καρδιά. Έτσι λαμβάνεται φλεβικό αίμα. γ) Το ζώο τοποθετείται σε ραχιαία κατάκλιση. Οπισθίως της ξιφοειδούς απόφυσης του στέρνου εισάγεται η βελόνα υπό γωνία 25-30°, με κατεύθυνση προς την καρδιά, την οποία και παρακεντά (Εικόνα 15.24Β). Εναλλακτικά, μπορεί να προηγηθεί θωρακοτομή υπό βαθιά αναισθησία και παρακέντηση της καρδιάς υπό άμεση θέα.



Εικόνα 15.24 Αιμοληψία από την καρδιά στον επίμυ (Α) σε δεξιά πλάγια κατάκλιση και (Β) σε ραχιαία κατάκλιση.

15.8.3.3. Παρακέντηση οπίσθιας κοίλης φλέβας

Εκτελείται με το ζώο υπό γενική αναισθησία, μετά από μέση λαπαροτομή (Εικόνα 15.25). Η τεχνική χρησιμοποιείται σε ζώα στα οποία δεν επιθυμείται η επιβίωσή τους.



Εικόνα 15.25 Αιμοληψία από την οπίσθια κοίλη φλέβα στον επίμυ.

15.8.3.4. Αφαίμαξη

Μπορεί να γίνει με καρδιακή παρακέντηση, διατομή της αορτής ή αποκεφαλισμό.

15.9. ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ

Ισχύουν όσα αναφέρθηκαν για την προνάρκωση και την αναισθησία του μυός, στις δόσεις που αναφέρονται στους Πίνακες 14.2 και 14.3.

15.10. ΕΥΘΑΝΑΣΙΑ

Ισχύουν όσα αναφέρθηκαν για τον μυ. Σε αναισθητοποιημένα ζώα μπορεί να γίνει ενδοκαρδιακή έγχυση πεντοθάλις.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Andrews, K. (2014). Intraperitoneal injection in rats and mice, SOP. UBC Animal Care Guidelines. <https://animalcare.ubc.ca/sites/default/files/documents/TECH%2010%20IP%20Injections%20in%20the%20Mouse%20and%20Rat.pdf>
- Anonymous (2022a). Subcutaneous injection in the rat. Rat research animal training. <https://researchanimaltraining.com/articles/subcutaneous-injection-in-the-rat/>
- Anonymous (2022b). Basic rat handling and technique guide. UNC-Division of Comparative Medicine (DCM). <https://research.unc.edu/wp-content/uploads/sites/61/2020/12/rat-handling-and-techniques.pdf>
- Anonymous (2022c). Scruff handling of rats. Faculty of Health and Medical Sciences. University of Copenhagen. <https://www.youtube.com/watch?v=jIGKgZPMYxI>
- Anonymous (2022d). Intravenous injection in the rat. Rat research animal training. <https://researchanimaltraining.com/articles/intravenous-injection-in-the-rat/>
- Anonymous (2022e). Oral gavage in the rat. Rat research animal training. <https://researchanimaltraining.com/articles/oral-gavage-in-the-rat/>
- Anonymous (2022f). Intramuscular injection in the rat. Rat research animal training. <https://researchanimaltraining.com/articles/intramuscular-injection-in-the-rat/>
- Anonymous (2022g). Blood sampling: Rat. NC3Rs. National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research. <https://www.nc3rs.org.uk/3rs-resources/blood-sampling/blood-sampling-rat>
- Anonymous (2022h). Jugular blood collection in a conscious rat. Slide To Doc. <https://slidetodoc.com/jugular-blood-collection-in-a-conscious-rat-calm/>
- Fernandez, R.H. (2022). Rat. Restrain, handling and injection techniques. Florida International University. <https://research.fiu.edu/documents/facilities/acf/documents/rats-restrain-manipulations.pdf>
- Gauguier, D. (2013). Rats: Genetic and Functional Genomic Analyses of Complex Phenotypes. In S. Maloy, & K. Hughes (Eds.), *Brenner's Encyclopedia of Genetics* (Second Edition) (pp. 38-40). Academic Press. ISBN: 9780123749840
- Havenaar, R., Meijer, J.C., Morton, D.B., Ritskes-Hoiting, J., & Zwart, P (2001). Biology and husbandry of laboratory animals. In L.F.M. van Zutphen, V. Baumans, & A.C. Beyen (Eds.), *Principles of Laboratory Animal Science. A contribution to the humane use and care of animals and to the quality of experimental results*. Revised Edition (pp. 19-76). Elsevier. ISBN-13: 978-0444812704
- Hendrich, H.J. (2000). History, strains and models. In G. Krinke (Ed.). *The laboratory rat* (pp. 3-16). Academic Press. ISBN: 9780080533469
- Johnson, M. Laboratory mice and rats. Labome. (2022). <https://www.labome.com/method/Laboratory-Mice-and-Rats.html>
- Jones, K. (2012). Blood collection from the lateral saphenus vein in mice and rats. SOP. UBC Animal Care Guidelines. <https://animalcare.ubc.ca/sites/default/files/documents/ACS-2012-Tech02.pdf>
- Maeda, K., Ohkura, S., & Tsukamura, H. (2000) Physiology of reproduction. In G. Krinke (Ed.), *The laboratory rat* (pp. 133-176). Academic Press. ISBN: 9780080533469

- Paronis, E., Samara, A., Polyzos, A., Spyropoulos, C., & Kostomitsopoulos, N.G. (2015). Maternal weight as an alternative determinant of the gestational day of Wistar rats housed in individually-ventilated cages. *Laboratory Animals*, 49, 188-195. <http://doi.org/10.1177/0023677214562846>
- Perret-Gentil, M.I. (2022). Rat bi methodology. University of Texas. <http://research.utsa.edu/wp-content/uploads/2015/02/Ratbiomethodologyhandouts.pdf>
- Tillmann, S., & Wegener, G. (2018). Syringe-feeding as a novel delivery method for accurate individual dosing of probiotics in rats. *Beneficial Microbes*, 9, 311-315. <http://doi.org/10.3920/BM2017.0127>
- Waynforth, H.B., & Flecknell, P.A. (1992). *Experimental and Surgical Techniques in the Rat*, 2nd edition. Academic Press. ISBN-13: 978-0127388519
- Ypsilantis, P., Deftereos, S., Prassopoulos, P., & Simopoulos, C. (2009). Ultrasonographic diagnosis of pregnancy in the rat. *Journal of the American Association of the Laboratory Animal Science*, 48, 734-739.
- Ypsilantis, P., Somalou, P., Panidou, E., & Simopoulos, C. (2018). Laparoscopic early pregnancy diagnosis in the laboratory rat. *Laboratory Animals*, 52, 265-270. <http://doi.org/10.1177/0023677217723933>
- Ypsilantis, P., Souftas, V., Vyza, V., Vraila, M., Chatzaki, M., Ypsilantou, I., & Pitiakoudis, M. (2021). Magnetic resonance imaging for early pregnancy diagnosis in the laboratory rat. *Laboratory Animals*, 55, 262-269. <http://doi.org/10.1177/0023677220972744>
- Zimmermann, F., Weiss, J., Reifenberg, K. (2000). Breeding and assisted reproduction techniques. In G. Krinke (Ed.), *The laboratory rat* (pp. 177-198). Academic Press. ISBN: 9780080533469

Κεφάλαιο 16

Σύνοψη

Στο κεφάλαιο αυτό γίνεται αναφορά σε στοιχεία ανατομίας, φυσιολογίας και βιολογίας του γέρβιλου. Περιγράφονται οι συνθήκες εκτροφής και οι μέθοδοι σύλληψης, συγκράτησης, χορήγησης ουσιών, αιμοληψίας, αναισθησίας και ευθανασίας.

Προαπαιτούμενη γνώση

Είναι χρήσιμη η γνώση που έχει αποκομισθεί από το Γενικό Μέρος του συγγράμματος επί των συνθηκών εκτροφής και των μεθόδων σύλληψης, συγκράτησης, χορήγησης ουσιών, αιμοληψίας, αναισθησίας και ευθανασίας.

16 ΓΕΡΒΙΛΟΣ (GERBIL)

16.1. ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ – ΧΡΗΣΕΙΣ

Ο γέρβιλος (*Meriones unguiculatus*) κατάγεται από τη Μογγολία και τη βόρεια Κίνα. Χρησιμοποιείται σε έρευνες που αφορούν την ιδιοπαθή επιληψία, τον μεταβολισμό της χοληστερόλης, την αρτηριοσκλήρυνση, την παχυσαρκία, τα εγκεφαλικά έμφρακτα κ.λπ.



Εικόνα 16.1 Γέρβιλος.

16.2. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ

Ο γέρβιλος είναι νυκτόβιο τρωκτικό με μεγάλα μάτια και αυτιά. Το τρίχωμά του είναι χρώματος καφέ ή γκριζού. Έχει μακριά και φουντωτή ουρά. Το μήκος του σώματός του και της ουράς του είναι 11-15 cm το καθένα και το σωματικό του βάρος 80-110 g των αρσενικών και 70-100 g των θηλυκών. Η διάρκεια ζωής του είναι 2-5 χρόνια. Η θερμοκρασία του είναι 37-38,5 °C, ο καρδιακός ρυθμός 260-600 παλμοί/min και ο αναπνευστικός ρυθμός 70-120 αναπνοές/min (Heatley and Harris, 2009, Batchelder et al., 2012).

16.3. ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ

Ο γέρβιλος ενηβάνεται σε ηλικία 9-12 εβδομάδων και για αναπαραγωγή χρησιμοποιούνται αρσενικά 70-85 ημερών και θηλυκά 65-85 ημερών. Είναι ζώο πολυοιστρικό. Ο ωοθηκικός κύκλος του διαρκεί 4-6 ημέρες, ο οίστρος 12 ώρες και η ωοθυλακιορρηξία συμβαίνει αυτόματα. Μετά από εγκυμοσύνη 24-26 ημερών, γεννά 3-

7 νεογέννητα βάρους 2-3 g. Η γαλουχία διαρκεί 27-48 ημέρες.

Στον γέρβιλο εφαρμόζεται το μονογαμικό σύστημα αναπαραγωγής, αν και μπορούν να συστεγαστούν 2-3 θηλυκά με 1 αρσενικό. Το ζευγάρι θα πρέπει να στεγάζεται στο ίδιο κλουβί πριν από την ενήβωσή του. Σε περίπτωση θανάτου του ενός, το άλλο δεν δέχεται δεύτερο σύντροφο.

16.4. ΕΚΤΡΟΦΗ

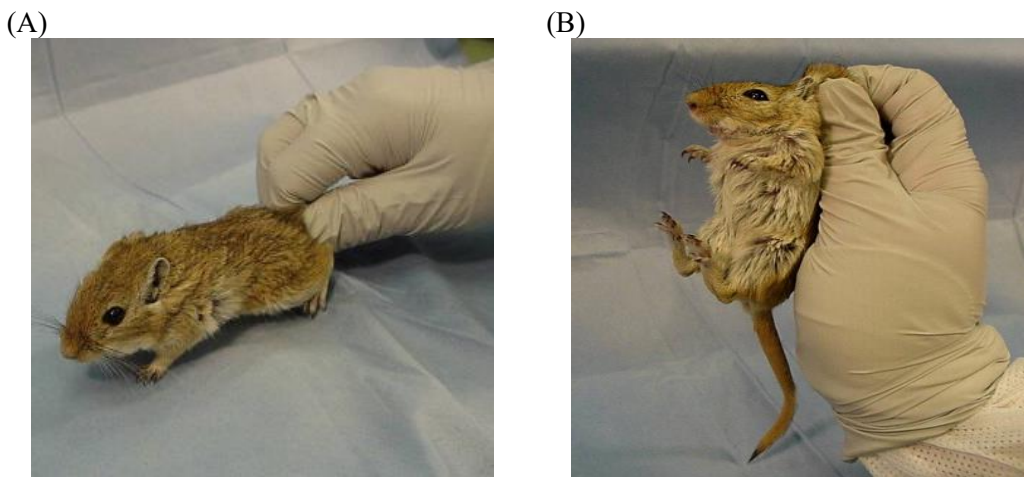
Ο γέρβιλος στεγάζεται σε πλαστικά κλουβιά που έχουν σχεδιαστεί για άλλα τρωκτικά, π.χ. για χάμστερ ή για επίμυς, με συμπαγές δάπεδο και στρωμνή, σε ομάδες που σχηματίζονται πριν από τον απογαλακτισμό. Οι διαστάσεις των κλουβιών αναφέρονται στον Πίνακα 5.2. Δείχνει εξαιρετική προσαρμοστικότητα στις διακυμάνσεις της θερμοκρασίας (0-35 °C), η οποία προτείνεται να είναι 18-26 °C. Η σχετική υγρασία θα πρέπει να είναι 45-55%, ο αέρας να ανανεώνεται 15-20 φορές την ώρα και η φωτοπερίοδος να διαρκεί 12 ώρες.

16.4.1. Διατροφή

Στον γέρβιλο παρέχεται τυποποιημένη τροφή υπό μορφή συμπύκτων (pellets), η οποία περιλαμβάνει 16-20% πρωτεΐνη και 4-5% λίπος. Τα ενήλικα καταναλώνουν περίπου 8 g τροφής και 4 mL νερού ημερησίως.

16.5. ΣΥΛΛΗΨΗ – ΣΥΓΚΡΑΤΗΣΗ

Ο γέρβιλος δεν είναι επιθετικό ζώο και μπορεί να συλληφθεί ανάμεσα στις παλάμες μας ή από τη βάση της ουράς του (Εικόνα 16.2A) και ακολούθως να στηριχθεί στο χέρι μας. Μπορεί να συγκρατηθεί από πτυχή του δέρματος του τραχήλου (Εικόνα 16.2B) ή και της ράχης (scruffing). Για τον λόγο αυτόν, αφού τον έχουμε συλλάβει από τη βάση της ουράς με το ένα χέρι, τον τοποθετούμε σε σταθερή επιφάνεια και πιέζουμε την κεφαλή του προς τα κάτω με τον δείκτη και τον αντίχειρα του άλλου χεριού μας. Στη συνέχεια, με τα υπόλοιπα δάκτυλα συλλαμβάνουμε πτυχή του δέρματος του τραχήλου ή και της ράχης και τον ανασηκώνουμε. Μπορούμε με το ακραίο δάκτυλο να συγκρατήσουμε την ουρά του. Επίσης, μπορεί να τοποθετηθεί σε συσκευές συγκράτησης που έχουν σχεδιαστεί για επίμυς.



Εικόνα 16.2 (A) Σύλληψη του γέρβιλου από τη βάση της ουράς.
(B) Συγκράτηση του γέρβιλου από πτυχή του δέρματος του τραχήλου
(Batchelder et al., 2012).

16.6. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΟΥΣΙΩΝ

Ισχύουν σε γενικές γραμμές όσα αναφέρθηκαν για τον μυ.

16.7. ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ

Για την αιμοληψία, συνήθως προτιμάται η παρακέντηση των πλάγιων κοκκυγικών φλεβών, μετά από προηγούμενη προθέρμανση της ουράς. Επίσης, έχει αναφερθεί αιμοληψία με νύξη της έξω σαφηνούς ή της υπογνάθιας φλέβας. Για λήψη μικρών ποσοτήτων αίματος, μπορεί να αποκοπεί το άκρο της ουράς. Για μεγαλύτερες ποσότητες αίματος, μπορεί να παρακεντηθούν, υπό γενική αναισθησία, τα αγγεία του οφθαλμικού κόγχου, η σφαγίτιδα ή η καρδιά. Για όλες τις παραπάνω τεχνικές εφαρμόζονται οι οδηγίες που έχουν περιγραφεί προηγουμένως για τον μυ.

16.8. ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ

Ισχύουν σε γενικές γραμμές όσα αναφέρθηκαν για τον μυ. Οι ουσίες για προνάρκωση και τα αναισθητικά που χρησιμοποιούνται στον γέριλο παρουσιάζονται στους Πίνακες 14.2 και 14.3.

16.9. ΕΥΘΑΝΑΣΙΑ

Ισχύει ό,τι έχει αναφερθεί για τον μυ. Από τις χημικές μεθόδους ευθανασίας, προτιμώνται η εισπνοή διοξειδίου του άνθρακα και η υπερδοσολογία βαρβιτουρικών, όπως η ενδοπεριτοναϊκή έγχυση πεντοβαρβιτάλης σε δόση 100-150 mg/kg, ενώ από τις φυσικές μεθόδους η εξάρθρωση του τραχήλου (Batchelder et al., 2012).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Batchelder, M., Keller, S.N., Sauer, M.B., & West, W.L. (2012). Gerbils. In M.A. Suckow, K.A. Stevens, & R.P. Wilson (Eds.), *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster and other rodents* (pp. 1131-1155). American College of Laboratory Animal Medicine, Academic Press. ISBN: 9780123809209
- Heatley, J.J., & Harris, M.C. (2009). Hamsters and Gerbils. In M.A. Mitchell, & T.N. Tully (Eds.). *Manual of Exotic Pet Practice* (pp. 406-432). Elsevier. ISBN: 978-1-4160-0119-5

Κεφάλαιο 17

Σύνοψη

Στο κεφάλαιο αυτό γίνεται αναφορά σε στοιχεία ανατομίας, φυσιολογίας και βιολογίας του χάμστερ. Περιγράφονται οι συνθήκες εκτροφής και οι μέθοδοι σύλληψης, συγκράτησης, χορήγησης ουσιών, αιμοληψίας, αναισθησίας και ευθανασίας.

Προαπαιτούμενη γνώση

Είναι χρήσιμη η γνώση που έχει αποκομισθεί από το Γενικό Μέρος του συγγράμματος επί των συνθηκών εκτροφής και των μεθόδων σύλληψης, συγκράτησης, χορήγησης ουσιών, αιμοληψίας, αναισθησίας και ευθανασίας.

17 ΧΑΜΣΤΕΡ (ΚΡΙΚΗΤΟΣ, HAMSTER)

17.1. ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ – ΦΥΛΕΣ – ΧΡΗΣΕΙΣ

Συνολικά, απαντώνται 24 είδη χάμστερ στην Ευρώπη και στην Ασία. Το συριακό χάμστερ (*Mesocricetus auratus*), το οποίο ονομάζεται και χρυσίζον, και το κινέζικο χάμστερ (*Crisetulus griseus*) (Εικόνα 17.1) είναι τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα είδη χάμστερ. Η καταγωγή του συριακού χάμστερ είναι η νοτιοανατολική Ευρώπη και η Μέση Ανατολή. Το κινέζικο χάμστερ ζει σε μια περιοχή μεταξύ της Κασπίας Θάλασσας και της ανατολικής ακτής της Κίνας.

(A)



(B)



Εικόνα 17.1 Φυλές χάμστερ: (A) Συριακό χάμστερ, (B) Κινέζικο χάμστερ.

Η συχνότητα χρησιμοποίησης του χάμστερ στη βιοϊατρική έρευνα είναι μικρή (λιγότερο από 1%). Το συριακό χάμστερ χρησιμοποιείται κυρίως σε έρευνες που αφορούν την αναπαραγωγή, την τερατογένεση, τις νεοπλασίες και την αιματική κυκλοφορία. Λόγω της ιδιότητάς του να πέφτει σε χειμερία νάρκη, χρησιμοποιείται σε μελέτες που αφορούν την υποθερμία. Το κινέζικο χάμστερ χρησιμοποιείται σε μελέτες του καρύουτου και του σακχαρώδη διαβήτη.

17.2. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ

Το συριακό χάμστερ είναι νυκτόβιο τρωκτικό με σωματικό βάρος 87-130 g τα αρσενικά και 95-130 g τα θηλυκά. Η διάρκεια ζωής του είναι 2-3 έτη. Η θερμοκρασία του σώματός του είναι 37-38 °C, ο καρδιακός ρυθμός 310-470 παλμοί/min και ο αναπνευστικός ρυθμός 38-110 αναπνοές/min (Heatley and Harris, 2009).

Όταν η θερμοκρασία περιβάλλοντος μειώνεται κάτω από 5-6 °C και η φωτοπερίοδος κάτω από 8 ώρες, το χάμστερ πέφτει σε χειμερία νάρκη. Κατά τη διάρκειά της, κοιμάται για περίοδο 2-3 ημερών και ξυπνά για 12 περίπου ώρες. Η θερμοκρασία, ο καρδιακός ρυθμός και ο αναπνευστικός ρυθμός μειώνονται αισθητά, όμως επανέρχονται σε φυσιολογικά επίπεδα μόλις ξυπνήσει.

17.3. ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ

Τα χάμστερ ενηβώνονται σε ηλικία 7-9 εβδομάδων τα αρσενικά και 4-6 εβδομάδων τα θηλυκά. Στην αναπαραγωγή χρησιμοποιούνται σε ηλικία 10-12 εβδομάδων τα αρσενικά και 6-8 εβδομάδων τα θηλυκά. Το χάμστερ είναι πολυοιστρικό ζώο. Ο ωοθηκικός κύκλος του διαρκεί 4 ημέρες και ο οίστρος 2-24 ώρες. Η ωοθυλακιορρηξία συμβαίνει στην αρχή του σταδίου του οίστρου. Το πρωί μετά την ωοθυλακιορρηξία, παρατηρείται έξοδος ιξώδους, κολλώδους και χαρακτηριστικής οσμής εκκρίματος από τον κόλπο. Όταν ένα θηλυκό σε οίστρο οδηγηθεί στο κλουβί του αρσενικού, λαμβάνει στάση λόρδωσης. Μέσα σε διάστημα 20-60 min, πραγματοποιούνται πολλές επιβάσεις. Μετά το ζευγάρωμα, το θηλυκό θα πρέπει να απομακρύνεται από το κλουβί, αλλιώς επιτίθεται στο αρσενικό. Η ύπαρξη κολπικού εκκρίματος 5-9 ημέρες μετά την επίβαση είναι ένδειξη μη επίτευξης γονιμοποίησης.

Για την αναπαραγωγή, μπορούν να χρησιμοποιηθούν τόσο το μονογαμικό όσο και το πολυγαμικό σύστημα. Στο πολυγαμικό σύστημα συστεγάζονται 1-4 αρσενικά με 5-15 θηλυκά. Μετά τη γαλουχία, μπορούν να συστεγαστούν αρσενικό και θηλυκό, ωστόσο αυτό αποφεύγεται, προκειμένου να αποτραπεί πιθανή επιθετική συμπεριφορά.

Η εγκυμοσύνη διαρκεί 15-17 ημέρες στο συριακό και 21 ημέρες στο κινέζικο χάμστερ. Γεννιούνται 6-8 νεογέννητα, που ζυγίζουν 2-3 g το καθένα. Η γαλουχία διαρκεί 20-22 ημέρες (Van Hoosier and Ladiges, 1984). Στις πρωτοτόκες μητέρες συχνά εκδηλώνεται το φαινόμενο του κανιβαλισμού προς τα νεογέννητά τους, κατά τη διάρκεια της πρώτης εβδομάδας μετά τον τοκετό. Πιθανές αιτίες είναι η έλλειψη εμπειρίας, η υπερδιέγερση, η ενόχληση και οι διαταραχές της γαλακτοπαραγωγής. Γι' αυτό, δεν πρέπει να ενοχλούνται η μητέρα και τα νεογέννητα κατά την πρώτη εβδομάδα μετά τον τοκετό.

17.4. ΕΚΤΡΟΦΗ

Τα χάμστερ είναι μοναχικά, νυκτόβια τρωκτικά. Στεγάζονται κατά κανόνα ατομικά. Τα κλουβιά τους είναι παρόμοια με εκείνα που χρησιμοποιούνται για τους μυς και τους επίμυς. Οι διαστάσεις τους αναφέρονται στον Πίνακα 5.2. Το δάπεδο προτιμάται να είναι συμπαγές, με στρωμένη. Η θερμοκρασία περιβάλλοντος πρέπει να είναι 20-24 °C, η σχετική υγρασία 50-60 % και ο αέρας να ανανεώνεται 10-15 φορές την ώρα. Η φωτοπερίοδος ρυθμίζεται στις 12-14 ώρες. Αν τα χάμστερ ενοχληθούν κατά την περίοδο της ημέρας, π.χ. όταν ξεκουράζονται, μπορεί να εκδηλώσουν επιθετική διάθεση και να προσπαθήσουν να δαγκώσουν.

Η τροφή χορηγείται σε μορφή συμπύκτων. Όταν στεγάζονται νεαρά χάμστερ, τα οποία αρχίζουν να καταναλώνουν στερεά τροφή από την ηλικία των 7-10 ημερών, συστήνεται η τοποθέτησή της στο δάπεδο του κλουβιού, προκειμένου να τη φτάνουν. Μέρμινα θα πρέπει να λαμβάνεται και για την παροχή νερού, με τοποθέτηση ποτίστρας με μακρύτερο στόμιο.

Τα χάμστερ εκδηλώνουν, όπως όλα τα τρωκτικά, το φαινόμενο της κοπροφαγίας. Ειδικότερα, τα νεαρά χάμστερ καταναλώνουν κόπρανα απευθείας από τον πρωκτό της μητέρας τους.

17.5. ΣΥΛΛΗΨΗ – ΣΥΓΚΡΑΤΗΣΗ

Προτού επιχειρήσουμε να συλλάβουμε ένα χάμστερ, θα πρέπει οπωσδήποτε να το ξυπνήσουμε αν κοιμάται. Αυτό μπορεί να γίνει κουνώντας ελαφρά το κλουβί. Τοποθετούμε στη συνέχεια το ένα χέρι μας κάτω από το ζώο και το άλλο από πάνω του ή στο πλάι και συμπλησιάζουμε τα χέρια μας χωρίς να το πιέζουμε (Εικόνα 17.2). Έτσι μπορούμε να το μεταφέρουμε σε μικρή απόσταση. Εναλλακτικά, μπορούμε να το οδηγήσουμε εντός ενός κυλίνδρου (πλαστικού ή χάρτινου) κατά παρόμοιο τρόπο με εκείνον που έχει περιγραφεί για τον μυ.



Εικόνα 17.2 Σύλληψη του χάμστερ.

Για τη συγκράτηση του χάμστερ, συλλαμβάνουμε πτυχή του δέρματος του τραχήλου μεταξύ του δείκτη και του αντίχειρά μας. Στη συνέχεια, με τα υπόλοιπα δάκτυλά μας συλλαμβάνουμε το δέρμα της ράχης (Εικόνα 17.3).



Εικόνα 17.3 Συγκράτηση του χάμστερ από πτυχή του δέρματος του τραχήλου και της ράχης (Silverman, 2012).

17.6. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΟΥΣΙΩΝ

Ισχύει ό,τι αναφέρθηκε για τον μυ.

17.7. ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ

Αιμοληψία στο χάμστερ μπορεί να πραγματοποιηθεί με τεχνικές που έχουν περιγραφεί για τον μυ, με α) παρακέντηση της έξω σαφηνούς φλέβας, μετά από συγκράτηση του ζώου από πτυχή του δέρματος του τραχήλου και της ράχης ή με την εισαγωγή του εντός κατάλληλα τροποποιημένου σωλήνα Falcon (μέθοδος προτίμησης), β) παρακέντηση των αγγείων του οφθαλμικού κόγχου υπό γενική αναισθησία (για ζώα στα οποία δεν επιθυμείται η επιβίωσή τους) ή γ) καρδιακή παρακέντηση, υπό γενική αναισθησία, διαμέσου του αριστερού θωρακικού τοιχώματος (η τεχνική μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνο για μία φορά σε ζώα στα οποία επιθυμείται η επιβίωσή τους και θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η σοβαρή πιθανότητα πρόκλησης αιμοπερικαρδίου ή αιμοθώρακα) (Anonymous, 2022).

17.8. ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ

Ισχύουν σε γενικές γραμμές όσα αναφέρθηκαν για τον μυ. Οι ουσίες για προνάρκωση και τα αναισθητικά που χρησιμοποιούνται στο χάμστερ παρουσιάζονται στους Πίνακες 14.2 και 14.3.

17.9. ΕΥΘΑΝΑΣΙΑ

Ισχύουν όσα αναφέρθηκαν για τον μυ.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Anonymous (2022). Blood sampling: Hamster. National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research. <https://www.nc3rs.org.uk/3rs-resources/blood-sampling/blood-sampling-hamster>
- Heatley, J.J., & Harris, M.C. (2009). Hamsters and Gerbils. In M.A. Mitchell, & T.N. Tully (Eds.), *Manual of Exotic Pet Practice* (pp. 406-432). Elsevier. ISBN: 978-1-4160-0119-5
- Silverman, J. Biomedical research techniques (2012). In M.A. Suckow, K.A. Stevens, & R.P. Wilson (Eds.), *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster and other rodents* (pp. 779-795). American College of Laboratory Animal Medicine, Academic Press. ISBN: 9780123809209
- Van Hoosier, G.L., & Ladiges Jr., W.C. (1984). Biology and diseases of hamsters. Syrian and Chinese Hamsters. In J.G. Fox, G.J. Cohen, & F.M. Loew (Eds.). *Laboratory Animal Medicine* (pp.124-143). Academic Press. ISBN 978-0-12-263620-2

Κεφάλαιο 18

Σύνοψη

Στο κεφάλαιο αυτό γίνεται αναφορά σε στοιχεία ανατομίας, φυσιολογίας και βιολογίας του ινδικού χοιριδίου. Περιγράφονται οι συνθήκες εκτροφής και οι μέθοδοι σύλληψης, συγκράτησης, χορήγησης ουσιών, αιμοληψίας, αναισθησίας και ευθανασίας.

Προαπαιτούμενη γνώση

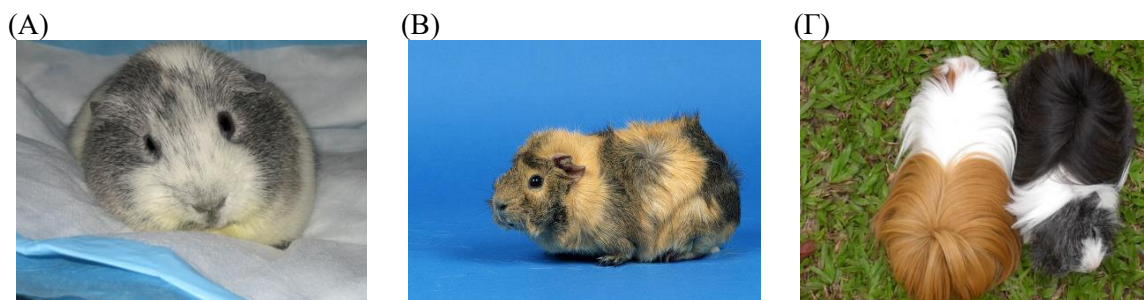
Είναι χρήσιμη η γνώση που έχει αποκομισθεί από το Γενικό Μέρος του συγγράμματος επί των συνθηκών εκτροφής και των μεθόδων σύλληψης, συγκράτησης, χορήγησης ουσιών, αιμοληψίας, αναισθησίας και ευθανασίας.

18 ΙΝΔΙΚΟ ΧΟΙΡΙΔΙΟ (GUINEA PIG)

18.1. ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ – ΦΥΛΕΣ – ΧΡΗΣΕΙΣ

Το ινδικό χοιρίδιο (*Cavia porcellus*) κατάγεται από τις Άνδεις της Νότιας Αμερικής. Οι Ινδιάνοι το εξημέρωσαν, με σκοπό την εκτροφή του για παραγωγή κρέατος. Τον 16ο αιώνα, οι Ισπανοί το μετέφεραν για πρώτη φορά στην Ευρώπη.

Τα ινδικά χοιρίδια, ανάλογα με τον τύπο του τριχώματός τους, χωρίζονται σε τρεις φυλές: την Αγγλική (κοντό τρίχωμα), της Αβησσυνίας (τραχύ τρίχωμα) και την Περουβιανή (μακρύ τρίχωμα) (Εικόνα 18.1). Η πιο διαδεδομένη είναι η Αγγλική. Οι αμιγείς φυλές είναι ελάχιστες.



Εικόνα 18.1 Φυλές ινδικών χοιριδίων: (Α) Αγγλική, (Β) Αβησσυνίας, (Γ) Περουβιανή.

Το ινδικό χοιρίδιο χρησιμοποιείται σε ποσοστό 2-3% επί του συνόλου των ζώων εργαστηρίου σε έρευνες που αφορούν την παραγωγή και τον έλεγχο ορών, εμβολίων και άλλων βιολογικών προϊόντων. Επίσης, η ευπάθειά του σε μολυσματικές νόσους, όπως η φυματίωση, η διφθερίτιδα, η λεπτοσπείρωση, η βρουκέλλωση κ.λπ., το καθιστά σημαντικό διαγνωστικό μέσο. Ακόμη, αποτελεί χρήσιμο ζωικό πρότυπο για μελέτες που αφορούν την Ανοσολογία, την Ωτολογία, τη διατροφή σε σχέση με τη βιταμίνη C, το φολικό οξύ, τη θειαμίνη, την αργινίνη και το ασβέστιο.

18.2. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ

Το ινδικό χοιρίδιο είναι πρᾶο ζῶο και σπάνια εκδηλώνει εχθρική διάθεση. Έχει σωματικό βάρος 700-1.200 g και διάρκεια ζωής 5-7 έτη. Η θερμοκρασία του σώματός του είναι 38-40 °C, ο καρδιακός ρυθμός 230-320 παλμοί/min και ο αναπνευστικός ρυθμός 42-104 αναπνοές/min (Clemons and Seeman, 2018).

Ο καθορισμός του φύλου μπορεί να γίνει με προβολή του πέους του αρσενικού ασκόντας ήπια πίεση στην κοιλιά, προσθίως της πτυχής του έξω γεννητικού οργάνου. Ο κόλπος στα θηλυκά που δεν βρίσκονται σε οίστρο και δεν έχουν γεννήσει φράσσεται από μια μεμβράνη.

Τα ινδικά χοιρίδια είναι δραστήρια για περίπου 20 ώρες την ημέρα. Οι περίοδοι ύπνου είναι ασταθείς και διαρκούν περίπου 10 min. Πανικοβάλλονται εύκολα σε έκθεση σε εξωγενή ερεθίσματα, π.χ. απότομους, παράξενους θορύβους, οπότε βγάζουν οξείες κραυγές και τρέχουν σε κύκλους. Όπως και άλλα είδη τρωκτικών, εκδηλώνουν φυσιολογικά το φαινόμενο της κοπροφαγίας, εκτός από τις περιπτώσεις κατά τις οποίες είναι παχύσαρκα ή έγκυα.

18.3. ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ

Το ινδικό χοιρίδιο ενηβώνεται σε ηλικία 6 εβδομάδων το θηλυκό και 10 εβδομάδων το αρσενικό, ενώ χρησιμοποιείται για αναπαραγωγή σε ηλικία 9-10 εβδομάδων. Είναι πολυοιστρικό ζώο. Ο ωοθηκικός κύκλος του διαρκεί 15-19 ημέρες. Κατά τον οίστρο, που διαρκεί 6-11 ώρες, η μεμβράνη του κόλλου είναι ανοικτή και παραμένει ανοικτή έως και 2 ημέρες μετά την ωοθυλακιορρηξία. Η τελευταία συμβαίνει περίπου 10 ώρες μετά την έναρξη του οίστρου. Το θηλυκό σε οίστρο προσπαθεί να επιβεί άλλα ζώα του ίδιου κλουβιού, ενώ όταν προσεγγίζεται από αρσενικό λαμβάνει στάση λόρδωσης και ουρεί.

Για την αναπαραγωγή, εφαρμόζονται τόσο το μονογαμικό όσο και το πολυγαμικό σύστημα. Στο μονογαμικό σύστημα, το ζευγάρι συστεγάζεται καθ' όλη τη διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου. Είναι συχνή η σύζευξη μετά τον τοκετό. Με την εφαρμογή αυτού του συστήματος, γεννιούνται συνήθως 5 νεογέννητα ανά θηλυκό σε διάστημα ενός έτους. Στο πολυγαμικό σύστημα, συστεγάζεται ένα αρσενικό με 8-10 θηλυκά. Συνηθίζεται τα έγκυα ζώα να στεγάζονται χωριστά, έως και μερικές εβδομάδες μετά τον τοκετό. Η επίβαση μπορεί να επιβεβαιωθεί από την παρουσία ζελατινώδους βύσματος στον κόλλο. Τα θηλυκά θα πρέπει να γεννούν πριν από την ηλικία των 6 μηνών, διαφορετικά η ηβική σύμφυση της πύελου ασβεστοποιείται και εμποδίζει τον τοκετό. Μετά από αυτό το χρονικό όριο, είναι απαραίτητη η εκτέλεση καισαρικής τομής για τη λήψη των νεογνών (Riggs, 2009).

Η διάρκεια της εγκυμοσύνης είναι 58-75 ημέρες και είναι σημαντικά μεγαλύτερη από εκείνη των υπόλοιπων τρωκτικών, ενώ είναι τόσο μεγαλύτερη όσα περισσότερα έμβρυα κυοφορούνται. Σε κάθε τοκετό γεννιούνται 2-5 νεογέννητα βάρους 90-120 g το καθένα. Τα νεογέννητα είναι καλά αναπτυγμένα κατά τη γέννησή τους. Έχουν πλήρες τρίχωμα, τα μάτια και τα αυτιά τους είναι ανοικτά και μπορούν να περπατήσουν σχεδόν αμέσως. Λίγες ώρες μετά τη γέννησή τους, μπορούν να καταναλώσουν στερεά τροφή. Η γαλουχία διαρκεί 14-28 ημέρες και μπορεί να γίνει και από θετές μητέρες (Clemons and Seeman, 2018).

18.4. ΕΚΤΡΟΦΗ

18.4.1. Συνθήκες περιβάλλοντος

Τα ινδικά χοιρίδια είναι αγελαία ζώα και γι' αυτό στεγάζονται ομαδικά. Τα κλουβιά τους είναι από διαφανές πλαστικό, με δάπεδο σχαρωτό ή κατά προτίμηση συμπαγές, με στρωμένη. Δεδομένου ότι τα ινδικά χοιρίδια δεν σκαρφαλώνουν, μπορούν να στεγαστούν ακόμη και σε διαμερίσματα χωρίς σκέπασμα, αρκεί το ύψος των τοίχων να είναι τουλάχιστον 23 cm (Εικόνα 18.2). Εντός των κλουβιών παρέχονται προστατευμένα καταλύματα για ανάπαυση, διασφάλιση αισθήματος ασφάλειας και ανάπτυξη κοινωνικής δραστηριότητας. Επίσης, για την αποφυγή της υπερανάπτυξης των κοπτήρων οδόντων, οι οποίοι αναπτύσσονται καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους, συστήνεται η τοποθέτηση εντός των κλουβιών σκληρών τεμαχίων ξύλου, τα οποία δαγκώνουν, ή/και η χρήση σκληρών συμπήκτων (pellets) τροφής. Οι διαστάσεις των κλουβιών αναφέρονται στον Πίνακα 5.2.



Εικόνα 18.2 Στέγαση ινδικών χοιριδίων σε διαμερίσματα χωρίς σκέπασμα (Anonymous, 2022).

Τα ινδικά χοιρίδια δεν ανέχονται περιβάλλον με υψηλή θερμοκρασία (>38 °C) και υψηλή σχετική υγρασία (>70%). Τέτοιες συνθήκες μπορούν να οδηγήσουν έγκυα ζώα σε αποβολή. Είναι επίσης πολύ ευαίσθητα σε διακυμάνσεις της θερμοκρασίας και σε ρεύματα αέρα. Συστήνονται θερμοκρασία περιβάλλοντος 18-26 °C, σχετική υγρασία 30-70%, 10-15 ανανεώσεις αέρα την ώρα και φωτοπερίοδος 12-14 ωρών (Clemons and Seeman, 2018).

18.4.2. Διατροφή

Το ινδικό χοιρίδιο είναι χορτοφάγο ζώο. Έχει πολύ καλή όρεξη και τρώει τακτικά τόσο κατά τη διάρκεια της ημέρας όσο και κατά τη διάρκεια της νύκτας. Η ποσότητα της τροφής που καταναλώνει καθημερινά είναι περίπου 5 g / 100 g ΣΒ. Λόγω αδυναμίας παραγωγής βιταμίνης C από τον οργανισμό του, αυτή θα πρέπει να του χορηγείται συμπληρωματικά είτε ενσωματωμένη στην τροφή είτε διαλυμένη στο πόσιμο νερό (220 mg/L). Σημειώνεται ότι το νερό δεν θα πρέπει να έχει υποστεί χλωρίωση, επειδή έτσι αδρανοποιείται η βιταμίνη. Ωστόσο, επειδή τόσο η συγκέντρωση βιταμίνης C που περιέχεται στην τυποποιημένη τροφή όσο και αυτή που προστίθεται στο νερό μειώνεται ταχέως, θα πρέπει να του παρέχονται συμπληρωματικά και άλλες φυσικές πηγές βιταμίνης C, όπως φρέσκα πράσινα χόρτα, λαχανικά, καρότα, δημητριακά, ξηροί καρποί και γάλα. Οι ημερήσιες ανάγκες σε βιταμίνη C για ένα ενήλικο ζώο είναι 10 mg / kg ΣΒ. Επιπλέον, στο διαιτολόγιό του θα πρέπει να περιλαμβάνεται και σανός υψηλής ποιότητας, όπως π.χ. βρόμης. Η σύνθεση της ξηρής τροφής συστήνεται να περιλαμβάνει 20% πρωτεΐνη φυτικής προέλευσης και 10-18% κυτταρίνες (Riggs, 2009).

Θα πρέπει να βρίσκεται στη διάθεση του ζώου πάντα φρέσκο νερό. Καθημερινά καταναλώνει 10 mL νερό / 100 g ΣΒ. Για τη μείωση του αριθμού των μικροοργανισμών, προστίθεται στο νερό τόση ποσότητα υδροχλωρίου ή θεικού οξέος ώστε να μειωθεί το pH του στο 2,5.

18.5. ΣΥΛΛΗΨΗ – ΣΥΓΚΡΑΤΗΣΗ

Το ινδικό χοιρίδιο είναι νευρικό ζώο και στην προσπάθεια σύλληψής του θα προσπαθήσει να διαφύγει. Ωστόσο, πολύ σπάνια επιχειρεί να δαγκώσει. Το πλησιάζουμε πάντα από εμπρός και με τα δύο χέρια. Στη συνέχεια, το συλλαμβάνουμε τοποθετώντας το ένα χέρι μας κάτω από τον θώρακά του και το ανασηκώνουμε, ενώ με το άλλο χέρι στηρίζουμε τους γλουτούς του (Εικόνα 18.3). Το ζώο ηρεμεί αν τοποθετήσουμε τον αντίχειρα και τον δείκτη μας κάτω από το σαγόني του. Για μια απλή κλινική εξέταση, μπορεί να τοποθετηθεί σε σταθερή επιφάνεια και να αποτραπεί η οπισθοχώρησή του με τοποθέτηση του χεριού μας πίσω από τους γλουτούς του. Μια άλλη μέθοδος συγκράτησής του είναι με περιτύλιξή του σε πετσέτα.



Εικόνα 18.3 Συγκράτηση του ινδικού χοιριδίου (Hogan, 2022).

18.6. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΟΥΣΙΩΝ

18.6.1. Χορήγηση από το στόμα

Η χορήγηση υγρών ουσιών από το στόμα μπορεί να γίνει με την προσθήκη τους στο πόσιμο νερό, με σύριγγα απευθείας στο στόμα ή μετά από εισαγωγή στοματογαστρικού καθετήρα είτε μεταλλικού (16-18 G) είτε από πολυαιθυλένιο (3-4 G). Το ζώο τοποθετείται σε σταθερή επιφάνεια και η κεφαλή στρέφεται ελαφρώς προς τα επάνω, προκειμένου να εισαχθεί ο καθετήρας (Εικόνα 18.4). Μπορεί να χρησιμοποιηθεί και πλαστικός στοματοδιαστολέας.



Εικόνα 18.4 Εισαγωγή μεταλλικού στοματογαστρικού καθετήρα στο ινδικό χοιρίδιο (Clemons and Seeman, 2018).

18.6.2. Υποδόρια έγχυση

Εκτελείται κάτω από το δέρμα του τραχήλου, της ράχης (Εικόνα 18.5) ή των πλάγιων κοιλιακών τοιχωμάτων. Το ζώο τοποθετείται σε σταθερή επιφάνεια. Σημειώνεται ότι το δέρμα του ινδικού χοιριδίου είναι παχύτερο από εκείνο των άλλων τρωκτικών. Χρησιμοποιείται κοντή βελόνα (1-2 cm) 22-30 G.



Εικόνα 18.5 Υποδόρια έγχυση στο ινδικό χοιρίδιο (Clemons and Seeman, 2018).

18.6.3. Ενδοδερμική έγχυση

Εκτελείται στο δέρμα της ράχης, συνήθως σε αναισθητοποιημένα ζώα, αφού προηγουμένως έχει ξυριστεί και γίνει αντισηψία της περιοχής.

18.6.4. Ενδομυϊκή έγχυση

Εκτελείται στο πρόσθιο ή οπίσθιο τμήμα του μηρού (Εικόνα 18.6). Για συγκράτηση, το ζώο τοποθετείται σε σταθερή επιφάνεια και ακινητοποιείται το οπίσθιο άκρο, στο οποίο θα γίνει η έγχυση.



Εικόνα 18.6 Ενδομυϊκή έγχυση στο ινδικό χοιρίδιο (Clemons and Seeman, 2018).

18.6.5. Ενδοφλέβια έγχυση

Το ινδικό χοιρίδιο έχει λίγες επιφανειακές φλέβες, ενώ αυτές στις οποίες υπάρχει πρόσβαση, δηλαδή οι φλέβες του πτερυγίου του ωτός, οι πλάγιες πελματιαίες και οι πεικές, είναι μικρές και εύκολα ρήγνυνται. Τα παραπάνω καθιστούν την ενδοφλέβια έγχυση δύσκολη σε αυτά τα αγγεία.

Σε μεγάλωσυμα ινδικά χοιρίδια μπορούν να χρησιμοποιηθούν οι φλέβες του πτερυγίου του ωτός, μετά από προθέρμανση του ζώου. Το ζώο συγκρατείται από έναν βοηθό ή με τοποθέτησή του σε κατάλληλη συσκευή συγκράτησης. Ο χειριστής, κρατώντας σταθερά το πτερύγιο, εισάγει με προσοχή τη βελόνα (25-26 G) της σύριγγας στη φλέβα, σχεδόν παράλληλα προς το πτερύγιο.

Επιπλέον, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για έγχυση η πρόσθια κοίλη φλέβα σε αναισθητοποιημένα ζώα και οι έσω ή έξω σαφηνείς φλέβες σε μη αναισθητοποιημένα ζώα, με τεχνικές παρόμοιες με αυτές που περιγράφονται για την αιμοληψία από τα ίδια αγγεία. Για επαναλαμβανόμενες ενδοφλέβιες εγχύσεις, μπορούν να καθετηριαστούν η σφαγίτιδα, η καρωτίδα ή η αορτή.

18.6.6. Ενδοπεριτοναϊκή έγχυση

Η ενδοπεριτοναϊκή έγχυση είναι χρήσιμη για χορήγηση μεγάλων όγκων (10-15 mL). Το ζώο συγκρατείται όπως περιγράφηκε παραπάνω και η έγχυση εκτελείται κατά προτίμηση στο δεξιό οπίσθιο τεταρτημόριο της κοιλίας (Εικόνα 18.7).



Εικόνα 18.7 Ενδοπεριτοναϊκή έγχυση στο ινδικό χοιρίδιο (Clemons and Seeman, 2018).

Στον Πίνακα 18.1 παρουσιάζονται οι μέγιστοι συνιστώμενοι όγκοι υγρών και οι διάμετροι των βελονών που χρησιμοποιούνται, ανάλογα με την οδό έγχυσης μιας ουσίας.

Πίνακας 18.1. Σημεία έγχυσης, μέγιστοι χορηγούμενοι όγκοι και διάμετροι βελόνας, για έγχυση ουσιών στο ινδικό χοιρίδιο.

Οδός χορήγησης	Σημείο έγχυσης	Μέγιστος χορηγούμενος όγκος	Διάμετρος βελόνας
Υποδόρια	πλάγια κοιλιακά τοιχώματα, τράχηλος	5-10 mL (max 4 εγχύσεις)	23-25 G
Ενδοδερμική	ράχη	<0,05 mL	22-30 G
Ενδομυϊκή	μύες πρόσθιου ή οπίσθιου τμήματος του μηρού	0,3 mL	22-30 G
Ενδοφλέβια	φλέβες πτερυγίου του ωτός, πλάγιες πελματιαίες φλέβες, πειϊκές φλέβες, πρόσθια κοίλη φλέβα, έσω ή έξω σαφηνής φλέβα	0,5 mL	25-27 G
Ενδοπεριτοναϊκή	δεξιό ή αριστερό οπίσθιο τεταρτημόριο της κοιλίας	10-15 mL	21-25 G

18.7. ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ

18.7.1. Τεχνικές αιμοληψίας σε ζώα στα οποία επιθυμείται η επιβίωσή τους

18.7.1.1. Από τις φλέβες του πτερυγίου του ωτός

Οι φλέβες του πτερυγίου του ωτός στο ινδικό χοιρίδιο είναι μικρές (Εικόνα 18.8) και μόνο μικρή ποσότητα αίματος (0,1 mL) μπορεί να ληφθεί, μετά από παρακέντηση ή νύξη τους σε μη αναισθητοποιημένα ζώα (Birck, 2014).



Εικόνα 18.8 Φλέβες του πτερυγίου του ωτός στο ινδικό χοιρίδιο (Birck, 2014).

18.7.1.2. Νύξη της έξω σαφηνούς φλέβας

Με νύξη της έξω σαφηνούς φλέβας, μπορεί να γίνει λήψη μικρής ποσότητας αίματος σε ζώα υπό κατάλληλη συγκράτηση ή σε αναισθητοποιημένα ζώα, με τεχνική παρόμοια με εκείνη που έχει περιγραφεί για τον μυ (Anonymous, 2022a).

18.7.1.3. Παρακέντηση ταρσιαίων ή κεφαλικών φλεβών

Η παρακέντηση των ταρσιαίων και κεφαλικών φλεβών μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για λήψη μικρής ποσότητας αίματος σε μη αναισθητοποιημένα ζώα, αν και δεν θεωρούνται μέθοδοι εκλογής.

18.7.1.4. Παρακέντηση πρόσθιας κοίλης φλέβας

Λήψη μεγαλύτερων ποσοτήτων αίματος εκτελείται με παρακέντηση της πρόσθιας κοίλης φλέβας σε αναισθητοποιημένα ζώα. Το ζώο τοποθετείται σε ραχιαία κατάκλιση και τα πρόσθια άκρα του έλκονται ουραίως. Το αγγείο παρακεντάται με σύριγγα που φέρει βελόνα 23 ή 25 G, υπό γωνία 30-45° πλησίον της μέσης γραμμής, προσθίως της πρώτης θωρακικής πλευράς με κατεύθυνση κεφαλο-ουραία και ελαφρά κλίση της βελόνας προς την απέναντι ωμοπλάτη (Εικόνα 18.9) (Rowland, 2020).



Εικόνα 18.9 Αιμοληψία στο ινδικό χοιρίδιο με παρακέντηση της πρόσθιας κοίλης φλέβας (Rowland, 2020).

18.7.2. Τεχνικές σε ζώα στα οποία δεν επιθυμείται η επιβίωσή τους

18.7.2.1. Καρδιακή παρακέντηση

Εκτελείται με το ζώο υπό γενική αναισθησία, σε δεξιά πλάγια κατάκλιση. Εισάγεται σύριγγα με βελόνα 21-23 G από το σημείο όπου ψηλαφείται η παλλόμενη καρδιά.

18.7.2.2. Παρακέντηση μεγάλων θωρακικών ή κοιλιακών αγγείων

Για τη λήψη μεγάλης ποσότητας αίματος, μπορούν να παρακεντηθούν η θωρακική ή κοιλιακή αορτή μετά από θωρακοτομή ή η οπίσθια κοίλη φλέβα μετά από λαπαροτομή σε ζώα που τελούν υπό γενική αναισθησία.

18.7.2.3. Μετά από αποκεφαλισμό

Σε ζώα στα οποία επιθυμείται η λήψη μεγάλης ποσότητας αίματος χωρίς την επίδραση αναισθητικών φαρμάκων ή διοξειδίου του άνθρακα μπορεί να εφαρμοστεί αφαίμαξη από κατάλληλα εκπαιδευμένο προσωπικό, μετά από αποκεφαλισμό με τη χρήση γκιλοτίνας σε ζώα τα οποία έχουν προηγουμένως υποστεί αποπληξία. Εναλλακτικά, η μέθοδος μπορεί να εφαρμοστεί σε ζώα που τελούν υπό γενική αναισθησία (Anonymous, 2022a).

18.8. ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ

Στο ινδικό χοιρίδιο εφαρμόζεται προαναισθητική στέρηση της τροφής για 6-12 ώρες, δεδομένου ότι το βάρος του γαστρεντερικού σωλήνα αντιστοιχεί στο 20-40% του σωματικού βάρους του ζώου και θα μπορούσε να γίνει λανθασμένος υπολογισμός της δόσης των αναισθητικών ουσιών.

Η ενδοφλέβια έγχυση και ο καθετηριασμός φλεβών στο ινδικό χοιρίδιο είναι δύσκολες διαδικασίες και αποφεύγονται για τη χορήγηση ενέσιμων αναισθητικών ουσιών. Εφόσον είναι διαθέσιμος ο κατάλληλος εξοπλισμός, προτιμάται η εισπνευστική αναισθησία τόσο για την εγκατάσταση όσο και για τη διατήρησή της. Για την εγκατάσταση της αναισθησίας, τοποθετείται το ζώο σε θάλαμο εγκατάστασης αναισθησίας, ενώ για τη διατήρηση αυτής χορηγείται το εισπνευστικό αναισθητικό μέσω προσωπίδας, δεδομένου ότι ανατομικές ιδιαιτερότητες του οροφάρυγγα καθιστούν ιδιαίτερα δύσκολη την ενδοτραχειακή διασωλήνωση.

Στο ινδικό χοιρίδιο παρατηρείται συχνά μια παροδική σπασμωδική κίνηση, η οποία συνήθως αρχίζει από ένα οπίσθιο άκρο και επεκτείνεται σε ολόκληρο το σώμα. Το φαινόμενο αυτό παρατηρείται κατά τη φάση εισόδου του ζώου στο στάδιο της χειρουργικής αναισθησίας και ιδιαίτερα όταν χρησιμοποιούνται εισπνευστικά αναισθητικά. Δεν θα πρέπει να εκλαμβάνεται ως ένδειξη μη ικανοποιητικής αναισθησίας, γεγονός που θα οδηγούσε στην επιπρόσθετη χορήγηση αναισθητικής ουσίας. Επίσης, κατά το στάδιο της χειρουργικής αναισθησίας, συχνά αυξάνονται οι ρινικές και οι στοματοφαρυγγικές εκκρίσεις, οι οποίες θα πρέπει να απομακρύνονται είτε με αναρρόφηση με ειδική συσκευή είτε διαμέσου λεπτού καθετήρα που συνδέεται με σύριγγα. Οι ουσίες που χρησιμοποιούνται για προνάρκωση και αναισθησία καθώς και οι δόσεις τους αναφέρονται στους Πίνακες 14.2 και 14.3.

18.9. ΕΥΘΑΝΑΣΙΑ

Από τις χημικές μεθόδους ευθανασίας, χρησιμοποιούνται η ενδοφλέβια ή ενδοπεριτοναϊκή έγχυση βαρβιτουρικών σε υπερδοσολογία (πεντοβαρβιτάλη, 150 mg/kg), η εισπνοή διοξειδίου του άνθρακα σε προοδευτικά αυξανόμενες συγκεντρώσεις και τα εισπνευστικά αναισθητικά σε υψηλή συγκέντρωση. Από τις φυσικές μεθόδους, μπορεί να εφαρμοστεί η εξάρθρωση του αυχένα και η αποπληξία σε ζώα <1 kg και ο αποκεφαλισμός με τη χρήση κατάλληλης γκιλοτίνας (Ανώνυμος, 2016, Clemons and Seeman, 2018).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Anonymous (2022). Housing and husbandry: Guinea pig. National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research. <https://www.nc3rs.org.uk/3rs-resources/housing-and-husbandry-guinea-pig>
- Anonymous (2022a). Blood sampling: Guinea pig. National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research. <https://www.nc3rs.org.uk/3rs-resources/blood-sampling/blood-sampling-guinea-pig>
- Birck, M.M., Tveden-Nyborg, P., Lindblad, M.M., & Lykkesfeldt, J. (2014). Non-terminal blood sampling techniques in guinea pigs. *Journal of Visualized Experiment*, 92, e51982. <http://doi.org/10.3791/51982>
- Clemons, D.J., & Seeman, J.L. (2018). *The laboratory guinea pig*. 2nd edition. CRC Press. ISBN-13: 978-1-138-47364-5
- Hogan, M.K. (2022). Assistant laboratory animal technician exam preparation: guinea pigs, rabbits, cats, dogs. Laboratory Animal Care and Use program and facilities. The Ohio State University. <http://ularnews.osu.edu/files/2011/02/2013-ALAT-Session-14-Chapters-22-25.pdf>
- Riggs, S.M. (2009). Guinea pigs. In M.A. Mitchell, & T.N. Tully (Eds.), *Manual of Exotic Pet Practice* (pp. 456-473). Elsevier. ISBN: 978-1-4160-0119-5
- Rowland, M. (2020). Veterinary care of guinea pigs. *Practice*, 42, 91-104. <https://doi.org/10.1136/inp.m405>
- Schmitz, S., Tacke, S., Guth, B., & Henke, J. (2016). Comparison of Physiological Parameters and Anaesthesia Specific Observations during Isoflurane, Ketamine-Xylazine or Medetomidine-Midazolam-Fentanyl Anaesthesia in Male Guinea Pigs. *PLoS One*, 11, 0161258. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0161258>
- Ανώνυμος (2016). ΥΑ 2416/83725. Τροποποίηση του Παραρτήματος IV του ΠΔ 56/2013 «Προσαρμογή της ελληνικής νομοθεσίας στην Οδηγία 2010/63/ΕΕ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 22ας Σεπτεμβρίου 2010 (L 276/33/20.10.2010) “σχετικά με την προστασία των ζώων που χρησιμοποιούνται για επιστημονικούς σκοπούς”» (Α106) (ΦΕΚ 2323 Β'/27-7-2016)

ΛΑΓΟΜΟΡΦΑ

Κεφάλαιο 19

Σύνοψη

Στο κεφάλαιο αυτό γίνεται αναφορά σε στοιχεία ανατομίας, φυσιολογίας και βιολογίας του κουνελιού. Περιγράφονται οι συνθήκες εκτροφής και οι μέθοδοι σύλληψης, συγκράτησης, χορήγησης ουσιών, αιμοληψίας, αναισθησίας και ευθανασίας.

Προαπαιτούμενη γνώση

Είναι χρήσιμη η γνώση που έχει αποκομισθεί από το Γενικό Μέρος του συγγράμματος επί των συνθηκών εκτροφής και των μεθόδων σύλληψης, συγκράτησης, χορήγησης ουσιών, αιμοληψίας, αναισθησίας και ευθανασίας.

19 ΚΟΥΝΕΛΙ (RABBIT)

19.1. ΖΩΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΤΑΤΑΞΗ

Τάξη:	Lagomorpha (Λαγόμορφα)
Οικογένεια:	Leporidae
Υποοικογένεια:	Leporinae
Γένος:	<i>Oryctolagus</i>
Είδος:	<i>Oryctolagus cuniculus</i>

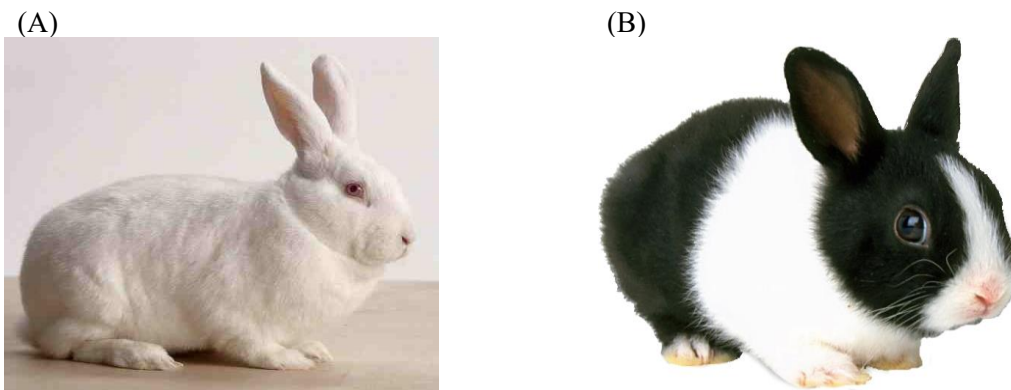
19.2. ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ – ΧΡΗΣΕΙΣ

Το κατοικίδιο κουνέλι (*Oryctolagus cuniculus*) προέρχεται από το άγριο ευρωπαϊκό κουνέλι, του οποίου ο τόπος καταγωγής πιστεύεται ότι είναι η Ιβηρική χερσόνησος, από όπου εξαπλώθηκε στις χώρες της Μεσογείου.

Τα κουνέλια ταξινομούνται με βάση το σωματικό τους βάρος σε:

1. Μικρόσωμες φυλές, με ΣΒ < 2 kg.
2. Μεσαίου μεγέθους φυλές, με ΣΒ 2-5 kg.
3. Μεγαλόσωμες φυλές, με ΣΒ > 5 kg.

Οι φυλές διαφέρουν επίσης μεταξύ τους τόσο ως προς τον τύπο του τριχώματός τους όσο και ως προς το χρώμα του. Οι φυλές που χρησιμοποιούνται συχνότερα για ερευνητικούς σκοπούς είναι η Λευκή Νέας Ζηλανδίας (New Zealand White) και η Ολλανδική (Dutch). Υπάρχει επίσης ένας περιορισμένος αριθμός αμιγών φυλών.



Εικόνα 19.1 Φυλές κουνελιών: (Α) Λευκή Νέας Ζηλανδίας, (Β) Ολλανδική.

Η συχνότητα χρησιμοποίησης του κουνελιού στην έρευνα είναι σχετικά χαμηλή (περίπου 2% στο σύνολο των πειραματοζώων) (Anonymous, 2019). Οι μελέτες αφορούν κυρίως τον έλεγχο τοξικότητας και πυρετογόνου δράσης διαφόρων ουσιών, την παραγωγή αντιορών, τη ρύθμιση βιολογικά ενεργών προϊόντων, τον έλεγχο της ερεθιστικότητας των οφθαλμών και του δέρματος και μελέτες σχετικά με την αθηροσκλήρωση.

19.3. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ

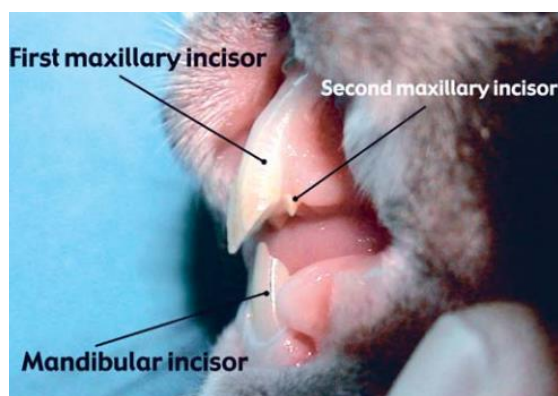
Η διάρκεια ζωής του κουνελιού είναι συνήθως 5-6 χρόνια. Η θερμοκρασία του σώματός του είναι 37,8-39,4 °C, ο καρδιακός ρυθμός του 130-325 παλμοί/min και ο αναπνευστικός ρυθμός 30-60 αναπνοές/min (Vennen and Mitchell, 2009).

Αναπνευστικό σύστημα

Το κουνέλι σε κατάσταση ηρεμίας εκτελεί κοιλιακή αναπνοή. Αναπνέει υποχρεωτικά από τη μύτη.

Πεπτικό σύστημα

Το κουνέλι, όπως και ο λαγός –που ανήκει στην ίδια τάξη (Lagomorpha)–, έχει ένα ζεύγος μικρών κοπτήρων οδόντων πίσω από τους μεγάλους κοπτήρες της άνω γνάθου (Εικόνα 19.2) (Capello, 2005). Το ανατομικό αυτό χαρακτηριστικό είναι εκείνο το οποίο κατατάσσει το κουνέλι σε διαφορετική τάξη από εκείνη των τρωκτικών. Τα δόντια στο κουνέλι αναπτύσσονται καθ' ολη τη διάρκεια της ζωής του. Έτσι, σε περίπτωση ατελούς σύγκλεισης της άνω με την κάτω γνάθο, παρατηρείται υπερανάπτυξη των δοντιών.



Εικόνα 19.2 Κοπτήρες οδόντες στο κουνέλι (Capello, 2005).

Το κουνέλι παράγει δύο τύπους κοπράνων, τα μαλακά «νυχτερινά» και τα σκληρά «ημερήσια» κόπρανα. Κατά τη διάρκεια του δεύτερου μισού της νύχτας και νωρίς το πρωί, το περιεχόμενο του τυφλού εντέρου μετακινείται σχεδόν αναλλοίωτο προς το κόλον και το απευθυσμένο με τη μορφή μικρών σφαιριδίων, τα οποία περιβάλλονται από στιβάδα βλέννας. Τα μαλακά αυτά κόπρανα, που έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε φυτικές ίνες, αλλά υψηλή σε πρωτεΐνες και βιταμίνες Β και Κ, καταναλώνονται από το ίδιο το κουνέλι απευθείας από τον πρωκτό. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται κοπροφαγία ή τυφλοτροφία.

Ουροποιητικό σύστημα

Ο χρωματισμός των ούρων του κουνελιού μπορεί να ποικίλλει, ανάλογα με τη σύνθεση της τροφής που καταναλώνει, από θολερός κίτρινος έως ερυθρωπός προς καφέ.

Δέρμα

Κάτω από το δέρμα στην περιοχή του πιγουνιού και γύρω από τον πρωκτό βρίσκονται σημηματογόνοι αδένες που παράγουν οσμηρές ουσίες (φερομόνες), με τις οποίες το κουνέλι «μαρκάρει»-οριοθετεί την περιοχή του.

Γεννητικό σύστημα

Ένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό του γεννητικού συστήματος του θηλυκού κουνελιού είναι ότι έχει διπλό τράχηλο και δύο ανεξάρτητα κέρατα μήτρας (Εικόνα 19.3).



Εικόνα 19.3 Ανατομία του γεννητικού συστήματος του θηλυκού κουνελιού:
 (1) κόλπος, (2) τράχηλοι, (3) κέρατα της μήτρας, (4) ωθήκες
 (Van Praag, 2022).

Αίμα

Τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηνια λευκοκύτταρα του αίματος περιέχουν στο κυτταρόπλασμά τους πολλά εωσινοφιλικά σωματίδια (ψευδο-εωσινοφιλικά λευκοκύτταρα).

19.4. ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ

Τα θηλυκά κουνέλια εκδηλώνουν επιθυμία για σύζευξη από την ηλικία των 2,5-3 μηνών, ενώ χρησιμοποιούνται για αναπαραγωγή από την ηλικία των 3,5-5 μηνών, ανάλογα με την πρωιμότητα της φυλής και το σωματικό βάρος τους. Η πρώτη σύζευξη γίνεται όταν το ΣΒ του νεαρού θηλυκού φτάσει το 75% του ΣΒ του ενηλίκου. Τα θηλυκά απομακρύνονται συνήθως από την αναπαραγωγή σε ηλικία 12-22 μηνών.

Τα αρσενικά κουνέλια παρουσιάζουν διάθεση για επίβαση από την ηλικία των 4,5-5 μηνών, αλλά χρησιμοποιούνται για αναπαραγωγή συνήθως στην ηλικία των 6 μηνών. Η διάρκεια της αναπαραγωγικής τους δραστηριότητας είναι 2-3 χρόνια. Ο ρυθμός χρησιμοποίησής τους για αναπαραγωγή είναι ανάλογος με την ηλικία τους (Πίνακας 19.1) (Σφαιρόπουλος, 1991).

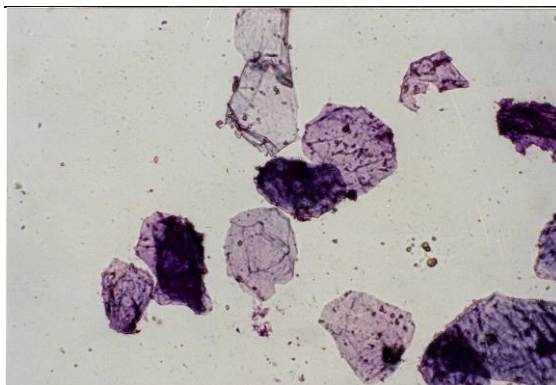
Πίνακας 19.1 Ρυθμός χρησιμοποίησης αρσενικών κουνελιών στην αναπαραγωγή.

Ηλικία (μήνες)	Συχνότητα επιβάσεων (φορές/εβδομάδα)
4,5-5	1
5-6	2-3
>6	3-5

Το κουνέλι παρουσιάζει αναπαραγωγική δραστηριότητα καθ'ολη όλη τη διάρκεια του έτους (πολυοιστρικό ζώο). Ωστόσο, κατά την περίοδο του φθινοπώρου και του χειμώνα, οπότε μειώνεται η διάρκεια του ημερήσιου φωτός (φωτοπερίοδος), μειώνεται αντίστοιχα και η δραστηριότητα των ωθηκών. Η κατάσταση αυτή αντιμετωπίζεται με διατήρηση της φωτοπεριόδου στις 14-16 ώρες, με την έκθεση των ζώων σε τεχνητό φωτισμό (Σφαιρόπουλος, 1991).

Παρόλο που ο ωθητικός κύκλος του κουνελιού δεν είναι σαφής, παρατηρούνται περίοδοι κατά τις οποίες το θηλυκό δέχεται, και άλλες κατά τις οποίες δεν δέχεται την επίβαση από το αρσενικό. Τα στάδια του ωθητικού κύκλου του κουνελιού είναι δυνατό να καθοριστούν με τη μέθοδο της κυτταρολογικής εξέτασης κολλικών επιχρισμάτων (ΚΕΚΕ) (Υψηλάντης και συν., 1996) (Εικόνα 19.4). Η ωοθυλακιόρρηξια στο κουνέλι γίνεται μόνο εφόσον προηγηθεί σύζευξη και συγκεκριμένα 10-12 ώρες μετά από αυτήν (αντανακλαστική ωοθυλακιόρρηξια) (Patton, 1994). Έτσι, μετά τη σύζευξη, παρατηρείται απότομη αύξηση της έκκρισης από την υπόφυση της ωχρινοποιητικής ορμόνης (LH), η οποία ευθύνεται για την πρόκληση της ωοθυλακιόρρηξιας. Ωοθυλακιόρρηξια είναι δυνατό επίσης να προκληθεί με έγχυση LH ή GnRH αναλόγων. Η παραπάνω μέθοδος βρίσκει εφαρμογή στην περίπτωση ορμονικής προετοιμασίας ζώων για τεχνητή

σπερματέγχυση καθώς και σε έρευνες που αφορούν θέματα αναπαραγωγής, όπως η ωρίμανση των ωοθυλακίων, η γονιμοποίηση, η διαίρεση του γονιμοποιημένου ωαρίου και η κατασκήνωση της βλαστοκύστης.



Εικόνα 19.4 Κυτταρολογική εξέταση κολπικού επιχρίσματος κουνελιού στο στάδιο του οίστρου. Διακρίνονται τα χαρακτηριστικά κερατινοποιημένα επιθηλιακά κύτταρα. Χρώση Giemsa. Μεγέθυνση $\times 400$.

Όταν πρόκειται να πραγματοποιηθεί σύζευξη, οδηγείται το θηλυκό στο κλουβί του αρσενικού, όπου παραμένει συνήθως για 15-20 min. Αν το θηλυκό δεν δεχτεί επίβαση ή μαλώσει με το αρσενικό, οδηγείται είτε σε άλλο αρσενικό είτε στο ίδιο μετά από 1-2 ημέρες. Τεχνητές μέθοδοι αναπαραγωγής των κουνελιών περιλαμβάνουν τη διενέργεια τεχνητής σπερματέγχυσης με νωπό ή συντηρημένο υπό ψύξη ή κατάψυξη σπέρμα γεννητόρων υψηλών αποδόσεων (Σαμουηλίδης και συν., 1996, Υψηλάντης και συν., 1998).

Σε περίπτωση που η ωοθυλακιορρηξία συνδυαστεί με γονιμοποίηση των ωαρίων, ακολουθεί εγκυμοσύνη διάρκειας 30-32 ημερών. Σε αντίθετη περίπτωση, ακολουθεί ψευδοκύηση που διαρκεί 16-18 ημέρες. Η εγκυμοσύνη είναι δυνατό να διαγνωστεί 10-14 ημέρες μετά τη σύζευξη, με ψηλάφηση της μήτρας διαμέσου των κοιλιακών τοιχωμάτων. Ωστόσο, με τη βοήθεια της μεθόδου της υπερηχοτομογραφίας, είναι δυνατή η διάγνωση της εγκυμοσύνης από την 8η με 9η ημέρα (Ypsilantis and Saratsis, 1999) (Εικόνα 19.5)



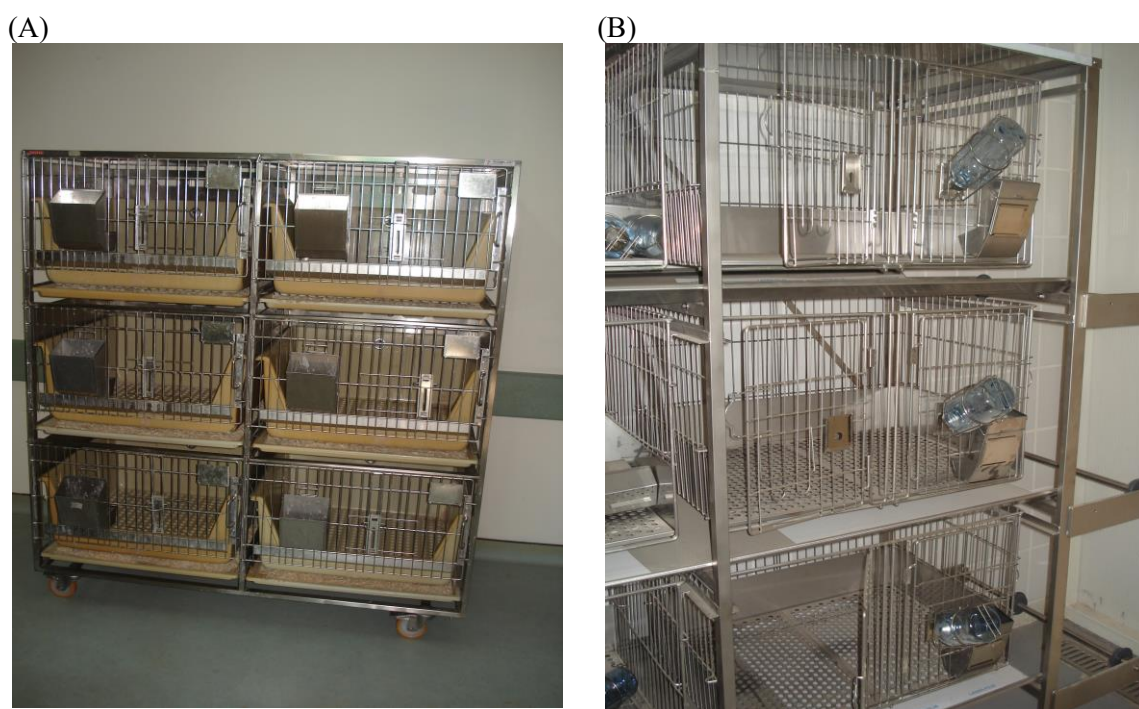
Εικόνα 19.5 Υπερηχογράφημα μήτρας κουνελιού την 9η ημέρα της εγκυμοσύνης. Επιμήκης τομή κέρατος μήτρας. Τα βέλη δείχνουν 3 εμβρυϊκούς σάκους. Συχνότητα ηχοβόλου κεφαλής 5 MHz (Ypsilantis and Saratsis, 1999).

Λίγες ημέρες πριν από τον τοκετό, το θηλυκό κουνέλι μαδάει το τρίχωμα της κοιλιακής χώρας. Με αυτόν τον τρόπο, αποκαλύπτει τις θηλές των μαστών του (4 ζεύγη), προκειμένου να γαλουχήσει τα νεογέννητά του, και παράλληλα χρησιμοποιεί το τρίχωμα για την κατασκευή φωλιάς. Κατά την τελευταία εβδομάδα της εγκυμοσύνης, θα πρέπει να του παρέχεται επιπλέον χώρος (π.χ. ειδική κατασκευή η οποία προσαρτάται στο κλουβί) και βοηθητικά υλικά (π.χ. άχυρο) για τη δημιουργία φωλιάς. Σε κάθε τοκετό γεννιούνται συνήθως 6-8 νεογέννητα με ΣΒ 40-80 g. Τα νεογέννητα είναι αρχικά άτριχα, ενώ εντός των επόμενων ημερών της ζωής τους αναπτύσσεται τρίχωμα. Στη φωλιά τους παραμένουν για 3 περίπου εβδομάδες. Κατά τις πρώτες ημέρες,

θηλάζουν 1-2 φορές την ημέρα για 4-5 min. Ο χρόνος αυτός, αν και μικρός, είναι επαρκής, δεδομένου ότι το γάλα του κουνελιού είναι εξαιρετικά συμπυκνωμένο (13% λίπη και 10% πρωτεΐνες). Η γαλουχία διαρκεί 3,5-4,5 εβδομάδες. Στην περίπτωση θανάτου της μητέρας, αγαλαξίας, υπεράριθμης τοκετομάδας κ.λπ, τα νεογέννητα είναι δυνατό να «υιοθετηθούν» για γαλουχία από άλλη μητέρα. Για να συμβεί αυτό, θα πρέπει να έχουν ηλικία μικρότερη των 2 εβδομάδων, ενώ τα μικρά της ομάδας νεογέννητων στην οποία θα ενταχθούν πρέπει να έχουν ηλικία μικρότερη των 3 ημερών. Επίσης, η οσμή της φωλιάς τους θα πρέπει να καλύπτεται με ψεκάσμο τόσο των νεογέννητων όσο και της μύτης της θετής μητέρας με κάποιο άρωμα ή με τρίψιμό τους με το τρίχωμα της νέας μητέρας. Η θνησιμότητα των νεογέννητων αυτών είναι υψηλή.

19.5. ΕΚΤΡΟΦΗ

Τα κλουβιά των κουνελιών μπορεί να είναι πλαστικά ή μεταλλικά, από ανοξείδωτο χάλυβα ή γαλβανισμένο μέταλλο, με λείες επιφάνειες (Εικόνα 19.6). Το δάπεδο μπορεί να είναι σχαρωτό ή συμπαγές. Προτιμάται ο πρώτος τύπος για λόγους υγιεινής, αφού επιτρέπει την εύκολη αποχέτευση των ούρων και των κοπράνων κάτω από το κλουβί του ζώου. Οι διαστάσεις των κλουβιών αναφέρονται στον Πίνακα 5.2.



Εικόνα 19.6 Συστοιχία (Α) πλαστικών και (Β) μεταλλικών κλουβιών κουνελιών.

Τα αρσενικά διαχωρίζονται μετά τον απογαλακτισμό τους, ενώ τα θηλυκά μετά την ενήβωσή τους (ηλικία περίπου 12 εβδομάδων). Έτσι, αποφεύγονται οι διαμάχες μεταξύ τους καθώς και η εκδήλωση του φαινομένου της ψευδοκύησης στα θηλυκά.

19.5.1. Συνθήκες περιβάλλοντος

Η θερμοκρασία περιβάλλοντος θα πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ 15 και 21 °C. Ειδικότερα, τα νεογέννητα, των οποίων το θερμορρυθμιστικό σύστημα δεν λειτουργεί σωστά μέχρι την ηλικία των 7 ημερών, θα πρέπει να διατηρούνται σε ζεστό περιβάλλον. Η σχετική υγρασία κυμαίνεται μεταξύ 40 και 60%. Γενικά, η υψηλή θερμοκρασία περιβάλλοντος σε συνδυασμό με υψηλή σχετική υγρασία μειώνει τη γονιμότητα και αυξάνει τη θνησιμότητα. Η φωτοπερίοδος είναι μια σημαντική παράμετρος που θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη, προκειμένου να εκδηλώνεται φυσιολογική αναπαραγωγική δραστηριότητα. Το ημερήσιο φως θα πρέπει να έχει ελάχιστη διάρκεια 14-16 ώρες για τα θηλυκά και 8-10 ώρες για τα αρσενικά ζώα και η ένταση του φωτός να είναι 30-40 lux. Ο πλημμελής αερισμός των θαλάμων στέγασης είναι προδιαθετικός παράγοντας για την εκδήλωση αναπνευστικών νοσημάτων στο κουνέλι, δεδομένου ότι αυξάνει τη συγκέντρωση στον αέρα της αμμωνίας που παράγεται από τα ούρα. Ο αέρας θα πρέπει να ανανεώνεται 12-15 φορές την ώρα.

19.5.2. Διατροφή

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, τα κουνέλια εκδηλώνουν το φαινόμενο της κοπροφαγίας ή τυφλοτροφίας, που παίζει σημαντικό ρόλο τόσο στη διατροφή τους όσο και στη διαδικασία της πέψης. Η τροφή που τους χορηγείται είναι συμπυκνωμένη σε μορφή συμπίκτων (pellets), με υψηλή περιεκτικότητα σε φυτικές ίνες. Παρόλο που μεγάλο τμήμα των φυτικών ινών δεν πέπτεται, αυτές είναι απαραίτητες για την αύξηση του όγκου της τροφής.

Η διαίτα περιλαμβάνει 12-22% φυτικές ίνες και 15-17% πρωτεΐνες κατά την περίοδο της ανάπτυξης ή την περίοδο που γαλουχούν, ή 12% πρωτεΐνες κατά την περίοδο της συντήρησης. Η τροφή παρέχεται για κατά βούληση κατανάλωση την περίοδο ανάπτυξης και γαλουχίας, ενώ στη φάση συντήρησης παρέχονται 5 g τροφής ανά 100 g ΣΒ ανά ημέρα. Στα ζώα που χρησιμοποιούνται για αναπαραγωγή ή στις νανόμορφες φυλές χορηγείται τροφή υψηλή σε ενέργεια, της τάξης των 10.500 kJ/kg τροφής, ενώ στα ζώα που βρίσκονται σε περίοδο συντήρησης ενέργεια 8.800 kJ/kg τροφής είναι αρκετή. Οποιαδήποτε μεταβολή της σύνθεσης της τροφής θα πρέπει να γίνεται σταδιακά, μέσα σε διάστημα τουλάχιστον 4-5 ημερών, ώστε να προσαρμόζεται ανάλογα η φυσιολογική μικροβιακή χλωρίδα του εντέρου του ζώου.

Νερό παρέχεται από αυτόματες ή ημιαυτόματες ποτίστρες για κατά βούληση κατανάλωση. Τα κουνέλια καταναλώνουν ημερησίως περίπου 10 mL νερό ανά 100 g ΣΒ, ενώ εκείνα που γαλουχούν 90 mL ανά 100 g ΣΒ.

19.6. ΣΥΛΛΗΨΗ – ΣΥΓΚΡΑΤΗΣΗ

Συχνά, η λανθασμένη τεχνική σύλληψης του κουνελιού μπορεί να οδηγήσει στον τραυματισμό τόσο του ζώου όσο και του χειριστή (εξεταστή). Παρόλο που τα περισσότερα κουνέλια έχουν ήπιο χαρακτήρα, σε σπάνιες περιπτώσεις απαντώνται και κάποια επιθετικά. Τα γνωρίσματα ενός δύστροπου κουνελιού είναι: γρυλίζει, οπισθοχωρεί στο κλουβί του και ανυψώνει τα πρόσθια άκρα του ώστε να γρατσουνίσει και, τέλος, δαγκώνει.

Ορισμένα σημεία που θα πρέπει να έχουμε υπόψη μας κατά τη σύλληψη και συγκράτηση ενός κουνελιού είναι τα παρακάτω:

1. Το κουνέλι έχει ισχυρά πίσω άκρα με αιχμηρά νύχια, με τα οποία μπορεί να τραυματίσει τον χειριστή.
2. Ο λανθασμένος χειρισμός του μπορεί να οδηγήσει σε τραυματισμό της ράχης του.
3. Οι χειριστές θα πρέπει πάντα να φορούν ποδιά με μακριά μανίκια που να καλύπτουν τον καρπό και να μην πλησιάζουν το πρόσωπό τους στο ζώο, ακόμα και όταν αυτό συγκρατείται.
4. Ποτέ δεν ανυψώνουμε το κουνέλι με σύλληψή του μόνο από τα αυτιά, καθώς ενδέχεται, στην προσπάθειά του να απελευθερωθεί, να προκληθεί κάταγμα στη σπονδυλική του στήλη και τραυματισμός των πτερυγίων των ωτών. Σε μια τέτοια περίπτωση, θα πρέπει αμέσως να διενεργείται ευθανασία.

Για να βγάλουμε το κουνέλι από το κλουβί του, με το ένα χέρι μας συλλαμβάνουμε πτυχή του δέρματος του τραχήλου του και με το άλλο χέρι στηρίζουμε την κοιλιά του, μόνη ή μαζί με τα οπίσθια άκρα του. Όταν το επιστρέφουμε στο κλουβί, χρησιμοποιούμε την ίδια τεχνική και βάζουμε πρώτα τα οπίσθια άκρα στο κλουβί, προκειμένου να μην επιχειρήσει να πηδήσει μέσα (Εικόνα 19.7Α).

Για τη μεταφορά του σε μικρή απόσταση, με το ένα χέρι μας συλλαμβάνουμε το κουνέλι από πτυχή του δέρματος του τραχήλου και με το άλλο χέρι μας στηρίζουμε τους γλουτούς του ή συλλαμβάνουμε τα μετατόρσια (Εικόνα 19.7Β). Μπορούμε να κρύψουμε το κεφάλι του ζώου ανάμεσα στον βραχίονα και το σώμα μας, ώστε να μειωθούν οι αντιδράσεις του (Εικόνα 19.7Γ). Επίσης, μπορεί να χρησιμοποιηθεί κλουβί μεταφοράς (Εικόνα 19.7Δ).

Για εξέταση, το τοποθετούμε σε σταθερή αντιολισθητική επιφάνεια και με το ένα χέρι μας καλύπτουμε τα μάτια του για να ηρεμήσει, ενώ το άλλο χέρι μας το τοποθετούμε πίσω από την οσφύ του, προκειμένου να αποτρέψουμε την τυχόν οπισθοχώρησή του (Εικόνα 19.7Ε).

(Α)



(Β)



(Γ)



(Δ)

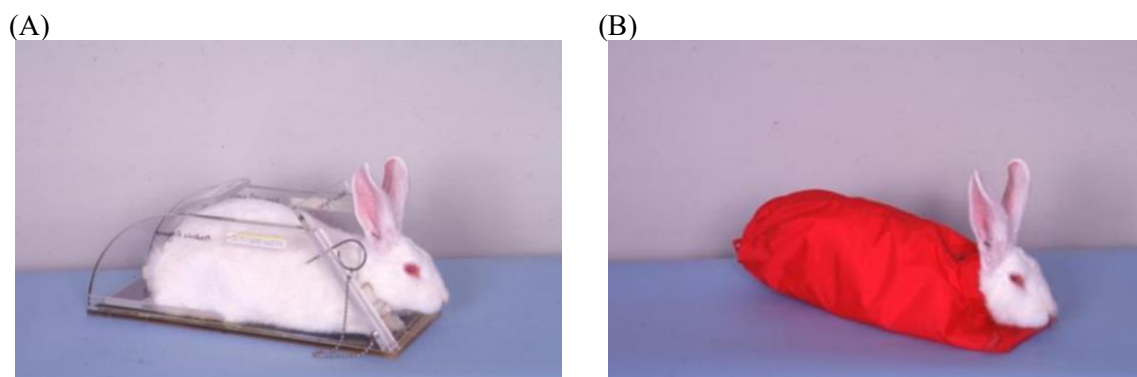


(Ε)



Εικόνα 19.7 Τεχνικές σύλληψης και συγκράτησης του κουνελιού. (Α) Σύλληψη για έξοδο και είσοδο στο κλουβί. (Β), (Γ) Συγκράτηση για μεταφορά σε μικρή απόσταση. (Δ) Μεταφορά σε κλουβί μεταφοράς. (Ε) Συγκράτηση σε σταθερή επιφάνεια για εξέταση.

Για μικρής διάρκειας συγκράτηση του κουνελιού, μπορεί αυτό να τοποθετηθεί σε ειδική συσκευή συγκράτησης (Εικόνα 19.8A), σε υφασμάτινο σάκο (Εικόνα 19.8B) ή να περιτυλιχθεί με πετσέτα, ώστε να προεξέχει μόνο το κεφάλι του. Μια τεχνική για συγκράτηση του ζώου σε ραχιαία κατάκλιση περιλαμβάνει αρχικά τη σύλληψη του ζώου από πτυχή δέρματος του τραχήλου με το ένα χέρι, τοποθέτησή του σε ραχιαία κατάκλιση με την κεφαλή σε έκταση, και στη συνέχεια διενέργεια ρυθμικών μαλάξεων από τη θωρακική προς την κοιλιακή χώρα. Με την τεχνική αυτή, το κουνέλι συγκρατείται σε ηρεμία σε ραχιαία κατάκλιση (Bivin, 1994).



Εικόνα 19.8 Συγκράτηση του κουνελιού σε (A) συσκευή συγκράτησης, (B) υφασμάτινο σάκο (Anonymous, 2022).

19.7. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΟΥΣΙΩΝ

Στον Πίνακα 19.2 παρουσιάζονται οι μέγιστοι συνιστώμενοι όγκοι υγρών και οι διάμετροι των βελονών που χρησιμοποιούνται, ανάλογα με την οδό χορήγησης μιας ουσίας.

Πίνακας 19.2 Σημεία έγχυσης, μέγιστοι χορηγούμενοι όγκοι και διάμετροι βελόνας, για έγχυση ουσιών στο κουνέλι.

Οδός χορήγησης	Σημεία έγχυσης	Μέγιστος χορηγούμενος όγκος	Διάμετρος βελόνας
Υποδόρια	τράχηλος, ράχη, πλάγιο κοιλιακό τοίχωμα	5 mL (max 4 εγχύσεις)	21-25 G
Ενδοδερμική	πλάγιο κοιλιακό τοίχωμα, ράχη	100 μ L	25-27 G
Ενδομυϊκή	πρόσθιο και οπίσθιο τμήμα μηρού, μύες σφρυϊκής χώρας	1 mL	23-25 G
Ενδοφλέβια	περιφερική ωτιαία φλέβα	10 mL (αργά)	23-25 G
Ενδοπεριτοναϊκή	δεξιό οπίσθιο τεταρτημόριο της κοιλίας	100 mL	21-23 G

19.7.1. Χορήγηση από το στόμα

Η πιο απλή μέθοδος χορήγησης μιας ουσίας από το στόμα είναι με την ανάμειξή της με την τροφή ή τη διάλυσή της στο νερό. Ωστόσο, η μέθοδος αυτή παρουσιάζει το μειονέκτημα ότι δεν είναι ακριβής.

Ένας άλλος τρόπος χορήγησης μικρών ποσοτήτων υγρών είναι η χορήγηση της ουσίας απευθείας στο στόμα με τη βοήθεια πλαστικής σύριγγας. Μετά από συγκράτηση του κουνελιού σε σταθερή επιφάνεια ή περιτυλιγμένο σε πετσέτα, εισάγεται το άκρο της σύριγγας από το μεσοδόντιο διάστημα. Η ουσία προωθείται αργά, σε ποσότητες των 0,25-0,5 mL κάθε φορά, ώστε να δοθεί ο απαραίτητος χρόνος για κατάποση. Με την τεχνική αυτή, είναι δυνατό κάποια ποσότητα της ουσίας να μην καταποθεί.

Ο πιο ακριβής τρόπος χορήγησης μιας ουσίας από το στόμα είναι με τη βοήθεια στομαχικού καθετήρα. Μετά από συγκράτηση του ζώου σε σταθερή επιφάνεια, εισάγεται πλαστικός στοματοδιαστολέας στο μεσοδόντιο διάστημα. Στη συνέχεια, εισάγεται εύκαμπτος καθετήρας από πολυαιθυλένιο 8 G διαμέσου του ανοίγματος του στοματοδιαστολέα και προωθείται με προσοχή στον οισοφάγο και ακολούθως στον στόμαχο.

Η κατά λάθος εισαγωγή του στην τραχεία συνοδεύεται από βήχα. Στο άκρο του καθετήρα συνδέεται σύριγγα που περιέχει το χορηγούμενο υγρό, το οποίο και προωθείται αργά.

Η χορήγηση στερεών ουσιών (π.χ. δισκία ή κάψουλες) είναι δυνατό να γίνει με τη βοήθεια προωθητήρα χαπιών (Εικόνα 19.9). Το ζώο συγκρατείται σε σταθερή επιφάνεια με περιτύλιξη του σε πετσέτα, αφήνοντας ελεύθερη την κεφαλή του. Αφότου ενσφηνωθεί το χάπι στο άκρο της συσκευής, εισάγεται διαμέσου του μεσοδόντιου διαστήματος στο βάθος της στοματικής κοιλότητας και προωθείται η ουσία. Αποσύρεται η συσκευή και διατηρείται κλειστό το στόμα του ζώου, μέχρι να πραγματοποιηθεί κατάποση.



Εικόνα 19.9 Προωθητήρας χαπιών.

19.7.2. Υποδόρια έγχυση

Η υποδόρια έγχυση μιας ουσίας γίνεται εύκολα στο κουνέλι. Το ζώο τοποθετείται σε σταθερή επιφάνεια. Συλλαμβάνεται πτυχή δέρματος του τραχήλου, της ράχης ή των πλάγιων κοιλιακών τοιχωμάτων και εγχύεται η ουσία κάτω από το ανασηκωμένο δέρμα (Εικόνα 19.10A). Σε περίπτωση που εγχύονται μεγάλες ποσότητες (>5 mL), η βελόνα μπορεί να ανασυρθεί ελαφρώς, χωρίς να βγει από το δέρμα, και να μετακινηθεί προς άλλη κατεύθυνση.

19.7.3. Ενδοδερμική έγχυση

Οι συνηθέστερες περιοχές ενδοδερμικής έγχυσης στο κουνέλι είναι τα πλάγια κοιλιακά τοιχώματα και η ράχη. Η περιοχή προηγουμένως ξυρίζεται και εφαρμόζεται αντισηψία. Το ζώο τοποθετείται σε σταθερή επιφάνεια και συγκρατείται από έναν βοηθό. Το δέρμα τεντώνεται και εισάγεται βελόνα 25-27 G συνδεδεμένη με σύριγγα που περιέχει το υγρό προς έγχυση.

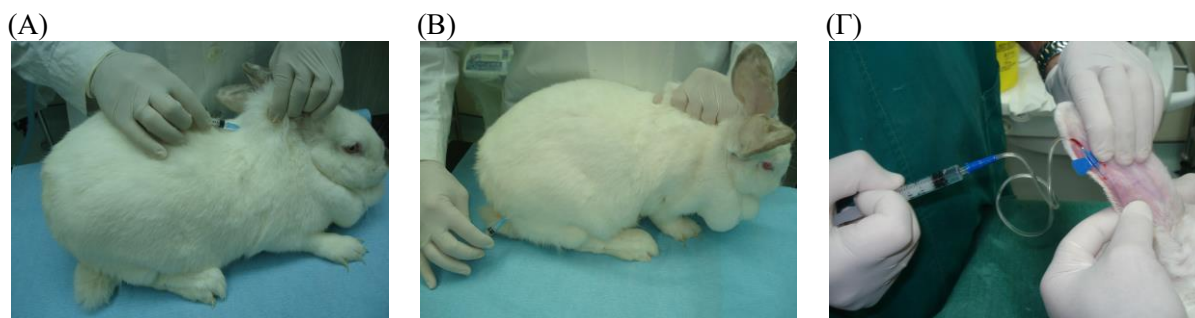
19.7.4. Ενδομυϊκή έγχυση

Οι συνηθέστερες περιοχές ενδομυϊκής έγχυσης είναι το πρόσθιο και το οπίσθιο τμήμα του μηρού, αλλά μπορούν να χρησιμοποιηθούν και οι μύες της οσφυϊκής χώρας. Το ζώο συγκρατείται από έναν βοηθό σε σταθερή επιφάνεια. Στη συνέχεια, με το ένα χέρι ψηλαφείται ο μηρός του και εισάγεται η βελόνα, με κατεύθυνση κάθετη προς το μέσο της μυϊκής μάζας (Εικόνα 19.10B).

19.7.5. Ενδοφλέβια έγχυση

Παρόλο που οι κεφαλικές και οι ταρσιαίες φλέβες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για ενδοφλέβια έγχυση ουσιών, οι περιφερικές ωτιαίες φλέβες είναι τα αγγεία εκλογής. Για την έγχυση, συστήνεται η χρησιμοποίηση πεταλούδας 23 G, η οποία συνδέεται με σύριγγα με το υγρό προς έγχυση ή με συσκευή ορού. Πριν από την παρακέντηση του αγγείου, προωθείται η ουσία μέχρι το άκρο της βελόνας της πεταλούδας, ώστε να μην ενεθεί αέρας. Το ζώο συγκρατείται από έναν βοηθό σε σταθερή επιφάνεια ή τοποθετείται σε ειδική συσκευή συγκράτησης. Η περιοχή έγχυσης στο πτερύγιο του ωτός ξυρίζεται και γίνεται επάλειψη κρέμας τοπικού αναισθητικού, ώστε να αποφευχθεί η αντίδραση του ζώου κατά την παρακέντηση του αγγείου. Εφαρμόζεται τοπική αντισηψία με διάλυμα αλκοόλης και στη συνέχεια ασκείται πίεση κεντρικά στη φλέβα, προκειμένου

να διασταλεί το αγγείο. Εισάγεται η βελόνα της πεταλούδας στο αγγείο, σχεδόν παράλληλα με τη φορά του. Διακόπτεται η πίεση στη φλέβα, γίνεται αναρρόφηση και στη συνέχεια προωθείται αργά η ουσία (19.10Γ).



Εικόνα 19.10 (Α) Υποδόρια, (Β) ενδομυϊκή και (Γ) ενδοφλέβια έγχυση στο κουνέλι.

Σε περίπτωση που πρόκειται να γίνουν επαναλαμβανόμενες εγχύσεις, συστήνεται η εισαγωγή φλεβοκαθετήρα σε αγγεία με μεγαλύτερη διάμετρο, όπως η πρόσθια περιφερική ωτιαία φλέβα (Εικόνα 19.11).



Εικόνα 19.11 Καθετηριασμός πρόσθιας περιφερικής ωτιαίας φλέβας στο κουνέλι.

19.7.6. Ενδοπεριτοναϊκή έγχυση

Η ενδοπεριτοναϊκή έγχυση θα πρέπει να γίνεται κατά προτίμηση όταν ο στόμαχος και η ουροδόχος κύστη του ζώου είναι κενά. Το ζώο συγκρατείται από έναν βοηθό σε ύπτια στάση έτσι, ώστε τα οπίσθια άκρα να βρίσκονται σε υψηλότερο επίπεδο από εκείνο των πρόσθιων άκρων. Η έγχυση εκτελείται συνήθως στο δεξιό οπίσθιο τεταρτημόριο της κοιλίας, στο μέσο της απόστασης μεταξύ ξιφοειδούς απόφυσης του στέρνου και του ηβικού οστού.

19.8. ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ

Η αιμοληψία στο κουνέλι γίνεται συνήθως από τις αρτηρίες ή τις φλέβες του περυγίου του ωτός, οι οποίες είναι εύκολα διακριτές. Το ζώο συγκρατείται σε σταθερή επιφάνεια από έναν βοηθό ή τοποθετείται σε συσκευή συγκράτησης. Η περιοχή αιμοληψίας ξυρίζεται και εφαρμόζεται τοπική αντισηψία. Για την επίτευξη αγγειοδιαστολής και την ευκρινή διαγραφή των αγγείων, τρίβεται το δέρμα με οινόπνευμα. Για την αιμοληψία, παρακεντώνται η πρόσθια περιφερική ωτιαία φλέβα ή η μέση ωτιαία αρτηρία με σύριγγα με βελόνα 23-25 G ή συνδεδεμένη σε πεταλούδα 23-25 G. Στην περίπτωση παρακέντησης της μέσης ωτιαίας αρτηρίας με βελόνα χωρίς σύριγγα, το αίμα συλλέγεται στάγδην σε σωληνάριο αιμοληψίας (Εικόνα 19.12). Αμέσως μετά, ασκείται πίεση στο σημείο παρακέντησης για 2-3 min, για επίτευξη αιμόστασης. Επίσης, μπορεί να παρακεντηθεί με σύριγγα με βελόνα 25 G, με την ίδια διαδικασία αιμόστασης.



Εικόνα 19.12 Αιμοληψία με παρακέντηση της μέσης ωτιαίας αρτηρίας στο κουνέλι.

Στην περίπτωση που επιθυμείται η συλλογή μεγαλύτερης ποσότητας αίματος, μπορεί να γίνει αιμοληψία από τη σφαγίτιδα, μετά από κατάλληλη συγκράτηση του ζώου από έναν βοηθό. Σε ζώα στα οποία δεν επιθυμείται η επιβίωσή τους μπορεί να γίνει καρδιακή παρακέντηση υπό γενική αναισθησία. Με το ζώο σε δεξιά πλάγια κατάκλιση, γίνεται ψηλάφηση της παλλόμενης καρδιάς και εισάγεται βελόνα 21 G κάθετα προς το θωρακικό τοίχωμα, με κατεύθυνση προς την καρδιά.

Η ποσότητα αίματος που μπορεί να συλλεχθεί σε κάθε αιμοληψία χωρίς κίνδυνο για το ζώο είναι περίπου 7 mL ανά kg ΣΒ.

Videos: <https://norecopa.no/films-and-slide-shows/rabbit>

19.9. ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ

Πριν από την αναισθησία, μπορεί να γίνεται νηστεία για χρονικό διάστημα όχι μεγαλύτερο των 12 ωρών, ειδικά σε κουνέλια με σωματικό βάρος μικρότερο των 3 kg. Σημειώνεται ότι το κουνέλι δεν μπορεί να κάνει έμετο και ο στομάχος του δεν κενώνεται πλήρως, ακόμη και μετά από πενήμημερη νηστεία (Lipman et al., 2008). Προεγχειρητική στέρηση νερού μπορεί να γίνει για λίγες ώρες.

Πριν ακόμη μεταφερθεί το κουνέλι από το κλουβί του στον χώρο πειραματισμού, προτιμάται η χορήγηση ενός ηρεμιστικού, όπως το Hyponorm, η διαζεπάμη, η ακετυλοπρομαζίνη ή η ξυλαζίνη (Πίνακας 14.2). Λόγω της παρουσίας στο αίμα του κουνελιού του ενζύμου ατροπινάση, η δόση της ατροπίνης, αν χρειαστεί να χορηγηθεί, μπορεί να είναι πολύ μεγάλη (0,1-3 mg/kg ΣΒ, i.m.).

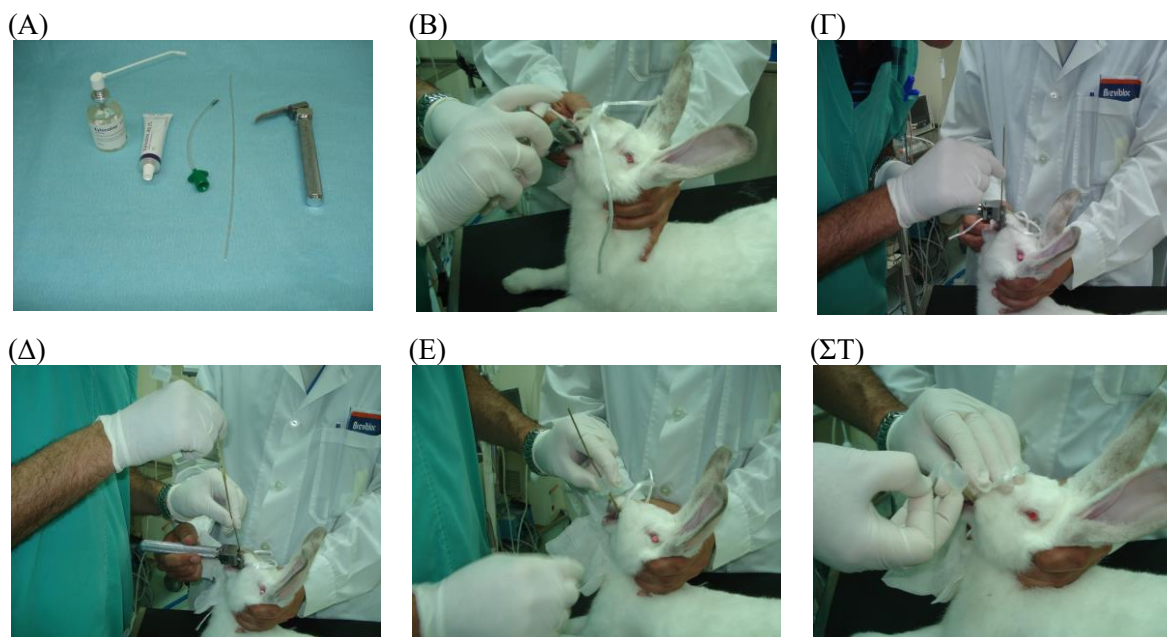
Για την εγκατάσταση της αναισθησίας, αποφεύγεται η χρήση εισπνευστικών αναισθητικών, λόγω της πρόκλησης έντονου στρες. Ένα αναισθητικό σχήμα που συνήθως χρησιμοποιείται είναι η ενδομυϊκή χορήγηση μείγματος κεταμίνης (20-35 mg/kg) και ξυλαζίνης (3-5 mg/kg) ή διαζεπάμης (1-5 mg/kg). Επίσης, μπορεί να χορηγηθεί συνδυασμός φεντανύλης-φλουανιζόνης (Hyponorm, 0,3 mL/kg, i.m.) με μιδαζολάμη (2 mg/kg, i.p., i.v.) ή διαζεπάμης (1,5-5 mg/kg, i.m., i.v., i.p.). Μπορούν να χορηγηθούν πρόσθετες δόσεις Hyponorm (περίπου 0,1 mL / kg ΣΒ., i.m., κάθε 30-40 min), για τη διατήρηση της αναισθησίας. Τέλος, χρησιμοποιείται με επιτυχία και η υποδόρια ή ενδομυϊκή χορήγηση μείγματος μεδετομιδίνης (0,2 mg/kg), κεταμίνης (10 mg/kg) και βουτορφανόλης (0,05 mg/kg). Άλλα αναισθητικά σχήματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 14.3.

Ο έλεγχος της εγκατάστασης χειρουργικής αναισθησίας στο κουνέλι υποδηλώνεται με την απουσία τινάγματος του πτερυγίου του ωτός μετά από νύξη του. Άλλα αντανακλαστικά που χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο του βάθους της αναισθησίας είναι το βλεφαριδικό, του κερατοειδούς και το ποδικό. Το αντανακλαστικό του κερατοειδούς μπορεί να παραμείνει ακόμη και σε στάδιο βαθιάς αναισθησίας.

Η διατήρηση της αναισθησίας συστήνεται να γίνεται με τη χορήγηση εισπνευστικών αναισθητικών, όπως το αλοθάνιο, το ισοφλουράνιο και το σεβοφλουράνιο, σε συγκεντρώσεις 1-4%. Η χορήγησή τους γίνεται είτε με τη βοήθεια προσωπίδας είτε διαμέσου τραχειοσωλήνα, μετά από ενδοτραχειακή διασωλήνωση.

Για την ενδοτραχειακή διασωλήνωση, συγκρατείται το αναισθητοποιημένο ζώο από έναν βοηθό σε πρόσθια κατάκλιση, με την κεφαλή σε υπερέκταση. Στη συνέχεια, επισκοπείται ο λάρυγγας με τη βοήθεια

παιδικού λαρυγγοσκοπίου με λάμα Miller μεγέθους 0 ή 1 και ψεκάζεται με εκνέφωμα ξυλοκαΐνης 10%. Ακολούθως, εισάγεται αρχικά στην τραχεία, διαμέσου των φωνητικών χορδών, συρμάτινος οδηγός με πλαστική επένδυση, στον οποίον στη συνέχεια ολισθαίνει τραχειοσωλήνας διαμέτρου 2,5-3,0 mm, το άκρο του οποίου έχει επαλειφθεί με gel ξυλοκαΐνης 2%, προκειμένου να προωθηθεί στην τραχεία. Τέλος, αποσύρεται ο οδηγός και σταθεροποιείται ο τραχειοσωλήνας με τη βοήθεια γάζας (Εικόνα 19.13) (Υρσιλάντις et al., 2006).



Εικόνα 19.13 Ενδοτραχειακή διασωλήνωση στο κουνέλι. (Α) Υλικά: spray ξυλοκαΐνης 10%, gel ξυλοκαΐνης 2%, τραχειοσωλήνας διαμέτρου 2,5 ή 3 mm, οδηγός τραχειοσωλήνα, παιδικό λαρυγγοσκόπιο με λάμα τύπου Miller μεγέθους 0 ή 1. (Β) Ψεκασμός του λάρυγγα με εκνέφωμα ξυλοκαΐνης 10%. (Γ) Εισαγωγή του οδηγού του τραχειοσωλήνα, διαμέσου του λαρυγγοσκοπίου, ανάμεσα στις φωνητικές χορδές. (Δ), (Ε) Διολίσθηση του τραχειοσωλήνα διαμέσου του οδηγού και εισαγωγή του στην τραχεία. (ΣΤ) Δοκιμασία ελέγχου της επιτυχούς διασωλήνωσης, με κίνηση τριχών από τον εκπνεόμενο αέρα από το στόμιο του τραχειοσωλήνα.

Η πιο συνηθισμένη επιπλοκή κατά τη διάρκεια της αναισθησίας του κουνελιού είναι η εκδήλωση υποθερμίας. Επίσης, ζώα με υποκλινική νόσηση από *Pasteurella multocida* είναι δυνατό να καταλήξουν κατά τη διάρκεια της αναισθησίας. Η έμφραξη της αεροφόρου οδού είναι επίσης συχνή στο κουνέλι και προλαμβάνεται με τη διασωλήνωση της τραχείας.

19.10. ΕΥΘΑΝΑΣΙΑ

Έχουν περιγραφεί διάφοροι τρόποι ευθανασίας του κουνελιού. Η μέθοδος εκλογής είναι η χορήγηση υψηλών δόσεων βαρβιτουρικών. Χορηγείται ενδοφλεβίως πεντοβαρβιτόνη στη δόση των 60 mg/kg. Επίσης, μπορεί να χορηγηθεί αρχικά διαζεπάμη σε δόση 2 mg/kg, i.v., και μετά από 30 sec νατριούχος θειοπεντόνη σε δόση 30 mg/kg, i.v. Τα εισπνευστικά αναισθητικά, όπως το αλοθάνιο, το ισοφλουράνιο και το σεβοφλουράνιο, όταν χορηγούνται σε υψηλή συγκέντρωση, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη θανάτωση του κουνελιού.

Σε περιπτώσεις όπου δεν επιθυμείται η παρουσία αναισθητικών ουσιών στο αίμα του ζώου, εφαρμόζονται φυσικές μέθοδοι ευθανασίας. Σε αυτές περιλαμβάνονται η εξάρθρωση του αυχένα για ζώα <1 kg, ο τραυματισμός του εγκεφάλου με πιστόλι εκτινασόμενης διατρητικής ράβδου και η ηλεκτροπληξία.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Anonymous (2019). European Commission. Report from the Commission to the European Parliament and the Council. 2019 report on the statistics on the use of animals for scientific purposes in the Member States of the European Union in 2015-2017. <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/04a890d4-47ff-11ea-b81b-01aa75ed71a1>
- Anonymous (2022). Animal use training session. Rabbit Lab Handout. University of Washington. https://depts.washington.edu/auts/materials/Rabbit_Lab_Handout_5-13-16.pdf
- Capello, V. (2005). Rabbit and rodent dentistry. Handbook. Zoological Education Network. http://www.rabbitdentistry.com/Contents_files/Preview.pdf
- Bivin, W.S. (1994). Basic bi methodology. In P.J. Manning, D.H. Ringler, & C.E. Newcomer (Eds.), *The biology of the laboratory rabbit*. 2nd Edition (pp. 71-86). Academic Press. ISBN: 9781483288826
- Lipman, N.S., Marini, R.P., & Flecknell, P.A. (2008). Anesthesia and analgesia in rabbits. In D.F. Kohn, S.K. Wixson, W.J. White, & G.J. Benson (Eds.), *Anesthesia and analgesia in laboratory animals*. 2nd edition (pp. 300-334). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-373898-1.X5001-3>
- Patton, N.M. (1994). Colony husbandry. In P.J. Manning, D.H. Ringler, & C.E. Newcomer. *The biology of the laboratory rabbit*. 2nd Edition (pp. 27-46). Academic Press. ISBN: 9781483288826
- Van Praag, E. (2022). Reproductive track of the female rabbit. MediRabbit.com. http://www.medirabbit.com/EN/Uro_gen_diseases/Fem_rabbit/Fem_en.htm
- Vennen, K.M., & Mitchell, M.A. (2009). In M.A. Mitchell, & T.N. Tully (Eds.), *Manual of Exotic Pet Practice* (pp. 375-405). Elsevier. ISBN: 978-1-4160-0119-5
- Ypsilantis, P., & Saratsis, P (1999). Early pregnancy diagnosis in the rabbit by real time ultrasonography. *World Rabbit Science*, 7, 95-99.
- Ypsilantis, P., Didilis, V., Bougioukas, J., Tsigalou, C., Lialiaris, T., Simopoulos, C., & Bougioukas, G. (2006). Post-operative course in a surgical model of myocardial infarction in the rabbit. *Journal of Experimental Animal Science*, 43, 197-209. <http://doi.org/10.1016/j.jeas.2006.08.001>
- Σαμουηλίδης, Σ., Σαράτσης, Φ., Υψηλάντης, Π., & Αδαμοπούλου, Β. (1996). Κατάψυξη σπέρματος κουνελιού. *Δελτίον Ελληνικής Κτηνιατρικής Εταιρείας*, 47: 124-128
- Σφαιρόπουλος, Α. (1991). Κονικλοτροφία (σσ. 43-73). Υπηρεσία Δημοσιευμάτων ΑΠΘ. Θεσσαλονίκη.
- Υψηλάντης, Π., Τσιλιγιάννη, Θ., & Καραγιαννίδης, Α. (1996). Η χρήση της κυτταρολογικής εξέτασης κολπικών επιχρισμάτων στον καθορισμό των σταδίων του οιστρικού κύκλου του κατοικίδιου κουνελιού. *Δελτίον Ελληνικής Κτηνιατρικής Εταιρείας*, 47: 186-190
- Υψηλάντης, Π., Σαράτσης, Φ., Σαμουηλίδης, Σ. (1998). Γονιμότητα σπέρματος κουνελιού μετά από διενέργεια ετεροσπερμικής σπερματέγχυσης με σπερματοζώαρια διαφορετικών χρόνων ενεργοποίησης. *Δελτίον Ελληνικής Κτηνιατρικής Εταιρείας*, 49, 143-147

ΣΑΡΚΟΦΑΓΑ

Κεφάλαιο 20

Σύνοψη

Στο κεφάλαιο αυτό γίνεται αναφορά σε στοιχεία ανατομίας, φυσιολογίας και βιολογίας του σκύλου. Περιγράφονται οι συνθήκες εκτροφής και οι μέθοδοι σύλληψης, συγκράτησης, χορήγησης ουσιών, αιμοληψίας, αναισθησίας και ευθανασίας.

Προαπαιτούμενη γνώση

Είναι χρήσιμη η γνώση που έχει αποκομισθεί από το Γενικό Μέρος του συγγράμματος επί των συνθηκών εκτροφής και των μεθόδων σύλληψης, συγκράτησης, χορήγησης ουσιών, αιμοληψίας, αναισθησίας και ευθανασίας.

20 ΣΚΥΛΟΣ (DOG)

20.1. ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ – ΧΡΗΣΕΙΣ

Ο σκύλος (*Canis familiaris*) πιστεύεται ότι είναι το πρώτο ζώο που εξημέρωσε ο άνθρωπος. Σήμερα, υπάρχουν πάνω από 300 φυλές. Η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη φυλή στη βιοϊατρική έρευνα είναι η *Beagle*, με σωματικό βάρος 10-12 kg (Εικόνα 20.1). Τα ζώα αυτής της φυλής προτιμώνται λόγω του ήπιου χαρακτήρα τους, των συνηθειών ομαδικής συμβίωσης που έχουν και του μέτριου σωματικού τους μεγέθους.



Εικόνα 20.1 Σκύλος φυλής *Beagle*.

Η συχνότητα χρησιμοποίησης του σκύλου στην έρευνα τείνει να μειωθεί την τελευταία δεκαετία. Χρησιμοποιείται σε έρευνες που αφορούν κυρίως τον έλεγχο εμβολίων και φαρμάκων, την ανάπτυξη νέων χειρουργικών τεχνικών και τη μελέτη καρδιαγγειακών παθήσεων.

20.2. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ – ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ

Το σωματικό βάρος του σκύλου ποικίλλει σημαντικά, ανάλογα με τη φυλή. Η διάρκεια ζωής του είναι 10-15 έτη. Η θερμοκρασία του σώματός του είναι 37,8-39,2 °C, ο καρδιακός ρυθμός 90-120 παλμοί/min και ο αναπνευστικός ρυθμός 20-30 αναπνοές/min.

Οι αρσενικοί σκύλοι δείχνουν πιο επιθετική διάθεση σε σχέση με τους θηλυκούς. Τα αρσενικά οριοθετούν την περιοχή τους ουρώντας σε διάφορα σημεία περιμετρικά. Η εκπαίδευση και η επαφή με το ζώο σε ηλικία 4-8 εβδομάδων είναι καθοριστικής σημασίας για τη μετέπειτα συμπεριφορά του και τη σχέση του με τον άνθρωπο. Σημειώνεται ότι δεν θα πρέπει να εκτελείται οποιαδήποτε πειραματική διαδικασία μέσα στην περιοχή «κυριαρχίας» του ζώου.

20.3. ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ

Η αναπαραγωγή του σκύλου που θα χρησιμοποιηθεί σε πειραματικά πρωτόκολλα δεν λαμβάνει χώρα στα ερευνητικά κέντρα, λόγω του μεγάλου χρόνου που απαιτείται για την ολοκλήρωσή της. Η προμήθεια των ζώων γίνεται από εγκεκριμένες μονάδες εκτροφής και αναπαραγωγής.

Ο σκύλος ενηβώνεται σε ηλικία, κατά μέσο όρο, 9-10 μηνών το θηλυκό και 7-8 μηνών το αρσενικό. Οδηγούνται στην αναπαραγωγή σε ηλικία συνήθως όχι μικρότερη των 12 μηνών. Είναι ζώο εποχικά μονοοιστρικό. Έτσι, το θηλυκό παρουσιάζει ωοθηκική δραστηριότητα κατά τις περιόδους Ιανουαρίου-Μαρτίου και Αυγούστου-Σεπτεμβρίου. Κάθε ωοθηκικός κύκλος διαρκεί συνολικά 4-8 μήνες και χωρίζεται σε 4 στάδια: τον πρόοιστρο, τον οίστρο, τον δίοιστρο και τον άνοιστρο. Το στάδιο του προοίστρου διαρκεί 3-17 ημέρες (μέσος όρος 9 ημέρες) και γίνεται αντιληπτός από την εξοίδηση των χειλέων του αιδοίου και την παρουσία αιμορραγικού εκκρίματος που εξέρχεται από τον κόλπο. Κατά το στάδιο αυτό, ο θηλυκός σκύλος προσελκύει τα αρσενικά, χωρίς ωστόσο να τους επιτρέπει την επίβαση. Ακολουθεί το στάδιο του οίστρου, το οποίο διαρκεί 3-21 ημέρες (μέσος όρος 9 ημέρες) και είναι η περίοδος κατά την οποία το θηλυκό δέχεται επίβαση από το αρσενικό. Η καταλληλότερη χρονική περίοδος για ζευγάρωμα είναι μεταξύ της 10ης-12ης ημέρας μετά την έναρξη του προοίστρου. Η σύζευξη προτείνεται να επαναλαμβάνεται μετά από 2 ημέρες (Johnson, 2009).

Η εγκυμοσύνη διαρκεί συνήθως 62-64 ημέρες. Η διάγνωσή της μπορεί να γίνει α) με ψηλάφηση της μήτρας διαμέσου του κοιλιακού τοιχώματος την 21η-35η ημέρα, β) με υπερηχοτομογραφία από την 25η-35η ημέρα ή γ) με βάση τη συγκέντρωση της ρελαξίνης στον ορό του αίματος μετά την 30ή ημέρα της κύησης (Davidson, 2022). Σε κάθε τοκετό γεννιούνται 3-6 κουτάβια, που ζυγίζουν 200-500 g το καθένα και έχουν κλειστά τα μάτια τους. Τη 10η-14η ημέρα ανοίγουν τα μάτια τους, ενώ περπατούν και αρχίζουν να τρώνε στερεά τροφή μετά την 20ή ημέρα. Η γαλουχία διαρκεί 6-8 εβδομάδες.

20.4. ΕΚΤΡΟΦΗ

Οι σκύλοι μπορούν να στεγαστούν σε μικρές ομάδες σε εσωτερικό χώρο, με πρόσβαση σε εξωτερικό χώρο. Προτιμάται στον εσωτερικό χώρο το δάπεδο να είναι σχαρωτό ή συμπαγές μαλακό. Θα πρέπει να παρέχεται κάποια περιοχή ανάπαυσης εντός του καταλύματος, όπου θα κοιμάται το ζώο.

20.4.1. Συνθήκες περιβάλλοντος

Αν χρειαστεί να στεγαστεί ατομικά κάποιο ζώο, τότε χρησιμοποιούνται μεταλλικά κλουβιά. Οι διαστάσεις τους είναι ανάλογες με το μέγεθος του ζώου. Οι διαστάσεις κλουβιών σκύλων φυλής Beagle αναφέρονται στον Πίνακα 5.2. Η θερμοκρασία περιβάλλοντος θα πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ 15 και 21 °C. Τα νεογέννητα κουτάβια τοποθετούνται για 5-10 ημέρες κάτω από θερμαντική λάμπα, που βρίσκεται σε ύψος 1 m. Η σχετική υγρασία θα πρέπει να είναι 40-60% και ο αέρας να ανανεώνεται 20-80 φορές την ώρα.

20.4.2. Διατροφή

Ο σκύλος είναι ζώο σαρκοφάγο. Ωστόσο, η διατροφή του μπορεί να περιλαμβάνει όλα τα είδη τροφών. Οι αναπτυσσόμενοι σκύλοι ταΐζονται 2-3 φορές την ημέρα, ενώ οι ενήλικες σκύλοι 1-2 φορές την ημέρα, με τροφή που κυκλοφορεί στο εμπόριο σε ξηρή μορφή ή κονσέρβα. Συστήνεται η εναλλαγή του τύπου τροφής. Η τροφή παρατίθεται σε ανοξείδωτα μεταλλικά δοχεία. Το νερό χορηγείται για κατά βούληση κατανάλωση σε μεταλλικά δοχεία ή από αυτόματες ποτίστρες.

20.5. ΣΥΛΛΗΨΗ – ΣΥΓΚΡΑΤΗΣΗ

Πλησιάζουμε τον σκύλο από απόσταση, σκύβοντας ελαφρώς, ώστε να μειωθεί κάπως το ύψος μας όταν βρισκόμαστε κοντά του. Αφήνουμε το ζώο να δει την παλάμη του χεριού μας καθώς το πλησιάζουμε. Ποτέ δεν επιχειρούμε να κατεβάσουμε το χέρι μας και να πιάσουμε κατευθείαν το κεφάλι του. Ενώσω μιλάμε στο ζώο, ώστε να αποκτήσουμε την εμπιστοσύνη του, πλησιάζουμε το χέρι μας στο ρύγχος του για να το μυρίσει. Στη συνέχεια, το συλλαμβάνουμε από το κολάρο του. Για επιθετικά ζώα μπορούν να χρησιμοποιηθούν οι ειδικές συσκευές σύλληψης με βρόχο (Εικόνα 20.2Α).

Υπάρχουν διάφορες τεχνικές συγκράτησης του σκύλου, ανάλογα με τον σκοπό της διαδικασίας. Για να ανυψώσουμε και να τοποθετήσουμε το ζώο πάνω π.χ. σε εξεταστική τράπεζα, τοποθετούμε το ένα χέρι μας γύρω και κάτω από τον λαιμό του και πιέζουμε σταθερά την κεφαλή του στο στήθος μας, με το άλλο χέρι μας αγκαλιάζουμε το ζώο γύρω και κάτω από την κοιλιακή του χώρα και το ανυψώνουμε (Εικόνα 20.2B). Με την ίδια τεχνική, μπορεί να συγκρατηθεί το ζώο σε όρθια στάση πάνω στην τράπεζα εξέτασης (Εικόνα 20.2Γ). Αν το ζώο είναι ανήσυχο ή επιθετικό, τοποθετείται φίμωτρο πλαστικό ή δερμάτινο. Στην περίπτωση συγκράτησης του ζώου για αιμοληψία από την κεφαλική φλέβα, με το ζώο καθήμενο, τοποθετούμε το ένα χέρι μας γύρω και κάτω από τον λαιμό του, προκειμένου να πιέσουμε σταθερά την κεφαλή του στο στήθος μας, και αγκαλιάζοντας τον κορμό του ζώου με το άλλο χέρι μας συγκρατούμε το ετερόπλευρο πρόσθιο άκρο του σε έκταση, ενώ ταυτόχρονα ασκούμε πίεση στη ραχιαία επιφάνεια του αγκώνα, ώστε να προκληθεί διαστολή του αγγείου (Εικόνα 20.2Δ). Εναλλακτικά, μπορεί να εφαρμοστεί ίσχυαιμη περίδεση στο ύψος του αγκώνα.

(Α)



(Β)



(Γ)



(Δ)



Εικόνα 20.2 (Α) Σύλληψη σκύλου με τη βοήθεια ειδικής συσκευής. (Β) Ανύψωση του ζώου. (Γ) Συγκράτηση του ζώου σε όρθια στάση. (Δ) Συγκράτηση του ζώου για αιμοληψία από την κεφαλική φλέβα (Anonymous, 2022).

20.6. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΟΥΣΙΩΝ – ΣΥΛΛΟΓΗ ΑΙΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΟΥΡΩΝ

Η χορήγηση από το στόμα υγρών ουσιών γίνεται απευθείας στο στόμα με τη βοήθεια σύριγγας, της οποίας η βελόνα έχει αφαιρεθεί. Τοποθετείται στη γωνία του στόματος του ζώου και προωθείται το περιεχόμενό της. Στερεές ουσίες, όπως χάπια ή κάψουλες, τοποθετούνται στη βάση της γλώσσας με τη βοήθεια συσκευής προώθησης χαπιών, ενώ στη συνέχεια κλείνεται το στόμα και μαλάσσεται η περιοχή της βάσης της κάτω γνάθου, ώστε να προκληθεί κατάποση. Πιο απλή μέθοδος, αλλά όχι ακριβής, είναι η ανάμειξη της ουσίας με την τροφή. Υποδόρια έγχυση ουσιών γίνεται κάτω από το χαλαρό δέρμα του τραχήλου ή της ράχης, μετά από έλξη του. Ενδομυϊκή έγχυση γίνεται συνήθως στους μυς του οπίσθιου τμήματος του μηρού. Ο σκύλος έχει μεγάλες και καλά διαγραφόμενες φλέβες. Η ενδοφλέβια εγχύσεις γίνονται συνήθως στην κεφαλική φλέβα

(πρόσθιο άκρο) ή στην ταρσιαία φλέβα (οπίσθιο άκρο). Το ζώο συγκρατείται όπως έχει περιγραφεί παραπάνω.

Αιμοληψία μπορεί να γίνει με παρακέντηση της σφαγίτιδας, της κεφαλικής ή της έξω σαφηνούς φλέβας (οπίσθιο άκρο). Προηγουμένως, μετά από κατάλληλη συγκράτηση του ζώου, κουρεύεται και επαλείφεται με αντισηπτική ουσία η περιοχή παρακέντησης.

Για τη συλλογή ούρων, η ουροδόχος κύστη είτε καθετηριάζεται διαμέσου της ουρήθρας είτε, για συλλογή άσηπτου δείγματος, παρακεντάται διαμέσου των κοιλιακών τοιχωμάτων.

20.7. ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ

Στον σκύλο εφαρμόζεται προαναισθητική στέρηση τροφής για 6-12 ώρες και νερού για 2 ώρες. Για την προνάρκωση, συστήνεται η χορήγηση συνδυασμού ουσιών με ηρεμιστική και αναλγητική δράση (Πίνακας 20.1).

Η εγκατάσταση της αναισθησίας μπορεί να γίνει με ενδοφλέβια ή ενδομυϊκή χορήγηση αναισθητικών ή συνδυασμού αναισθητικού, ηρεμιστικού και αναλγητικού (Πίνακας 20.2). Η διατήρηση της αναισθησίας προτιμάται να γίνεται με τη χορήγηση εισπνευστικών αναισθητικών διαμέσου προσωπίδας ή μετά από ενδοτραχειακή διασωλήνωση. Επίσης, μπορεί να γίνει και με τη συνεχή ή επαναλαμβανόμενη ενδοφλέβια έγχυση αναισθητικών (Πίνακας 20.3). Διατήρηση της αναισθησίας για μικρό χρονικό διάστημα μπορεί να επιτευχθεί και με τη διαλείπουσα ενδομυϊκή έγχυση συνδυασμού ηρεμιστικών με κεταμίνη ή τιλεταμίνη/ζολαζεπάμη ή με έγχυση αλφαξολόνης.

20.8. ΕΥΘΑΝΑΣΙΑ

Η πιο αποτελεσματική μέθοδος ευθανασίας είναι η ενδοφλέβια χορήγηση βαρβιτουρικών σε υπερδοσολογία (π.χ. πεντοβαρβιτάλη). Άλλες μέθοδοι που χρησιμοποιούνται είναι η ενδοφλέβια, ενδομυϊκή ή ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση συνδυασμού ξυλαζίνης-κεταμίνης ή η ενδοφλέβια χορήγηση προποφόλης σε υπερδοσολογία. Στο εμπόριο είναι επίσης διαθέσιμο σκεύασμα (T-61) το οποίο περιέχει ουσίες με ναρκωτική και παραλυτική επί των σκελετικών και αναπνευστικών μυών δράση και χορηγείται ενδοφλεβίως σε ζώα στα οποία έχει προηγηθεί ηρέμηση (Leary et al., 2020).

Πίνακας 20.1 Προτεινόμενοι συνδυασμοί ουσιών για την προνάρκωση του σκύλου και της γάτας. Οι δόσεις είναι σε mg/kg, εκτός αν αναφέρεται διαφορετικά.

Ουσία	Δόση	
	Σκύλος	Γάτα
Βουτορφανόλη + μεδετομιδίνη	0,2 B + 10-15 M μg/kg, i.m. ή i.v. (μείωση δόσης κατά 50%)	
Ακετυλοπρομαζίνη + βουτορφανόλη ή μορφίνη	0,02-0,05 A + 0,2 B ή 0,5 M, i.m. ή i.v. (μείωση δόσης κατά 50%, όχι μορφίνη)	
Κεταμίνη + μιδαζολάμη	10 K + 0,2 M, i.m.	
Κεταμίνη + μεδετομιδίνη	5 K + 15-20 μg/kg M, i.m.	
Κεταμίνη + βουτορφανόλη + ακετυλοπρομαζίνη	5 K + 0,2 B + 0,05 A, i.m.	
Οξυμορφόνη + ακετυλοπρομαζίνη	0,1 O + 0,05 A, i.m.	

Πίνακας 20.2 Προτεινόμενα αναισθητικά σχήματα για εγκατάσταση αναισθησίας στον σκύλο (Σ) και στη γάτα (Γ). Οι δόσεις είναι σε mg/kg, εκτός αν αναφέρεται διαφορετικά (Grubb et al., 2020).

Ουσία	Δόση
<i>Ουσίες για ενδοφλέβια χορήγηση</i>	
Προποφόλη*	Σ, Γ: 2-6
Αλφαξολόνη*	Σ: 1-3, Γ: 2-5
Ετομιδάτη*	Σ, Γ: 1-3
Πεντοθάλη*	Σ, Γ: 5-15
Κεταμίνη + μιδαζολάμη ή διαζεπάμη	Σ, Γ: 2-5 Κ + 0,1-0,4 Μ
Κεταμίνη + προποφόλη	Σ, Γ: 2-4 Κ, 2-4 Π
Τιλεταμίνη/ζολαζεπάμη	Σ, Γ: 1-4
<i>Ουσίες για ενδομυϊκή χορήγηση</i>	
Δεξμεδετομιδίνη + κεταμίνη + οπιοειδές	Σ, Γ: 0,005-0,01 Δ + 3-10 Κ + οπιοειδές
Τιλεταμίνη/ζολαζεπάμη	Σ, Γ: 3-10
Δεξμεδετομιδίνη + τιλεταμίνη/ζολαζεπάμη + βουτορφανόλη	0,005-0,04 mL/kg (0,25 mg Δ + 100 mg T/Z + 5 mg B ανά mL μείγματος)
* μείωση δόσης, αν χορηγηθεί ταυτόχρονα μιδαζολάμη ή διαζεπάμη (0,2-0,4 mg/kg)	

Πίνακας 20.3 Προτεινόμενες αναισθητικές ουσίες για διατήρηση της αναισθησίας στον σκύλο (Σ) και στη γάτα (Γ) (Armitage-Chan, 2008).

Ουσία	Δόση
<i>Εισπνευστικές</i>	
Αλοθάνιο	MAC: Σ: 0,9%, Γ: 1,0%
Ισοφλουράνιο	MAC: Σ: 1,3%, Γ: 1,6%
Σεβοφλουράνιο	MAC: Σ: 2,3%, Γ: 2,6%
Ντεσφλουράνιο	MAC: Σ: 7,2%, Γ: 9,8%
<i>Ενέσιμες</i>	
Προποφόλη	0,1-0,4 mg/kg/min (συνεχής i.v.) 1-2 mg/kg (επαναλαμβανόμενες εγχύσεις i.v.) Μείωση δόσης σε ταυτόχρονη χορήγηση: • φεντανύλης (0,3-0,7 μg/kg/min, i.v.)

- μορφίνης (1-4 µg/kg/min, i.v.)
- κεταμίνης (10-20 µg/kg/min, i.v.)
- μιδαζολάμης (0,35 µg/kg/min, i.v.)
- μεδετομιδίνης (0,5-1,0 µg/kg/min, i.v.)

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Anonymous (2022). Basic dog restraints. <https://www.youtube.com/watch?v=2y6CfUKwIQE>
- Armitage-Chan, E. (2008). Anesthesia and analgesia in dogs and cats. In D.F. Kohn, S.K. Wixson, W.J. White, & G.J. Benson (Eds.), *Anesthesia and analgesia in laboratory animals*. 2nd edition (pp. 366-384). Academic Press. ISBN-13: 978-0123738981
- Davidson, A.P. (2022). Pregnancy determination in dogs and cats. MSD Veterinary Manual. <https://www.msdtvetmanual.com/management-and-nutrition/management-of-reproduction-dogs-and-cats/pregnancy-determination-in-dogs-and-cats>
- Grubb, T., Sager, J., Gaynor, J.S., Montgomery, E., Parker, J.A., Shafford, H., & Tearney, C. (2020). 2020 AAHA Anesthesia and Monitoring Guidelines for Dogs and Cats. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 56, 59-82. <http://doi.org/10.5326/JAAHA-MS-7055>
- Johnson, C.A. Reproductive system disorders (2009). In R.W. Nelson (Ed.), *Small animal internal medicine*. 4th edition (pp. 885-982). Mosby Elsevier. ISBN-13: 978-0323048811
- Leary S., et al. AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition. <https://www.avma.org/sites/default/files/2020-02/Guidelines-on-Euthanasia-2020.pdf>

Κεφάλαιο 21

Σύνοψη

Στο κεφάλαιο αυτό γίνεται αναφορά σε στοιχεία ανατομίας, φυσιολογίας και βιολογίας της γάτας. Περιγράφονται οι συνθήκες εκτροφής και οι μέθοδοι σύλληψης, συγκράτησης, χορήγησης ουσιών, αιμοληψίας, αναισθησίας και ευθανασίας.

Προαπαιτούμενη γνώση

Είναι χρήσιμη η γνώση που έχει αποκομισθεί από το Γενικό Μέρος του συγγράμματος επί των συνθηκών εκτροφής και των μεθόδων σύλληψης, συγκράτησης, χορήγησης ουσιών, αιμοληψίας, αναισθησίας και ευθανασίας.

21 ΓΑΤΑ (CAT)

21.1. ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ – ΧΡΗΣΕΙΣ

Η ευρωπαϊκή κατοικίδια γάτα (*Felis catus*) (Εικόνα 21.1) ανήκει στην οικογένεια των Αιλουροειδών. Πιστεύεται ότι προέρχεται από τη διασταύρωση δύο φυλών άγριων γατών, της *Felis silvestris* και της *Felis lybica*. Σήμερα, υπάρχουν πάνω από 100 φυλές.



Εικόνα 21.1 Γάτα.

Γενικά, η χρήση τους σε πειραματισμούς μειώνεται την τελευταία δεκαετία και περιλαμβάνει κυρίως φυλές γατών με κοντό τρίχωμα. Η γάτα χρησιμοποιείται σε έρευνες που αφορούν την παραγωγή νέων φαρμάκων καθώς και τη μελέτη νευρολογικών και καρδιαγγειακών παθήσεων.

21.2. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ

Το σωματικό βάρος της γάτας κυμαίνεται από 3 έως 7 kg. Η διάρκεια ζωής της είναι συνήθως 10-17 έτη. Η θερμοκρασία του σώματός της είναι 38-39,5 °C, ο καρδιακός ρυθμός 100-200 παλμοί/min και ο αναπνευστικός ρυθμός 20-40 αναπνοές/min.

Η γάτα είναι κυνηγητικό ζώο, με πολύ καλή όραση και ακοή. Οριοθετεί την περιοχή της με έκκριμα των περιπρωκτικών αδένων και με ούρα και την υπερασπίζεται όποτε νιώσει ότι απειλείται η κυριαρχία της. Το αρσενικό έχει πάντα πιο επιθετική διάθεση από το θηλυκό.

21.3. ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ

Η γάτα ενηθώνεται σε ηλικία 6-9 μηνών, αλλά χρησιμοποιείται στην αναπαραγωγή μετά την ηλικία των 12 μηνών. Είναι ζώο εποχικά πολυοιστρικό. Η περίοδος της αναπαραγωγικής δραστηριότητάς της αρχίζει τον Φεβρουάριο και τελειώνει τον Οκτώβριο. Ζώα τα οποία εκτίθενται συνεχώς σε τεχνητό φωτισμό μπορεί να εκδηλώνουν αναπαραγωγική δραστηριότητα καθ' όλη τη διάρκεια του έτους. Η διάρκεια του ωοθηκικού κύκλου είναι περίπου 14 ημέρες, με διαστήματα μεταξύ των οίστρων διάρκειας 3-6 ημερών. Ο οίστρος διαρκεί 5-8 ημέρες και γίνεται εμφανής από τη συμπεριφορά του ζώου, όπως την ανησυχία του, τα συνεχή νιαουρίσματα, το σήκωμα της ουράς και το τέντωμα του σώματος. Η ωοθυλακιορρηξία πραγματοποιείται μόνο μετά από επίβαση. Προτιμάται να οδηγείται το θηλυκό στο αρσενικό, παρά το αντίθετο. Αφήνονται μαζί μέχρι να πραγματοποιηθούν 2-3 επιβάσεις. Η διάγνωση της εγκυμοσύνης μπορεί να γίνει με ψηλάφηση της μήτρας διαμέσου του κοιλιακού τοιχώματος, με υπερηχοτομογραφία και με βάση τη μέτρηση της ρελαξίνης στον ορό του αίματος. Γάτες που βρίσκονται σε προχωρημένο στάδιο της εγκυμοσύνης, η οποία διαρκεί 64-71 ημέρες (μέσος όρος 66 ημέρες), απομακρύνονται από την ομάδα τους. Περίπου 10 ημέρες πριν από τον επικείμενο τοκετό, παρέχεται στο ζώο ένα κουτί το οποίο χρησιμοποιεί για φωλιά. Σε κάθε τοκετό γεννιούνται 2-5 γατάκια βάρους 90-130 g το καθένα, τα οποία θηλάζουν για 7 περίπου εβδομάδες. Από την ηλικία των 3-4 εβδομάδων, αρχίζουν να καταναλώνουν και στερεά τροφή (Johnson, 2009).

21.4. ΕΚΤΡΟΦΗ

Οι θηλυκές γάτες στεγάζονται σε ομάδες των 20 ζώων, ενώ οι αρσενικές, από την ηλικία των 4-6 μηνών, στεγάζονται ατομικά. Ο ομαδικός σταβλισμός γίνεται σε εσωτερικό χώρο, με διαστάσεις που αναφέρονται στον Πίνακα 5.2. Το δάπεδο θα πρέπει να έχει κλίση 3-5%, για να επιτρέπει την αποχέτευση των ούρων. Παρέχονται επίσης αντικείμενα με τα οποία τα ζώα ασχολούνται και παίζουν, ιδιαίτερος χώρος ύπνου καθώς και δοχεία με άμμο όπου αφοδεύουν. Για την ατομική στέγαση, χρησιμοποιούνται μεταλλικά ή πλαστικά κλουβιά.

21.4.1. Συνθήκες περιβάλλοντος

Η θερμοκρασία περιβάλλοντος θα πρέπει να είναι 15-21 °C, η σχετική υγρασία 40-60% και ο αέρας να ανανεώνεται 20-80 φορές την ώρα.

21.4.2. Διατροφή

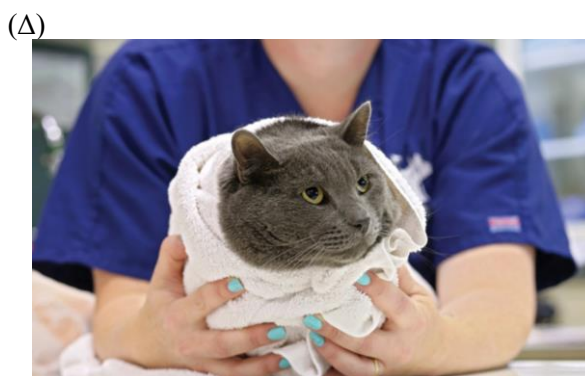
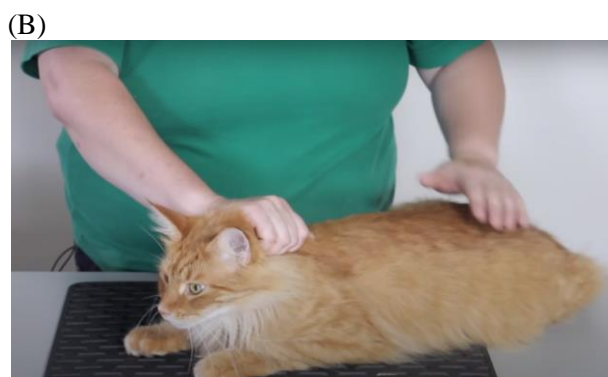
Η γάτα είναι σαρκοφάγο ζώο. Έχει υψηλές απαιτήσεις σε πρωτεΐνες, βιταμίνη B₅, βιταμίνη A, αραχιδονικό οξύ και ταυρίνη. Χορηγείται τροφή εμπορίου μία φορά την ημέρα. Τα γατάκια μέχρι 2 μηνών ταΐζονται 3 φορές την ημέρα. Όταν οι γάτες στεγάζονται ομαδικά, υπάρχει μέριμνα, ώστε κάθε μία να καταναλώνει επαρκή ποσότητα τροφής.

Η γάτα θα πρέπει πάντα να έχει στη διάθεσή της άφθονο φρέσκο και καθαρό νερό. Το νερό μπορεί να υποστεί χλωρίωση (0,2-1,0 mL ελεύθερο χλώριο / L), αλλά όχι οξίνιση. Η ποσότητα του νερού που καταναλώνεται εξαρτάται από την υγρασία της τροφής της.

21.5. ΣΥΛΛΗΨΗ – ΣΥΓΚΡΑΤΗΣΗ

Η γάτα θεωρείται το δυσκολότερο πειραματόζωο σε ό,τι αφορά τη σύλληψή της. Αν δεν έχει συνηθίσει στους ανθρώπινους χειρισμούς, μπορεί να αποδειχθεί επικίνδυνη. Μια φιλική γάτα μπορεί να μεταφερθεί ενώ συγκρατείται κάτω από το μπράτσο του χειριστή, κρατώντας απαλά τα πρόσθια άκρα της (Εικόνα 21.2Α). Για μεταφορά της σε μεγάλες αποστάσεις, τοποθετείται σε κλουβί μεταφοράς. Όταν πρόκειται να εξαχθεί από το κλουβί, ανοίγουμε αργά το σκέπασμα, αφότου έχουμε κλείσει όλες τις πόρτες και τα παράθυρα του δωματίου.

Για συγκράτηση για εξέταση, τοποθετείται σε σταθερή, μη ολισθηρή επιφάνεια και συλλαμβάνουμε πτυχή του δέρματος του τραχήλου, ενώ τοποθετούμε το άλλο χέρι μας στην οσφύ της (Εικόνα 21.2Β). Μια ανυπάκουη γάτα τη συγκρατούν δύο άτομα: ο ένας κρατά το δέρμα του τραχήλου και τα πρόσθια άκρα και ο δεύτερος τα οπίσθια άκρα της. Εναλλακτικά, μπορεί να τοποθετηθεί μέσα σε ειδικά ραμμένο υφασμάτινο σάκο, από όπου προεξέχει μόνο το κεφάλι ή ένα άκρο (Εικόνα 21.2Γ), ή να περιτυλιχθεί σε πετσέτα, αφήνοντας ελεύθερη την κεφαλή της (Εικόνα 21.2Δ).



Εικόνα 21.2 Συγκράτηση της γάτας (A) για μεταφορά, (B) για εξέταση, (Γ) μέσα σε υφασμάτινο σάκο ή (Δ) με περιτύλιξη σε πετσέτα (Anonymous, 2022, Rudolph, 2022).

21.6. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΟΥΣΙΩΝ

Η χορήγηση ουσιών από το στόμα στη γάτα μπορεί να γίνει με σύριγγα, όπως και στον σκύλο, σε επαναλαμβανόμενες ποσότητες του 0,5-1,0 mL. Εναλλακτικά, μπορεί να γίνει με τη βοήθεια στομαχικού καθετήρα 10-12 G από πολυαιθυλένιο. Οι υποδόριες εγχύσεις γίνονται κάτω από το δέρμα του τραχήλου ή των ώμων. Οι ενδοδερμικές εγχύσεις γίνονται όπως περιγράφηκε για το κουνέλι. Οι ενδομυϊκές εγχύσεις γίνονται συνήθως στο οπίσθιο τμήμα του μηρού, ώστε να αποφεύγεται η τρώση της μηριαίας αρτηρίας και του ισχιακού νεύρου. Άλλες περιοχές έγχυσης είναι το πρόσθιο τμήμα του μηρού και ο τρικέφαλος μυς. Οι ενδοφλέβιες εγχύσεις γίνονται στην κεφαλική φλέβα (πρόσθιο άκρο). Οι ενδοπεριτοναϊκές εγχύσεις γίνονται οπισθίως του ομφαλού. Αρχικά, η βελόνα εισάγεται υποδόρια και στη συνέχεια κατευθύνεται έτσι, ώστε να διαπεράσει το κοιλιακό τοίχωμα.

21.7. ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ

Η αιμοληψία μπορεί να γίνει από την κεφαλική ή τη σφαγίτιδα φλέβα. Σε αναισθητοποιημένα ζώα στα οποία δεν επιθυμείται η επιβίωσή τους, μπορεί να ληφθεί αίμα με καρδιακή παρακέντηση.

21.8. ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ

Κατά την προαναισθητική αγωγή, συνιστάται η χορήγηση ατροπίνης, για τη μείωση των εκκρίσεων των σιελογόνων και των βρογχικών αδένων. Αντενδείκνυται η χορήγηση μορφίνης, δεδομένου ότι προκαλεί υπερδιέγερση. Σε ό,τι αφορά την προαναισθητική στέρηση τροφής και νερού, ισχύουν όσα αναφέρθηκαν για τον σκύλο.

Η αναισθησία μπορεί να εγκατασταθεί με τη χορήγηση εισπνευστικών αναισθητικών διαμέσου προσωπίδας ή με την τοποθέτηση του ζώου σε κλουβί από plexiglas στο οποίο διοχετεύεται το αναισθητικό. Ωστόσο, προτιμάται η εγκατάσταση της αναισθησίας με τη χορήγηση ενέσιμων αναισθητικών. Για τη διατήρηση της αναισθησίας, ισχύει ό,τι έχει αναφερθεί για τον σκύλο. Τα φάρμακα που χρησιμοποιούνται για την προνάρκωση, την εγκατάσταση και τη διατήρηση της αναισθησίας παρουσιάζονται στους Πίνακες 20.1, 20.2 και 20.3.

21.9. ΕΥΘΑΝΑΣΙΑ

Ισχύει ό,τι έχει αναφερθεί για την ευθανασία του σκύλου.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Anonymous (2022). Behavior and handling: how to restrain a cat. <https://www.youtube.com/watch?v=h--ctRZP8p0>
- Johnson, C.A. Reproductive system disorders (2009). In R.W. Nelson (Ed.), *Small animal internal medicine*. 4th edition (pp. 885-982). Mosby Elsevier. ISBN-13: 978-0323048811
- Rudolph, L.W. (2022). Techniques for towel restraint of cats. Clinician's brief. <https://www.cliniciansbrief.com/article/techniques-towel-restraint-cats>

ΟΠΛΗΦΟΡΑ

Κεφάλαιο 22

Σύνοψη

Στο κεφάλαιο αυτό γίνεται αναφορά σε στοιχεία ανατομίας, φυσιολογίας και βιολογίας του χοίρου και περιγράφονται οι συνθήκες εκτροφής, οι μέθοδοι σύλληψης, συγκράτησης, χορήγησης ουσιών, αιμοληψίας, αναισθησίας και ευθανασίας.

Προαπαιτούμενη γνώση

Είναι χρήσιμη η γνώση που έχει αποκομισθεί από το Γενικό Μέρος του συγγράμματος επί των συνθηκών εκτροφής και των μεθόδων σύλληψης, συγκράτησης, χορήγησης ουσιών, αιμοληψίας, αναισθησίας και ευθανασίας.

22 ΧΟΙΡΟΣ (PIG) – NANOMORΦΟΣ ΧΟΙΡΟΣ (MINIPIG)

22.1. ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ – ΦΥΛΕΣ – ΧΡΗΣΕΙΣ

Ο ευρωπαϊκός αγριόχοιρος (*Sus scrofa*) πιθανώς προέρχεται από τον ασιατικό χοίρο (*Sus vitatus*). Πολλές φυλές και ποικιλίες έχουν αναπτυχθεί από τον ευρωπαϊκό χοίρο. Στη βιοϊατρική έρευνα χρησιμοποιούνται συνήθως οι φυλές *Large White* και *Landrace* (Εικόνα 22.1), *Yorkshire* καθώς και οι νανόμορφοι χοίροι *Goettingen*, *Pittmoore*, *Minnesota* και *Yucatan*. Οι νανόμορφοι χοίροι δημιουργήθηκαν μετά από κατάλληλες διασταυρώσεις, λόγω της ανάγκης ευκολότερης εκτροφής ζώων εργαστηρίου.



Εικόνα 22.1 Χοίρος φυλής *Landrace*.

Ο αριθμός των χοίρων που χρησιμοποιούνται στην έρευνα είναι μικρός (<1% επί του συνόλου των ζώων εργαστηρίου στη βιοϊατρική έρευνα) (Anonymous, 2019). Χρησιμοποιούνται σε έρευνες που αφορούν κυρίως την παραγωγή εμβολίων, τα τρόφιμα, το δέρμα, το καρδιαγγειακό σύστημα, το πεπτικό σύστημα, το ουροποιητικό σύστημα, την Εμβρυολογία και την Ανοσολογία. Ο χοίρος χρησιμοποιείται ως ζωικό πρότυπο για τη μελέτη του ανθρώπου, λόγω κυρίως των ομοιοτήτων που παρουσιάζει με αυτόν ως προς την ανατομία και τη φυσιολογία του.

22.2. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ – ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ

Το σωματικό βάρος των χοίρων φτάνει τα 100-110 kg σε 150-200 ημέρες μετά τη γέννησή τους, ενώ των νανόμορφων χοίρων, που χρησιμοποιούνται συνήθως στην έρευνα, ποικίλλει ανάλογα με τη φυλή και κυμαίνεται από 12 έως 45 kg στην ίδια ηλικία (Swindle, 1998). Η θερμοκρασία του σώματός τους είναι 38-40 °C, ο καρδιακός ρυθμός τους 100-150 παλμοί/min και ο αναπνευστικός ρυθμός τους περίπου 30 αναπνοές/min.

Οι χοίροι ζουν σε ομάδες. Τα αρσενικά είτε ζουν μοναχικά είτε ηγούνται κάποιας ομάδας.

22.3. ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ

Ο χοίρος ενηβώνεται σε ηλικία 5-7 μηνών και χρησιμοποιείται στην αναπαραγωγή σε ηλικία μεγαλύτερη των 7 μηνών. Είναι ζώο πολυοιστρικό. Ο ωοθηκικός κύκλος του διαρκεί 18-24 ημέρες (μέσος όρος 21 ημέρες), ενώ η εγκυμοσύνη 110-118 ημέρες. Σε κάθε τοκετό γεννιούνται περίπου 10 χοιρίδια βάρους 700 g, που γαλουχούνται για 4-6 εβδομάδες.

22.4. ΕΚΤΡΟΦΗ

Οι νεαροί χοίροι μπορούν να στεγαστούν κατά ομάδες σε μεταλλικά κελιά με σχαρωτό δάπεδο (Εικόνα 22.2Α) ή σε θαλάμους με συμπαγές δάπεδο και στρωμένη. Εφόσον το απαιτεί το πειραματικό πρωτόκολλο, μπορούν να διατηρηθούν για μικρό χρονικό διάστημα σε μεταλλικά κλουβιά (Εικόνα 22.2Β). Οι διαστάσεις των χώρων αυτών αναφέρονται στον Πίνακα 5.2. Χοίροι με ΣΒ>40 kg μπορούν να σταβλιστούν ατομικά.

(Α)



(Β)



Εικόνα 22.2 (Α) Κελιά και (Β) κλουβί στέγασης χοίρων, μικρών μηρυκαστικών ή σκύλων.

Η θερμοκρασία περιβάλλοντος θα πρέπει να είναι 10-24 °C, η σχετική υγρασία 40-60% και ο αέρας να ανανεώνεται 100-180 φορές την ώρα. Η θερμοκρασία περιβάλλοντος για τα νεογέννητα πρέπει να είναι 30-32 °C. Αυτό κατορθώνεται με την τοποθέτηση θερμαντικών λαμπτήρων από πάνω τους.

Ο χοίρος είναι ζώο παμφάγο. Το σιτηρέσιό του πρέπει να είναι πλούσιο σε πρωτεΐνες και αμινοξέα. Η τροφή που χορηγείται αποτελείται από δημητριακούς καρπούς, σόγια, αποξηραμένη μηδική, ιχνοστοιχεία-βιταμίνες, σε μορφή συμπύκτων. Το νερό χορηγείται για κατά βούληση κατανάλωση από αυτόματες ποτίστρες.

22.5. ΣΥΛΛΗΨΗ – ΣΥΓΚΡΑΤΗΣΗ

Ο χοίρος τρομάζει εύκολα και γι' αυτό θα πρέπει να προσεγγίζεται ήρεμα και με υπομονή. Ομάδες χοίρων ή μεμονωμένοι χοίροι μπορούν να απωθηθούν με τη μετακίνηση σταθερών επιφανειών (Εικόνα 22.3Α). Τα μικρά χοιρίδια μπορούν να συλληφθούν από ένα άκρο τους. Μεγαλύτερα χοιρίδια μπορούν να μεταφερθούν με συγκράτηση κάτω από τον βραχίονα του χειριστή.

Οι ενήλικοι χοίροι συγκρατούνται με εφαρμογή ενός βρόχου γύρω από την άνω σιαγόνα τους (Εικόνα 22.3Β). Η άκρη του μπορεί να δεθεί σε σταθερό σημείο. Για συγκράτηση για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, χρησιμοποιούνται ειδικά σχεδιασμένες αιώρες (Εικόνα 22.3Γ)

(A)



(B)



(Γ)



Εικόνα 22.3 (A) Απόθηση χοίρου με τη βοήθεια κινούμενης επιφάνειας. (B) Συγκράτηση με τη βοήθεια βρόχου. (Γ) Συγκράτηση σε αιώρα (Anonymus, 2022a).

22.6. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΟΥΣΙΩΝ – ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ

Οι ενδομυϊκές εγχύσεις γίνονται στους μύς του τραχήλου. Οι ενδοφλέβιες εγχύσεις γίνονται στις φλέβες του περυγίου του ωτός, μετά από προηγούμενη ηρέμηση και συγκράτηση του ζώου. Η αιμοληψία γίνεται από τις παραπάνω φλέβες ή από τη σφαγίτιδα (Εικόνα 22.4).



Εικόνα 22.4 Αιμοληψία από τη σφαγίτιδα στον χοίρο (Anonymus, 2022).

22.7. ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ

Πριν από την αναισθησία, εφαρμόζεται στέρηση τροφής για 12 ώρες και νερού για 2-6 ώρες. Η εγκατάσταση της αναισθησίας γίνεται με την έγχυση ενέσιμων ουσιών, ενώ η διατήρησή της προτείνεται να γίνεται με χορήγηση εισπνευστικών αναισθητικών, μετά από διασωλήνωση της τραχείας. Εναλλακτικά, η διατήρηση μπορεί να γίνει με συνεχή ή επαναλαμβανόμενη ενδοφλέβια έγχυση αναισθητικών ουσιών. Οι ουσίες που μπορούν να χορηγηθούν για προνάρκωση, εγκατάσταση και διατήρηση της αναισθησίας αναφέρονται στους Πίνακες 22.1 και 22.2. Μια συνήθης επιπλοκή που μπορεί να εκδηλωθεί κατά τη διάρκεια της αναισθησίας του χοίρου είναι η κακοήθης υπερθερμία και μπορεί να αντιμετωπιστεί με ενδοφλέβια χορήγηση δαντρολενίου.

22.8. ΕΥΘΑΝΑΣΙΑ

Η μέθοδος εκλογής για την ευθανασία του χοίρου είναι η ενδοφλέβια έγχυση υψηλής δόσης θειοπεντόνης, πεντοβαρβιτόνης ή T-61, μετά από ηρέμηση του ζώου (ενδομυϊκή χορήγηση διαζεπάμης και κεταμίνης). Από τις φυσικές μεθόδους ευθανασίας, επιτρέπεται να χρησιμοποιηθούν το πιστόλι διατηρητικής ράβδου, η ηλεκτρική αναισθητοποίηση ή ο πυροβολισμός της κεφαλής (Ανώνυμος, 2016).

Πίνακας 22.1 Ουσίες που χρησιμοποιούνται στην προνάρκωση του χοίρου
(οι δόσεις δίνονται σε mg / kg ΣΒ, εκτός αν αναφέρεται διαφορετικά)
(Smith and Swindle, 2008).

Ουσία	Δόση
Ακετυλοπρομαζίνη	0,11-1,1, i.m., i.v., s.c.
Ατροπίνη	0,04-0,08, i.m., i.v.
Προμαζίνη	0,44-2,0, i.m., i.v., s.c.
Χλωροπρομαζίνη	0,5-4,0 i.m., i.v., s.c.
Διαζεπάμη	0,5-10, i.m., s.c., 0,44-2,0, i.v.
Μιδαζολάμη	0,1-0,5, i.m., s.c., i.v.
Ξυλαζίνη	0,2, i.m., s.c.
Φεντανύλη/δροπεριδόλη	1 mL / 13,5 kg, i.m., s.c., 0,25-0,5 mL/kg, i.v.
Κεταμίνη + Φεντανύλη/δροπεριδόλη	11 K + 1 mL / 13,5 kg, i.m., s.c.
Προποφόλη	0,83-1,66, i.v.

Πίνακας 22.2 Ουσίες που χρησιμοποιούνται στην αναισθησία του χοίρου (οι δόσεις δίνονται σε mg / kg ΣΒ, εκτός αν αναφέρεται διαφορετικά) (Smith and Swindle, 2008).

Ουσία	Δόση
Κεταμίνη	11-30, i.m., s.c., i.v.
Κεταμίνη + ακετυλοπρομαζίνη	33 K + 1,1 A, i.m., s.c.
Κεταμίνη + διαζεπάμη	5,0 K + 2,0 Δ, i.m., s.c.
Κεταμίνη + μεδετομιδίνη	10,0 K + 0,2 M, i.v., i.m., s.c.
Κεταμίνη + αζαπερόνη	15,0 K + 2,0 A, i.m., s.c.
Κεταμίνη + μιδαζολάμη	33,0 K + 500 μg/kg M, i.m., s.c.
Κεταμίνη + ξυλαζίνη	20,0 K + 2,0, i.m., s.c.
Τιλεταμίνη/ζολαζεπάμη	2,0-8,8, i.m., s.c.
Τιλεταμίνη/ζολαζεπάμη + ξυλαζίνη	2,0-8,8 T/Z + 2,2-4,4 Ξ, i.m., s.c.
Τιλεταμίνη/ζολαζεπάμη + κεταμίνη	4,4 T/Z + 2,2 K, i.m., s.c.
Τιλεταμίνη/ζολαζεπάμη + κεταμίνη + ξυλαζίνη	4,4 T/Z + 2,2 K + 2,2 Ξ, i.m., s.c.
Τιλεταμίνη/ζολαζεπάμη + κεταμίνη + βουτορφανόλη	4,4 T/Z + 2,2 K + 0,22 B, i.m., s.c.
Ισοφλουράνιο	MAC: 1,45-2,00%
Σεβοφλουράνιο	MAC: 1-1,5%
Ντεσφλουράνιο	MAC: 8,3-10,0%

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Anonymous (2019). European Commission. Report from the Commission to the European Parliament and the Council. 2019 report on the statistics on the use of animals for scientific purposes in the Member States of the European Union in 2015-2017. <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/04a890d4-47ff-11ea-b81b-01aa75ed71a1>
- Anonymous (2022). Blood sampling pigs. <https://norecopa.no/films-and-slide-shows/blood-sampling-of-pigs>
- Anonymous (2022a). Swine analgesia, sedation and anesthesia. Libraries. <https://open.lib.umn.edu/largeanimalsurgery/chapter/swine-sedation-and-anesthesia/>
- Smith, A.C., & Swindle, M.M. (2008). Anesthesia and analgesia in swine. In D.F. Kohn, S.K. Wixson, W.J. White, & G.J. Benson (Eds.), *Anesthesia and analgesia in laboratory animals*. 2nd edition (pp. 413-440). Academic Press. ISBN-13: 978-0123738981
- Swindle, M.M. (1998). *Surgery, anesthesia and experimental techniques in swine*. Iowa State Press. ISBN: 0-8138-1829-X
- Ανώνυμος (2016). ΥΑ 2416/83725. Τροποποίηση του Παραρτήματος IV του ΠΔ 56/2013 «Προσαρμογή της ελληνικής νομοθεσίας στην Οδηγία 2010/63/ΕΕ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 22ας Σεπτεμβρίου 2010 (L 276/33/20.10.2010) “σχετικά με την προστασία των ζώων που χρησιμοποιούνται για επιστημονικούς σκοπούς”» (Α106) (ΦΕΚ 2323 Β'/27-7-2016)

ΠΡΩΤΕΥΟΝΤΑ

Κεφάλαιο 23

Σύνοψη

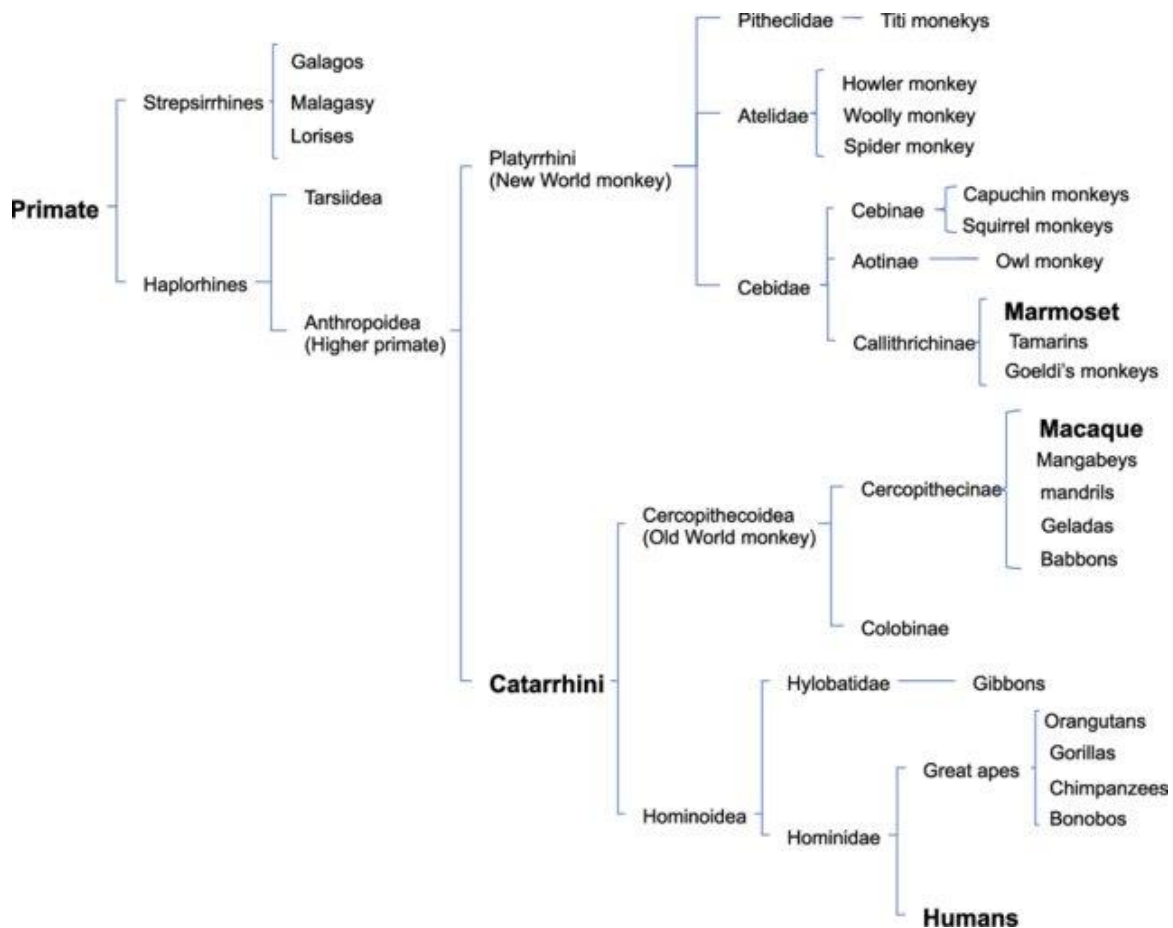
Στο κεφάλαιο αυτό γίνεται αναφορά σε στοιχεία ανατομίας, φυσιολογίας και βιολογίας ειδών πρωτευόντων πλην ανθρώπου που χρησιμοποιούνται στη βιοϊατρική έρευνα. Περιγράφονται οι συνθήκες εκτροφής, οι μέθοδοι σύλληψης, συγκράτησης, χορήγησης ουσιών, αιμοληψίας, αναισθησίας και ευθανασίας.

Προαπαιτούμενη γνώση

Είναι χρήσιμη η γνώση που έχει αποκομισθεί από το Γενικό Μέρος του συγγράμματος επί των συνθηκών εκτροφής και των μεθόδων σύλληψης, συγκράτησης, χορήγησης ουσιών, αιμοληψίας, αναισθησίας και ευθανασίας.

23 ΠΡΩΤΕΥΟΝΤΑ ΠΛΗΝ ΑΝΘΡΩΠΟΥ (NON HUMAN PRIMATES, NHP)

23.1. ΖΩΟΛΟΓΙΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ



Εικόνα 23.1 Ζωολογική ταξινόμηση των πρωτευόντων (Ishigaki et al., 2018).

Στην τάξη των Πρωτεύοντων ανήκουν οι μικροτάξεις των Κατάρρινων (Catarrhini) και των Πλατύρρινων (Platyrrhini):

1. Στους Κατάρρινους ανήκουν οι υπεροικογένειες των:
 1. Κερκοπιθηκοειδών (Μαϊμούδες του Παλαιού Κόσμου), που κατάγονται από την Αφρική και την Ασία (συμπεριλαμβάνουν τους μακάκους και τους μπαμπούνους).
 2. Ανθρωποειδών (συμπεριλαμβάνεται και ο άνθρωπος).
2. Στους Πλατύρρινους (Μαϊμούδες του Νέου Κόσμου), που κατάγονται από τη Νότια Αμερική και περιλαμβάνουν τις υπεροικογένειες των:
 1. Καλλιτριχίδων (συμπεριλαμβάνονται οι μαρμοζέτες και οι ταμαρίνοι).
 2. Κηβίδων (συμπεριλαμβάνονται οι καπουτσίνοι και οι μαϊμούδες σκίουροι).

Τα πρωτεύοντα πλην του ανθρώπου (NHP) χρησιμοποιούνται στη βιοϊατρική έρευνα ως ζωικά πρότυπα συνήθως για τον έλεγχο εμβολίων και φαρμάκων, αλλά και σε έρευνες που αφορούν μελέτη της συμπεριφοράς καθώς και λοιμώδεις νόσους που προσβάλλουν τον άνθρωπο. Η συχνότητα χρησιμοποίησής τους είναι περιορισμένη και αφορά <0,1% του συνόλου των ζώων που χρησιμοποιούνται για επιστημονικούς σκοπούς (Anonymous, 2019).

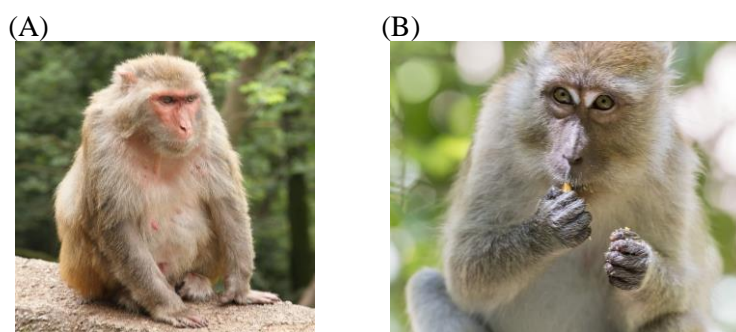
23.2. ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ – ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ – ΕΚΤΡΟΦΗ

23.2.1. Μαϊμούδες του Παλαιού Κόσμου

Ζουν σε διάφορες περιοχές της Αφρικής και της Ασίας και διαβιούν τόσο στα δένδρα όσο και στο έδαφος. Έτσι, περιπλανώνται και αναζητούν τροφή στο έδαφος, ενώ κοιμούνται στα δένδρα. Έχουν κάλους στα ισχιακά ογκώματα, που τους βοηθούν να κάθονται σε στενά κλαδιά. Μπορούν να ανεχθούν διακυμάνσεις των συνθηκών του περιβάλλοντος, αλλά ευδοκimoύν σε θερμοκρασία 15-24 °C, σχετική υγρασία 45-65% και αερισμό του χώρου με 12-15 ανανεώσεις του αέρα ανά ώρα.

23.2.1.1. Μακάκοι (Macaques)

Οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενοι μακάκοι στην έρευνα είναι η μαϊμού Ρέζους (*Macaca mulatta*) (Εικόνα 23.2A) και η μαϊμού Cynomolgus (*Macaca fascicularis*) (Εικόνα 23.2B). Οι μαϊμούδες Ρέζους ζουν κοντά σε ανθρώπινες κατοικίες, όπου κάνουν επιδρομές για φαγητό. Ζουν κατά βάση στο έδαφος. Οι μαϊμούδες Cynomolgus ζουν σε παραθαλάσσιες περιοχές και χαρακτηριστικό τους είναι ότι καταναλώνουν καβούρια.



Εικόνα 23.2 Φυλές μακάκων: (A) Μαϊμού Ρέζους (*Macaca mulatta*), (B) Μαϊμού cynomolgus (*Macaca fascicularis*).

Στοιχεία ανατομίας, φυσιολογίας – συμπεριφορά

Οι μακάκοι φέρουν τέσσερα δάκτυλα και περπατούν όρθιοι όταν κουβαλούν τα μικρά τους ή το φαγητό τους. Είναι κοινωνικά ζώα και ζουν σε μεγάλες ομάδες, που περιλαμβάνουν συνήθως αρκετά αρσενικά. Στις ομάδες ισχύει ιεραρχία, σύμφωνα με την οποία τα θηλυκά βρίσκονται σε υποτελή θέση. Τα κυρίαρχα αρσενικά βρίσκονται στο κέντρο της ομάδας, όπου προστατεύονται από τα υπόλοιπα.

Εκτροφή

Οι μακάκοι μπορούν να στεγαστούν ομαδικά σε εξωτερικά κλουβιά, αλλά συνήθως διατηρούνται σε εσωτερικούς χώρους.

23.2.1.2. Μπαμπούνιοι (Baboons)

Ο μπαμπούνιος του εργαστηρίου προέρχεται από τον μπαμπούνιο της Σαβάννας (*Papio cynocephalus*), που ζει στην Αφρική (Εικόνα 23.3). Ζει στο έδαφος. Χαρακτηριστικά του είναι ότι το πρόσωπό του μοιάζει με σκύλου και το δέρμα της περιγεννητικής του χώρας αλλάζει χρώμα και γίνεται ανοικτό ροζ κατά την περίοδο του οίστρου. Ο *P. cynocephalus* έχει την τάση να κοιμάται στα δένδρα.



Εικόνα 23.3 Μπαμπούνιος (*Papio cynocephalus*).

Συμπεριφορά

Οι μπαμπούνιοι ζουν σε μεγάλες ομάδες των 40-80 ζώων όλων των ηλικιών. Η συμπεριφορά τους εξαρτάται από την περιοχή όπου ζουν. Οι ομάδες που ζουν σε ανοικτούς χώρους είναι πιο κοινωνικές σε σχέση με εκείνες που ζουν σε δάση.

Στις ομάδες ισχύει ιεραρχία. Τα κατώτερα στην ιεραρχία ζώα επιδεικνύουν το δέρμα τους σε περίοδο οίστρου στα ανώτερα, τα οποία μπορεί να τα επιβούν για να αποδείξουν την κυριαρχία τους. Τα αρσενικά οδηγούν την ομάδα, επιβάλλουν υπακοή και την υπερασπίζονται σε περίπτωση εισβολής, ενώ τα θηλυκά ανατρέφουν τα μικρά.

Οι μπαμπούνιοι αναπτύσσουν δραστηριότητα κατά τη διάρκεια της ημέρας.

23.2.2. Μαϊμούδες του Νέου Κόσμου

Κατάγονται από τα βροχερά δάση της Νότιας Αμερικής, όπου ζουν σε δένδρα. Το περιβάλλον τους είναι ζεστό και υγρό και επίσης εκτίθενται στον ήλιο. Αν αιφνιδιαστούν, τρέπονται σε φυγή με κατεύθυνση προς τα επάνω και όχι προς τα εμπρός και γι' αυτό τα κλουβιά τους θα πρέπει να έχουν μεγάλο ύψος. Το περιβάλλον τους θα πρέπει να έχει θερμοκρασία 20-28 °C και σχετική υγρασία 55-65%. Ακόμη, θα πρέπει να τους παρέχεται υπέρυθη ακτινοβολία, αν είναι δυνατό, αλλιώς να τους χορηγείται επιπρόσθετα βιταμίνη D₃.

Στην έρευνα χρησιμοποιούνται κυρίως δύο γένη: οι μαϊμούδες μάρμοζετ (*Callithrix jacchus*) (Εικόνα 23.4) και οι μαϊμούδες σκίουροι (*Saimiri spp.*) (Εικόνα 23.5).

23.2.2.1. Μαϊμούδες μάρμοζετ (Marmoset)



Εικόνα 23.4 Μαϊμού μάρμοζετ (*Callithrix jacchus*).

Συμπεριφορά

Ζουν σε οικογένειες των 3-8 ατόμων. Δημιουργούν ζευγάρια και ζουν μαζί για όλη τους τη ζωή. Και οι δύο γονείς ενδιαφέρονται για τα μικρά. Αναπτύσσουν δραστηριότητα κατά τη διάρκεια της ημέρας.

Εκτροφή

Στεγάζονται συνήθως κατά οικογένειες (ένα ενήλικο ζευγάρι και 1-3 μικρά). Είναι ευκίνητες και τους αρέσει να σκαρφαλώνουν, γι' αυτό μέσα στο κλουβί τοποθετούνται κλαδιά κ.λπ. Περπατούν κατά μήκος των κλαδιών και με τα τέσσερα πόδια τους και χρησιμοποιούν την ουρά τους για να ισορροπούν.

23.2.2.2. Μαϊμούδες σκίουροι – σαϊμίρια (Squirrel monkeys)



Εικόνα 23.5 Μαϊμού σκίουρος (*Saimiri sciureus*).

Συμπεριφορά

Ζουν σε μεγάλες ομάδες και των δύο φύλων. Ωστόσο, τα αρσενικά έρχονται σε επαφή με τα θηλυκά μόνο κατά την αναπαραγωγική περίοδο, η οποία στο βόρειο ημισφαίριο διαρκεί από τον Μάρτιο μέχρι τον Μάιο. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου, μπορεί να εκδηλωθεί επιθετικότητα μεταξύ των αρσενικών, προκειμένου να διευκρινιστεί η ιεραρχία της ομάδας. Μεταξύ τους δεν περιποιούνται, ωστόσο κοιμούνται όλες μαζί.

Εκτροφή

Μπορούν να στεγαστούν σε ομάδες. Σύντομα, καθορίζεται η ιεραρχία. Χρησιμοποιούνται συνήθως ψηλά κλουβιά, όπου τοποθετούνται και κλαδιά.

Λεπτομέρειες σχετικά με τις διαστάσεις των κλουβιών και τις συνθήκες περιβάλλοντος για τις μαϊμούδες που χρησιμοποιούνται στη βιοϊατρική έρευνα αναφέρονται στους Πίνακες 5.2 και 5.3.

Τα καταλύματα όλων των ειδών πρωτεύοντων πλην ανθρώπου θα πρέπει να έχουν τις κατάλληλες διαστάσεις και σε αυτά να περιέχονται τα απαραίτητα στοιχεία εμπλουτισμού του περιβάλλοντος, ώστε να υιοθετούν όσο το δυνατό ευρύτερο κατάλογο συμπεριφορών, να τους προσφέρεται αίσθημα ασφάλειας και το κατάλληλο σύνθετο περιβάλλον που να τους επιτρέπει να περπατούν, να τρέχουν, να πηδούν και να σκαρφαλώνουν. Στον Πίνακα 23.1 δίνονται στοιχεία σχετικά με τις φυσιολογικές τιμές των ζώων αυτών.

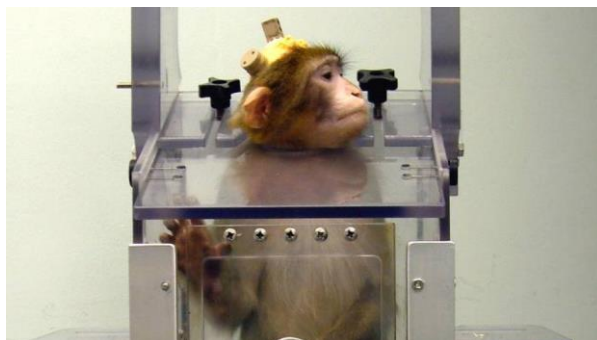
Πίνακας 23.1 Φυσιολογικές τιμές πρωτεύοντων πλην ανθρώπου.

	Macaca	Cynomolgus	Marmoset	Saimiri	Chimpanzees
Σωματικό βάρος ενηλίκου (kg)					
• αρσενικό	4-9	2,5-6	0,4-0,6	0,75-1,1	35-45
• θηλυκό	6-11	4-8	0,4-0,5	0,5-0,75	45-60
Διάρκεια ζωής (έτη)	20-30	15-25	10-16	15-20	40-50
Καρδιακοί παλμοί / min	150-333	100-150	240-350	225-350	85-90
Αναπνοές/min	40-65	40-65	30-50	20-50	30-60
Θερμοκρασία σώματος (°C)	36-40	37-40	35,4-39,7	33,5-38,8	36-39
Ηλικία ενήβωσης (έτη)					
• θηλυκό	3-4	3-4	0,8-1	2-2,5	6-8
• αρσενικό	3-4	3,4	0,8-1	3,5-4	8-10
Ηλικία διασταύρωσης (έτη)					
• θηλυκό	3-4	4-5	1,5-2		9-11
• αρσενικό	4-5	4-5	1,5-2		10-12
Διάρκεια ωοθηκικού κύκλου (ημέρες)	29	31	27-29	7-12	32-38
Διάρκεια εμμηνόρροιας (ημ.)	3	4	-	-	-
Διάρκεια εγκυμοσύνης (ημ.)	155-170	161	142-146	150-170	210-250
Μέγεθος τοκετοομάδας	1	1	2-3	1	1
Διάρκεια γαλουχίας (μήνες)	4-6	4-6	2-3	4	6-9

23.3. ΣΥΓΚΡΑΤΗΣΗ

Όπου υπάρχει η δυνατότητα, τα NHP θα πρέπει να εκπαιδεύονται με τη μέθοδο της ανταμοιβής στο να συνεργάζονται στην εκτέλεση συνήθων πρακτικών, όπως την αλλαγή κλουβιού, καθώς και στη συμμετοχή τους σε πειραματικές διαδικασίες, προκειμένου να αποφεύγεται η χρήση χημικά ή μηχανικά υποβοηθούμενης συγκράτησης. Η εξοικείωση με τις συσκευές συγκράτησης, ειδικά όταν αυτή προβλέπεται για μεγάλο χρονικό διάστημα, π.χ. >30 min, μειώνει σημαντικά το στρες που μπορεί να επιφέρει στο ζώο.

Στις μεθόδους μηχανικά υποβοηθούμενης συγκράτησης περιλαμβάνονται η συγκράτηση από το χέρι, με περιλαίμιο σε πάσσαλο, με τοποθέτηση του ζώου σε κλουβί μεταφοράς, σε κάθισμα συγκράτησης (Εικόνα 23.6), σε κλουβί περιορισμού με μετακινούμενες επιφάνειες και η εφαρμογή γιλέκου συγκράτησης.



Εικόνα 23.6 Κάθισμα συγκράτησης πρωτεύοντος πλην ανθρώπου (Anonymous, 2022).

Όταν απαιτείται η ακινητοποίηση του ζώου (π.χ. για τη λήψη ηλεκτροκαρδιογραφήματος), όταν επιθυμείται η αποτροπή της αντίδρασης του ζώου σε κάποιον χειρισμό (π.χ. στην αφαίρεση ραμμάτων από το δέρμα) ή προκειμένου να διασφαλιστεί η ασφάλεια του προσωπικού, εφαρμόζονται χημικές μέθοδοι συγκράτησης, π.χ. η χορήγηση κεταμίνης (μόνης ή σε συνδυασμό με δεξμεδετομιδίνη ή μιδαζολάμη) ή τιλεταμίνης/ζολαζεπάμης (Popilskis et al., 2008, Toth et al., 2019).

23.4. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΟΥΣΙΩΝ – ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ

Για την από του στόματος χορήγηση μιας ουσίας, το ζώο μπορεί να εκπαιδευτεί στην οικειοθελή πρόσληψη της ουσίας συνήθως αναμειγμένης με την τροφή ή διαλυμένης στο νερό με ή χωρίς την προσθήκη γλυκαντικών πρόσθετων ουσιών. Εναλλακτικά, μπορεί να χορηγηθεί μετά την εισαγωγή στομαχικού καθετήρα σε αναισθητοποιημένα ζώα (Daly et al., 2019). Η υποδόρια έγχυση γίνεται κάτω από το δέρμα της ράχης (Gourdon, 2017). Για την ενδομυϊκή έγχυση ουσιών, χρησιμοποιούνται συνήθως οι μύες του οπίσθιου τμήματος του μηρού. Για την ενδοφλέβια χορήγηση ουσιών ή την αιμοληψία, χρησιμοποιούνται η κεφαλική, η σαφηνής ή η βραχιόνια φλέβα. Η μηριαία φλέβα ή αρτηρία χρησιμοποιούνται για τη λήψη μεγάλων ποσοτήτων αίματος. Ενδοφλέβιοι καθετήρες μπορούν να τοποθετηθούν στην κεφαλική, σαφηνή ή βραχιόνια φλέβα. Για την πρόσβαση σε φλέβα, συχνά είναι απαραίτητη η προηγούμενη ηρέμηση του ζώου (Popilskis et al., 2008).

23.5. ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ

Εφαρμόζεται προαναισθητική στέρηση τροφής για 12 ώρες, με εξαίρεση τις μαϊμούδες μάρμοζет και τους ταμαρίνους, στα οποία δεν πρέπει να ξεπερνά τις 6-8 ώρες, προς αποφυγή υπογλυκαιμίας, και στέρηση νερού για 3 ώρες.

Για τη χορήγηση ουσιών, για την προνάρκωση είναι απαραίτητη η συνεργασία του ζώου, π.χ. με την οικειοθελή προβολή ενός άκρου του για ενδομυϊκή ή ενδοφλέβια χορήγηση, ή η συγκράτησή του με μία από τις μεθόδους που έχουν περιγραφεί παραπάνω, ή, τέλος, η χορήγηση αυτών με τη βοήθεια όπλου που εκτοξεύει βελάκια με την ουσία. Η εγκατάσταση της αναισθησίας γίνεται με τη χορήγηση ενέσιμων αναισθητικών, ενώ η διατήρηση αυτής μπορεί να γίνει με συνεχείς ή επαναλαμβανόμενες εγχύσεις αναισθητικών ή τη χορήγηση εισπνευστικών αναισθητικών, μετά από ενδοτραχειακή διασωλήνωση. Οι ουσίες που χρησιμοποιούνται στην προνάρκωση και την αναισθησία παρουσιάζονται στον Πίνακα 23.2.

23.6. ΕΥΘΑΝΑΣΙΑ

Συστήνεται η ενδοφλέβια έγχυση βαρβιτουρικών, ακολουθούμενη από αφαίμαξη (Gourdon, 2021).

Πίνακας 23.2 Ουσίες που χρησιμοποιούνται στην προνάρκωση και την αναισθησία πρωτευόντων πλην ανθρώπου (οι δόσεις δίνονται σε mg / kg ΣΒ, εκτός αν αναφέρεται διαφορετικά) (Popilskis et al., 2008).

	Macaca	Papio	Saimiri sciureus	Callithrix jacchus
Προνάρκωση				
Ατροπίνη	0,02-0,05, i.m.	0,02-0,05, i.m.		0,04, s.c., i.m.
Γλυκοπυρρολάτη	0,005-0,01, i.m.	0,005-0,01, i.m.		
Μεδετομιδίνη	0,15, i.m.		0,1, i.m., s.c.	
Μεδετομιδίνη + Κεταμίνη		0,1 M, i.m. + 5 K, i.m.		
Αναισθησία				
Κεταμίνη	5-20, i.m.	5-10, i.m.	10-30, i.m.	15-20, i.m.
Κεταμίνη + Μεδετομιδίνη	3 K, i.m. + 0,15 M, i.m.			
Κεταμίνη + Διαζεπάμη		10 K, i.m. + 0,2-0,35 Δ, i.m.	15-20 K, i.m. + 1 Δ, i.m.	15-20 K, i.m. + 1 Δ, i.m.
Κεταμίνη + Ξυλαζίνη	7 K, i.m. + 0,6 Ξ, i.m.		10-30 K, i.m. + 3 Ξ, i.m.	15-22 K, i.m., 1-1,5 Ξ, i.m.
Κεταμίνη + Μιδαζολάμη	15 K, i.m. → 0,05-0,15 M, i.v. → 12 K mg/kg/h, i.v.	5 K, i.m. + 0,1 M, i.m.		
Κεταμίνη + Πεντοβαρβιτάλη	20 K, i.m. → 11 Π, i.v.			
Τιλεταμίνη/Ζολαζεπάμη	4-6, i.m.	4-6, i.m.	10, i.m.	5, i.m.
Πεντοβαρβιτάλη	20-30, i.v.	25 αργή i.v. (ενήλικα), 15 αργή i.v. (νεαρά)	15, αργή i.v.	
Θειοπεντάλη	5-7, i.v. (για εγκατάσταση υπό ηρέμηση κεταμίνης)	15-17 mg/kg/h, i.v.		
Προποφόλη	2,5-5, i.v. → 0,3-0,4 mg/kg/min, i.v.	2-4, i.v. → επανάληψη έγχυσης		
Ισοφλουράνιο	MAC: 1,28%	MAC: 1,5-2%		MAC: 1-3%
Σεβοφλουράνιο	MAC: 2%			

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Anonymous (2019). European Commission. Report from the Commission to the European Parliament and the Council. 2019 report on the statistics on the use of animals for scientific purposes in the Member States of the European Union in 2015-2017. <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/04a890d4-47ff-11ea-b81b-01aa75ed71a1>
- Anonymous (2022). Chair restraint training of non-human primates. National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research. <https://www.nc3rs.org.uk/our-portfolio/chair-restraint-training-non-human-primates>
- Daly, M. B., Clayton, A. M., Ruone, S., Mitchell, J., Dinh, C., Holder, A., Jolly, J., García-Lerma, J. G., & Weed, J. L. (2019). Training rhesus macaques to take daily oral antiretroviral therapy for preclinical evaluation of HIV prevention and treatment strategies. *PloS one*, 14, e0225146. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0225146>
- Gourdon, J. (2017). Standard Operating Procedure #404. Substance administration. Comparative medicine and animal resources centre. McGill University. Canada. https://www.mcgill.ca/research/files/research/404-substance_administration_-_sept_2017_0.pdf
- Gourdon, J. (2021). Standard Operating Procedure #302. Large animal euthanasia. Comparative medicine and animal resources centre. McGill University. Canada. https://www.mcgill.ca/research/files/research/302-large_animal_euthanasia_-_march_2021.pdf
- Ishigaki, H., Shiina, T., & Ogasawara, K. (2018). MHC-identical and transgenic cynomolgus macaques for preclinical studies. *Inflammation and Regeneration*, 38:30. <http://doi.org/10.1186/s41232-018-0088-3>
- Popilskis, S.J., Lee, D.R., & Elmore, D.B. (2008). Anesthesia and Analgesia in Nonhuman Primates. In D.F. Kohn, S.K. Wixson, W.J. White, & G.J. Benson (Eds.), *Anesthesia and analgesia in laboratory animals*. 2nd edition (pp. 336-365). Academic Press. ISBN-13: 978-0123738981
- Toth, L.A., Compton, S., Tolwani, R., & Farrar, J. (2019). Association of Primate Veterinarians Guidelines for Nonhuman Primate Restraint. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science*, 58, 282-284

ΨΑΡΙΑ

Κεφάλαιο 24

Σύνοψη

Στο κεφάλαιο αυτό γίνεται αναφορά σε στοιχεία ανατομίας, φυσιολογίας και βιολογίας των ψαριών, με έμφαση στο ζεβρόψαρο, ως ζωικών προτύπων που χρησιμοποιούνται στη βιοϊατρική έρευνα. Περιγράφονται οι συνθήκες εκτροφής και οι μέθοδοι σύλληψης, συγκράτησης, χορήγησης ουσιών, αιμοληψίας, αναισθησίας και ευθανασίας.

Προαπαιτούμενη γνώση

Δεν είναι απαραίτητη.

24 ΨΑΡΙΑ

24.1. Η ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΨΑΡΙΩΝ ΣΤΗ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

Η χρήση των ψαριών στη βιοϊατρική έρευνα έχει αυξηθεί σημαντικά τα τελευταία χρόνια. Αυτό οφείλεται στην ανάπτυξη της βιομηχανίας ιχθυοκαλλιέργειών, τη χρήση των ψαριών ως δεικτών για τη μελέτη περιβαλλοντικών μεταβολών και ως ζωικών προτύπων εναλλακτικών της χρήσης θηλαστικών. Σύμφωνα με τα στατιστικά στοιχεία της Ευρωπαϊκής Ένωσης σχετικά με τη χρήση ζώων για επιστημονικούς σκοπούς, για το 2017, τα ψάρια αποτέλεσαν το 13% του συνόλου των ζώων που χρησιμοποιήθηκαν, γεγονός που τα καθιστά το δεύτερο πιο συχνά χρησιμοποιούμενο είδος ζώου στη βιοϊατρική έρευνα (Anonymous, 2019).

Το είδος Zebrafish (*Danio rerio*), γνωστό και ως ζεβρόψαρο, είναι το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο είδος ψαριού στην έρευνα, ενώ άλλα είδη που επίσης χρησιμοποιούνται είναι: χρυσόψαρο (goldfish) (*Carassius auratus*), medaka (*Oryzias latipes*), killifish, swordtail fish (*Xiphophorus helleri*), cavefish, stickleback (*Gasterosteus aculeatus*), roach (*Rutilus rutilus*), pufferfish (*Takifugu rubripes*) και *Danionella translucida*.



Εικόνα 24.1 Ζεβρόψαρο.

Στοιχεία που καθιστούν το ζεβρόψαρο πολύτιμο στην έρευνα είναι το μικρό μέγεθός του, το μικρό κόστος απόκτησής του, ο υψηλός ρυθμός αναπαραγωγής του, τα σχεδόν διαφανή έμβρυά του, τα οποία επιτρέπουν την παρατήρηση των εσωτερικών τους οργάνων κατά την ανάπτυξή τους, η ομοιότητα του γενετικού του υλικού κατά 70% με εκείνο του ανθρώπου, το γεγονός ότι έχει τα ίδια βασικά όργανα με εκείνα του ανθρώπου, με σημαντικές ομοιότητες ως προς τα μορφολογικά και ιστολογικά τους χαρακτηριστικά, το ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της αναγέννησης του καρδιακού του μυός, το οποίο το καθιστά πολύτιμο ζωικό πρότυπο για μελέτες της καρδιακής ανεπάρκειας, το γεγονός ότι υπάρχει πλήρης καταγραφή του γονιδιώματός του καθώς και ότι οι επιστήμονες έχουν δημιουργήσει σημαντικό αριθμό μεταλλάξεων των

γονιδίων του, που βοηθούν στη μελέτη της λειτουργίας τους (Anonymous, 2022). Χρησιμοποιείται σε ένα ευρύ φάσμα μελετών σχετικών με την ανάπτυξη νέων φαρμάκων, το εντερικό μικροβίωμα, την αναγέννηση των ιστών, τη μυϊκή δυστροφία, τον καρκίνο, την ανάπτυξη, την Ανοσολογία, τη Γενετική, τη Φυσιολογία, τη συμπεριφορά, τη διατροφή κ.λπ. (Teame et al., 2019).

24.2. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ-ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ ΖΕΒΡΟΨΑΡΟΥ

Το ζεβρόψαρο είναι ψάρι του γλυκού νερού, που ζει στη νότια Ασία. Προέρχεται από τον ποταμό Γάγγη, στη νότια Ινδία. Ανήκει στην οικογένεια Cyprinidae και την τάξη Cyprinoformes. Η διάρκεια ζωής του είναι, κατά μέσο όρο, 3,5 έτη. Έχει μήκος 2,5-4 cm. Οι προνυμφικές του μορφές είναι διαφανείς και, καθώς αναπτύσσεται σε ενήλικο, εμφανίζει 5 μπλε ρίγες κατά μήκος του σώματός του. Το αρσενικό έχει σχήμα τορπίλης και ανάμεσα στις μπλε ρίγες που διατρέχουν το σώμα του υπάρχουν ρίγες χρυσού χρώματος. Το θηλυκό έχει μεγαλύτερη κοιλιά, λευκωπού χρώματος, και ανάμεσα στις μπλε έχει ασημί ρίγες (Εικόνα 24.2). Ο καθορισμός του φύλου στο ζεβρόψαρο επηρεάζεται, εκτός από το γενετικό του υλικό, και από περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως η διαθεσιμότητα της τροφής, η πυκνότητα των ζώων στη δεξαμενή και το επίπεδο του οξυγόνου στο νερό.



Εικόνα 24.2 Αρσενικό (male) και θηλυκό (female) ζεβρόψαρο.

24.3. ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΖΕΒΡΟΨΑΡΟΥ

Σε συνθήκες εκτροφής στο εργαστήριο, το ζεβρόψαρο είναι ικανό για αναπαραγωγή από την ηλικία των 3 μηνών. Η αναπαραγωγική δραστηριότητα διαρκεί αρκετούς μήνες και μειώνεται με την πάροδο της ηλικίας. Ως βέλτιστη περίοδος αναπαραγωγής θεωρείται η ηλικία από 6 έως 10 μηνών.

Οι τεχνητές συνθήκες περιβάλλοντος που επικρατούν σε συνθήκες εργαστηρίου μιμούνται εκείνες του καλοκαιριού και καθιστούν τα ζεβρόψαρα ικανά προς αναπαραγωγή καθ' όλη τη διάρκεια του έτους. Η αναπαραγωγική δραστηριότητα του ζεβρόψαρου επηρεάζεται σημαντικά από τη φωτοπερίοδο, η οποία θα πρέπει να διαρκεί 14 ώρες. Τόσο στο φυσικό περιβάλλον όσο και σε συνθήκες εκτροφής, το ζεβρόψαρο απελευθερώνει στο περιβάλλον τα ωάρια του το θηλυκό ή το σπέρμα του το αρσενικό, κατά τις πρώτες πρωινές ώρες. Το θηλυκό εναποθέτει αρκετές εκατοντάδες ωάρια σε συσσωματώματα, σε μεσοδιαστήματα των 1-6 ημερών. Το αρσενικό ψεκάζει τα ωάρια με το σπέρμα του προς γονιμοποίηση, σε χρόνο άσχετο από εκείνον της απελευθέρωσης των ωαρίων (asynchronous spawner). Για την αναπαραγωγή, μπορεί να εφαρμοστεί σύστημα συστέγασης ενός αρσενικού με ένα θηλυκό ή ομαδικής συστέγασης, π.χ. δύο αρσενικά με τρία θηλυκά κ.λπ. Για μια ομαλή αναπαραγωγική διαδικασία, προτείνεται τα θηλυκά να συστεγάζονται με αρσενικά, τουλάχιστον μία φορά τον μήνα.

Σε συνθήκες εργαστηρίου, η αναπαραγωγή λαμβάνει χώρα σε στατικές πλαστικές δεξαμενές νερού. Η θερμοκρασία νερού που θεωρείται ιδανική για την αναπαραγωγή είναι 28,5 °C. Υπάρχουν εμπορικά διαθέσιμες ειδικά σχεδιασμένες δεξαμενές που χρησιμοποιούνται για την αναπαραγωγή. Αυτές περιέχουν μία δεξαμενή εντός μίας μεγαλύτερης. Η εσωτερική δεξαμενή φέρει διάτρητο πάτωμα, ώστε να διαφεύγουν τα ωάρια στον πυθμένα της μεγαλύτερης δεξαμενής και έτσι να αποφεύγεται η κατανάλωσή τους από τα ίδια τα ψάρια (Εικόνα 24.3). Οι διασταυρώσεις γίνονται από το απόγευμα ή νωρίς το βράδυ της μιας ημέρας έως το πρωί της επόμενης ημέρας (Nasiadka and Clark, 2012).



Εικόνα 24.3 Δεξαμενή αναπαραγωγής ζεβρόψαρου.

24.4. ΕΚΤΡΟΦΗ

24.4.1. Γενικά

Οι εγκαταστάσεις εκτροφής ψαριών θα πρέπει να είναι σχεδιασμένες κατά τέτοιον τρόπο, ώστε να ελαχιστοποιούν το στρες των ζώων που φιλοξενούν. Το νερό αποτελεί το βασικό στοιχείο για όλα τα είδη ψαριών που εκτρέφονται, δεδομένου ότι τους εξασφαλίζει το απαραίτητο οξυγόνο, ενώ αποτελεί το μέσο για τη διάλυση και απομάκρυνση των προϊόντων του μεταβολισμού τους. Θα πρέπει να λαμβάνεται μέριμνα για τον έλεγχο της ποιότητας του νερού που τροφοδοτεί τις ιχθυοκαλλιέργειες ως προς το μικροβιακό φορτίο του και τη χημική σύστασή του, είτε αυτό προέρχεται από τη θάλασσα είτε από το δίκτυο υδροδότησης. Ο αερισμός και η υγρασία των θαλάμων στους οποίους περιέχονται δεξαμενές ψαριών θα πρέπει να ελέγχονται, ώστε να ελαχιστοποιείται η μεταφορά αερολύματος από δεξαμενή σε δεξαμενή. Η φωτοπερίοδος, η ένταση του φωτός καθώς και η θερμοκρασία νερού της δεξαμενής και του θαλάμου θα πρέπει να ρυθμίζονται με βάση τις ανάγκες των ειδών των καλλιεργούμενων ψαριών (Batt et al., 2005).

Τα υδατικά συστήματα των δεξαμενών μπορεί να είναι είτε στατικά είτε με ροή νερού. Στα τελευταία μπορεί να εφαρμόζεται ανακύκλωση του νερού ή συνεχής ροή του. Σε αυτά όπου εφαρμόζεται ανακύκλωση του νερού ένα μέρος του εξέρχεται του συστήματος με υπερχειλίση, υφίσταται κατάλληλη επεξεργασία σε ειδικά σχεδιασμένες δεξαμενές, ώστε να αποκατασταθεί η ποιότητά του, και επανεισέρχεται στο σύστημα. Σε εκείνα τα συστήματα στα οποία εφαρμόζεται συνεχής ροή το νερό υπερχειλίζει, εξέρχεται της δεξαμενής και απορρίπτεται. Υπάρχουν ωστόσο και ενδιάμεσα συστήματα, που συνδυάζουν τους δύο τύπους (Fisher, 2000).

24.4.2. Εκτροφή του ζεβρόψαρου

Το ζεβρόψαρο διατηρείται σε δεξαμενές νερού χωρητικότητας 1-11 L με ή χωρίς μετακινούμενο διαχωριστικό διάφραγμα. Αυτές μπορεί να είναι γυάλινες, ακρυλικές, από fiberglass, πολυανθρακικές ή πολυσουλφονικές. Σε αυτές συνήθως υπάρχουν ενσωματωμένα σιφόνια, για την αποτελεσματική απομάκρυνση των ακαθαρσιών με υπερχειλίση. Στις δεξαμενές προστίθενται τεχνητά φυτά ή άλλα διακοσμητικά (π.χ. πέτρες), για εμπλουτισμό του περιβάλλοντος. Διατίθενται σύγχρονα συστήματα συστοιχιών δεξαμενών με φιλτράρισμα του νερού, θέρμανση του νερού και αισθητήρες του επιπέδου του νερού στις δεξαμενές.



Εικόνα 24.4 Συστοιχία δεξαμενών διατήρησης ζεβρόψαρων.

Ο μέγιστος αριθμός ζεβρόψαρων που μπορούν να φιλοξενηθούν σε κάθε δεξαμενή εξαρτάται από το μεγέθος τους και τη φάση τη ζωής του ψαριού. Η συνήθης αποδεκτή πυκνότητα ψαριών είναι 5-10 ενήλικα ανά λίτρο δεξαμενής, ενώ αυτή αυξάνεται όταν πρόκειται για προνύμφες.

Το νερό των δεξαμενών θα πρέπει να πληροί ορισμένες προδιαγραφές, οι οποίες ελέγχονται σε τακτική βάση (Πίνακας 24.1). Το νερό που πρόκειται να χρησιμοποιηθεί προτείνεται να υφίσταται προηγούμενη επεξεργασία με μεθόδους, όπως αντίστροφη όσμωση, απιονισμό ή συνδυασμό των δύο. Ακολουθεί ο εμπλουτισμός του με συνθετικά θαλάσσια άλατα σε ειδικές αποθηκευτικές δεξαμενές, πριν από την είσοδό του στο σύστημα υδροδότησης των δεξαμενών. Στα σύγχρονα συστήματα στέγασης ζεβρόψαρων διενεργείται ο έλεγχος και η ρύθμιση της ποιότητας του εισερχόμενου νερού μέσω αυτοματοποιημένων συστημάτων, που είναι προσαρτημένα στο σύστημα των συστοιχιών των δεξαμενών (Lawrence and Mason, 2012).

Πίνακας 24.1 Προδιαγραφές νερού δεξαμενών ζεβρόψαρων (Lawrence and Mason, 2012).

Παράμετροι	Τιμές	Συχνότητα ελέγχου
pH	6,5-8,5	Συνεχής, ημερήσια
Αλμυρότητα	0-5 g/L	Συνεχής, ημερήσια
Αλκαλικότητα	50-150 mg/L	Μηνιαία
Σκληρότητα	75-200 mg/L	Μηνιαία
Αμμωνιακό άζωτο	0 mg/L	Ημερήσια, εβδομαδιαία
Νιτρώδη	0 mg/L	Ημερήσια, εβδομαδιαία
Νιτρικά	<200 mg/L	Ημερήσια, εβδομαδιαία
Διαλυμένο O ₂	>4 mg/L	Συνεχής, μηνιαία
CO ₂	<20 mg/L	Μηνιαία
Θερμοκρασία	24-30 °C	Συνεχής, ημερήσια

Για την απομάκρυνση των ακαθαρσιών των δεξαμενών των ζεβρόψαρων, μπορούν να χρησιμοποιηθούν συστήματα είτε συνεχόμενης ροής είτε ανακύκλωσης του νερού. Στα σύγχρονα συστήματα στέγασης εφαρμόζεται το σύστημα ανακύκλωσης του νερού, για οικονομικούς αλλά και οικολογικούς λόγους.

24.4.3. Διατροφή του ζεβρόψαρου

Το ζεβρόψαρο είναι παμφάγο και στη φύση καταναλώνει ποικιλία τροφών (ευρυφάγο), συμπεριλαμβανομένων του ζωοπλαγκτόν, φυτοπλαγκτόν, εντόμων και των προνυμφών τους, κάποιων καρκινοειδών, της άλγης κ.λπ. Στις εγκαταστάσεις εκτροφής κοινή πρακτική αποτελεί η καθημερινή χορήγηση εμπορικά διαθέσιμης τροφής, σε ποσότητα που αντιστοιχεί στο 4% του σωματικού του βάρους (Teame et al., 2019). Τα ενήλικα ταΐζονται δύο φορές την ημέρα. Η σύσταση και η ποσότητα της τροφής διαφέρουν, ανάλογα με την ηλικία (προνύμφες, ενήλικα). Οι εμπορικά διαθέσιμες τροφές είναι σε μορφή pellets ή νιφάδων. Συμπληρωματικά, μπορούν να χορηγούνται ζωντανά ή κατεψυγμένα συμπληρώματα διατροφής, όπως είδη *Artemia nauplii* (είδος γαρίδας), προνύμφες *Drosophila* (φρουτόμυγα) κ.λπ.

24.5. ΣΥΛΛΗΨΗ

Σε όσα ψάρια πρόκειται να γίνουν χειρισμοί εφαρμόζεται προηγούμενως νηστεία. Τα ψάρια δεν θα πρέπει να διατηρούνται εκτός νερού για διάστημα μεγαλύτερο των 30 sec. Όπου υπάρχει η δυνατότητα, θα πρέπει να αποφεύγεται η απευθείας έκθεσή τους στο φως και τις απότομες μεταβολές της έντασής του.

Για τη σύλληψή τους, αποφεύγεται η χρήση δικτυωτής απόχης, καθότι προκαλεί τραυματισμό των λεπιών τους. Έτσι, χρησιμοποιούνται είτε απόχη με πλαστική σακούλα (bag net) είτε ειδικοί περιέκτες με συμπαγή τοιχώματα (box trap). Κάθε δεξαμενή θα πρέπει να έχει το δικό της μέσο σύλληψης.

24.6. ΣΥΛΛΟΓΗ ΩΑΡΙΩΝ – ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΟΥΣΙΩΝ – ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ

Υπάρχουν επιστημονικές αποδείξεις ότι τα ψάρια, όπως και τα υπόλοιπα σπονδυλωτά, βιώνουν πόνο και ταλαιπωρία και επομένως όλοι οι χειρισμοί που γίνονται σε αυτά θα πρέπει να αποσκοπούν στην ελαχιστοποίησή τους (Reed and Jennings, 2011). Όλοι οι χειρισμοί τους θα πρέπει να γίνονται με υγρά γάντια.

Συλλογή ωαρίων

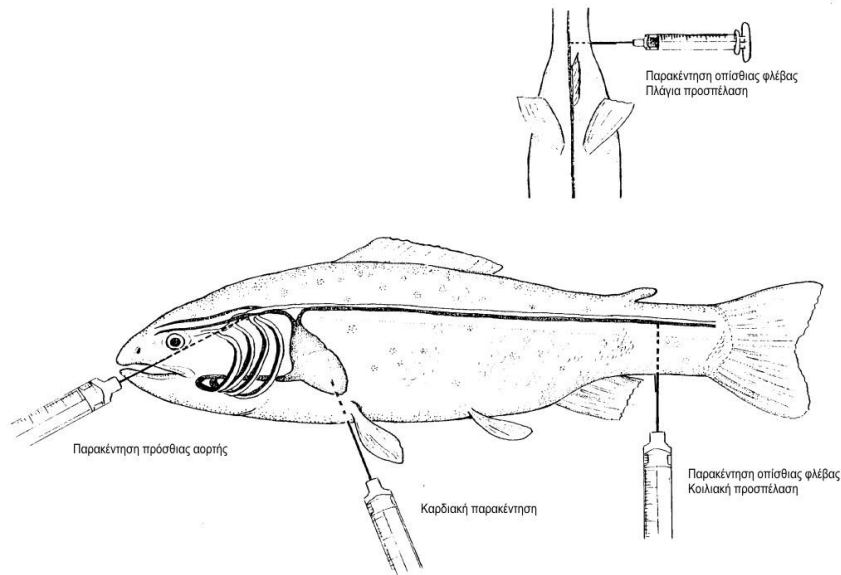
Η συλλογή ωαρίων γίνεται για χρήση τους για επιστημονικούς σκοπούς. Δίνεται έμφαση στην ποιότητα, παρά στον αριθμό των συλλεχθέντων ωαρίων. Υπάρχουν δύο μέθοδοι συλλογής στα ζεβρόψαρα: α) μετά από διασταύρωση και β) με μηχανική πίεση της κοιλίας των θηλυκών. Σύμφωνα με την πρώτη μέθοδο, τα ωάρια συλλέγονται από τον πυθμένα της δεξαμενής αναπαραγωγής, αφότου έχουν διέλθει διαμέσου του διάτρητου δαπέδου της μικρότερης εσωτερικής δεξαμενής, στην οποία έχουν τοποθετηθεί τα ζεβρόψαρα. Σύμφωνα με τη δεύτερη μέθοδο, τα θηλυκά ζεβρόψαρα απομακρύνονται με απόχη ή έναν πλαστικό περιέκτη από τη δεξαμενή, τοποθετούνται πάνω σε χάρτινη πετσέτα για να στραγγίσουν και στη συνέχεια πάνω σε ένα πλαστικό πιάτο. Ένα δάκτυλο του ενός χεριού του χειριστή τοποθετείται στα πλάγια του ψαριού, ενώ με ένα δάκτυλο του άλλου χεριού του ασκείται ήπια πίεση στην κοιλία του ψαριού, προκειμένου να εξαχθούν τα ωάρια.

Χορήγηση ουσιών

Ο όγκος ουσιών που χορηγούνται από το στόμα δεν θα πρέπει να ξεπερνά το 1% του σωματικού βάρους των ψαριών (1 mL / 100 g ΣΒ). Η ενδομυϊκή έγχυση γίνεται συνήθως πάνω από τη μέση γραμμή, στους μυς κάτω από το ραχιαίο πτερύγιο. Προς αποφυγή του τραυματισμού των λεπιών, η εισαγωγή της βελόνας γίνεται ανάμεσα σε αυτά. Η ενδοπεριτοναϊκή έγχυση γίνεται μεταξύ του κοιλιακού πτερυγίου και της έδρας, με κατεύθυνση της βελόνας προς την κεφαλή και επί της μέσης κοιλιακής γραμμής (Stoskopf and Posner, 2008).

Αιμοληψία

Η αιμοληψία γίνεται σε αναισθητοποιημένα ψάρια. Αυτά συλλαμβάνονται και τοποθετούνται σε συσκευή συγκράτησης σχήματος V, σε ραχιαία κατάκλιση. Χρησιμοποιείται σύριγγα με βελόνα 22 G ή μικρότερης διαμέτρου για μικρόσωμα ψάρια. Προτιμάται η αιμοληψία από την οπίσθια φλέβα (caudal vein). Αιμοληψία μπορεί επίσης να γίνει από τη ραχιαία αορτή με καρδιακή παρακέντηση ή με διατομή της ουράς, αν πρόκειται για ψάρια που δεν επιθυμείται η επιβίωσή τους (Εικόνα 24.5) (Ferguson, 2005). Αποφεύγεται η αιμοληψία από μικρόσωμα ζωντανά ψάρια. Σε αυτά εφαρμόζεται αιμοληψία σε όσα δεν επιθυμείται η επιβίωσή τους.



Εικόνα 24.5 Σημεία αιμοληψίας στο ψάρι (Ferguson, 2005).

24.7. ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ

Εφαρμόζεται προαναισθητική στέρηση τροφής για 24 ώρες. Το αναισθητικό εκλογής για εγκατάσταση της αναισθησίας στο ζεβρόψαρο είναι η τρικαΐνη (tricaine methanesulphonate, MS222). Το ψάρι εμβάπτιζεται σε λουτρό που περιέχει υδατικό διάλυμα τρικαΐνης σε συγκέντρωση 100-200 mg/L. Το διάλυμα ρυθμίζεται με διττανθρακικό νάτριο, ώστε το pH του να κυμαίνεται μεταξύ 7 και 7,5. Για τη διατήρηση της αναισθησίας, το ζεβρόψαρο παραμένει εμβάπτισμένο σε διάλυμα MS222 συγκέντρωσης 50-100 mg/L. Άλλες μέθοδοι αναισθησίας που χρησιμοποιούνται στο ζεβρόψαρο περιλαμβάνουν την προοδευτική ψύξη του νερού της δεξαμενής έως θερμοκρασίας 10 °C, την εμβάπτισή του σε λουτρό διαλύματος υδροχλωρικής ξυλοκαΐνης (325 mg/L) ή υδροχλωρικής μετομιδάτης (6-10 mg/L) (Collymore et al., 2014).

Τα στάδια της ηρέμησης και αναισθησίας μπορούν να ελεγχθούν με βάση τον τρόπο πλεύσης του ψαριού, τον αναπνευστικό του ρυθμό, τον καρδιακό του ρυθμό και την αντίδρασή του σε εξωτερικά ερεθίσματα (αντίδραση στην απειλή και το αντανακλαστικό επανόρθωσης). Ο αναπνευστικός ρυθμός ελέγχεται με παρατήρηση της κίνησης των βραγχίων του. Για τον έλεγχο του καρδιακού ρυθμού, είναι απαραίτητη η εφαρμογή μεθόδων, όπως η ακρόαση με διοισοφάγιο στηθοσκόπιο, το ηλεκτροκαρδιογράφημα ή η υπερηχοτομογραφία της καρδιάς. Η αντίδρασή του στην απειλή γίνεται πλησιάζοντας το δάκτυλό μας σε έναν οφθαλμό του, γεγονός το οποίο έχει ως επακόλουθο την προσπάθεια του ψαριού να κινηθεί. Το αντανακλαστικό της επανόρθωσης ελέγχεται φέροντας το ψάρι σε ραχιαία κατάκλιση, ενώ βρίσκεται στο νερό, με αποτέλεσμα αυτό να επιχειρεί να επανέλθει στην αρχική του στάση (Stoskopf and Posner, 2008).

24.8. ΕΥΘΑΝΑΣΙΑ

Πριν από την ευθανασία, εφαρμόζεται στέρηση τροφής για 12-24 ώρες. Μειώνεται κατά το δυνατό η ένταση του φωτός του περιβάλλοντος. Το νερό πρέπει να έχει τις ίδιες προδιαγραφές με εκείνο της δεξαμενής στην οποία διατηρούνται τα ψάρια.

Η ευθανασία μπορεί να εφαρμοστεί σε ένα στάδιο, με την εμβάπτιση του ψαριού σε λουτρό με υδατικό διάλυμα αναισθητικής ουσίας σε υπερδοσολογία. Ωστόσο, σε ορισμένα είδη ψαριών τα οποία είναι ανθεκτικά στην υποξία, όπως το χρυσόψαρο, η μέθοδος αυτή μπορεί να μην είναι αποτελεσματική. Σε αυτές τις περιπτώσεις, εφαρμόζεται αναισθησία σε δύο στάδια: α) εμβάπτιση του ψαριού, για επίτευξη απώλειας συνείδησης, και β) ολοκλήρωση της ευθανασίας με φυσική μέθοδο, π.χ. αποκεφαλισμό, καταστροφή εγκεφάλου με βελόνα ή κατάψυξη.

Ουσίες που χρησιμοποιούνται για ευθανασία με εμβάπτιση είναι το ρυθμιστικό διάλυμα υδροχλωρικής βενζοκαΐνης (≥ 250 mg/L), το ρυθμιστικό διάλυμα τρικαΐνης (MS222) (250-500 mg/L), το διοξείδιο του άνθρακα, η αιθανόλη (10-30 mL αιθανόλης 95% ανά λίτρο), η ευγενόλη, η ισοευγενόλη, το γαρυφαλέλαιο, το

ισοφλουράνιο, το σεβοφλουράνιο, η θειική κουιναλδίνη, η 2-φαινοξυαιθανόλη και η ξυλοκαΐνη. Επίσης, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ενέσιμες ουσίες για ευθανασία, όπως η πεντοβαρβιτάλη και η κεταμίνη.

Στις φυσικές μεθόδους ευθανασίας περιλαμβάνονται α) ο αποκεφαλισμός, που ακολουθείται από καταστροφή του εγκεφάλου με βελόνα, β) η πλήρης διατομή του τραχήλου, που ακολουθείται από καταστροφή του εγκεφάλου με βελόνα, γ) η αποπληξία, που ακολουθείται από καταστροφή του εγκεφάλου με βελόνα ή αφαίμαξη, δ) η διάτρηση του εγκεφάλου με τη βοήθεια όπλου εκτινασσόμενης διατρητικής ράβδου και ε) η ταχεία ψύξη (Leary et al., 2020).

Για το ζεβρόψαρο συστήνεται η ευθανασία με α) εμβάπτισή του σε νερό θερμοκρασίας 2-4 °C (θα πρέπει να παραμείνει τουλάχιστον για 10 min εντός του νερού, μετά τη διακοπή της κίνησής του), β) εμβάπτιση σε ρυθμιστικό διάλυμα τρικαΐνης (250-500 mg/L) για τουλάχιστον 30 min ή γ) εμβάπτιση σε ρυθμιστικό διάλυμα τρικαΐνης (100-200 mg/L) που ακολουθείται από αποκεφαλισμό, αφαίμαξη, κατάψυξη ή χημική μέθοδο καταστροφής της εγκεφαλικής λειτουργίας (Anonymous, 2020).

Ο θάνατος επιβεβαιώνεται από την απώλεια της κινητικότητας, την απώλεια αντίδρασης σε εξωτερικά ερεθίσματα, την πλαδαρότητα του σώματος (πριν από την εγκατάσταση νεκρικής ακαμψίας), τη διακοπή της αναπνοής για τουλάχιστον 30 min και τη διακοπή κίνησης των οφθαλμών.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Anonymous (2019). European Commission. Report from the Commission to the European Parliament and the Council. 2019 report on the statistics on the use of animals for scientific purposes in the Member States of the European Union in 2015-2017. <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/04a890d4-47ff-11ea-b81b-01aa75ed71a1>
- Anonymous (2020). Guidelines for Use of Zebrafish in the NIH Intramural Research Program. https://oacu.oir.nih.gov/system/files/media/file/2021-02/b17_zebrafish.pdf
- Anonymous (2022). Why use the zebrafish in research? Your genome. <https://www.yourgenome.org/facts/why-use-the-zebrafish-in-research>
- Batt, J, et al. (2005). The CCAC guidelines on: the care of use of fish in research, teaching and testing. Canadian Council on Animal Care. <https://ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Fish.pdf>
- Collymore, C., Tolwani, A., Lieggi, C., & Rasmussen, S. (2014). Efficacy and safety of 5 anesthetics in adult zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 53, 198-203.
- Ferguson, H. (2005). Blood sampling standard operating procedure. Aquatic animal diseases lab manual. <https://www.uoguelph.ca/ib/sites/uoguelph.ca.ib/files/public/fishbloodsamplingSOP.pdf>
- Fisher J.P. (2000). Facilities and husbandry (large fish models). In G.K. Ostrander (Ed.), *The Laboratory Fish* (pp. 13-39). Academic Press. ISBN: 978-0-12-529650-2
- Lawrence, C., & Mason, T. (2012). Zebrafish housing systems: a review of basic operating principles and considerations for design and functionality. *ILAR journal*, 53, 179-191. <http://doi.org/10.1093/ilar.53.2.179>
- Leary, S., et al. (2020). AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition. <https://www.avma.org/sites/default/files/2020-01/2020-Euthanasia-Final-1-17-20.pdf>
- Nasiadka, A., & Clark, M.D. (2012). Zebrafish breeding in the laboratory environment. *ILAR Journal*, 53, 161-168. <http://doi.org/10.1093/ilar.53.2.161>
- Reed, B., & Jennings, M. (2011). Guidelines on the housing and care of zebrafish *Danio rerio*. <https://www.aalac.org/pub/?id=E9019693-90EC-FC4A-526E-E8236CC13B28>
- Stoskopf, M., & Posner, L.P. (2008). Anesthesia and restraint of laboratory fish. In D.F. Kohn, S.K. Wixson, W.J. White, & G.J. Benson (Eds.), *Anesthesia and analgesia in laboratory animals*. 2nd edition (pp. 519-534). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-373898-1.X5001-3>
- Teame, T., Zhang, Z., Ran, C., Zhang, H., Yang, Y., Ding, Q., Xie, M., Gao, C., Ye, Y., Duan, M., & Zhou, Z. (2019). The use of zebrafish (*Danio rerio*) as biomedical models. *Animal Frontiers*, 9, 68-77. <http://doi.org/10.1093/af/vfz020>

Το παρόν σύγγραμμα χρηματοδοτήθηκε από το Πρόγραμμα Δημοσίων Επενδύσεων του Υπουργείου Παιδείας