

**ÁLLATKÍSÉRLETEK AZ
ORVOSTUDOMÁNYBAN –
GYAKORLATI TANFOLYAM**

SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM

A RÁGCSÁLÓK SZÜKSÉGLETEI, GONDOZÁSA. AZ ÁLLATHÁZ HIGIÉNIÁJA, FELÉPÍTÉSE, MUNKA FOLYAMATAI. FERTŐTLENÍTÉS, KARANTÉNEZÉS. TENYÉSZTÉS, REGISZTRÁCIÓ, JELÖLÉS

Dr. Jánossy Tamás, SZTE, ÁOK, Sebészeti Műtéttani Intézet

A RÁGCSÁLÓK SZÜKSÉGLETEI, GONDOZÁSA

Kis laboratóriumi emlősök: egér, patkány, tengerimalac, hörcsög, nyúl

Ezek a leggyakrabban használt kísérleti állatok: kis helyigény, szaporaság, rövid tenyésztési idő

Főbb jellemzőik:

Egér és patkány: testsúly, élettartam, ivarérettség, tenyészettség, vemhesség időtartama, alomnagyság, táplálék- és vízfogyasztás, viselkedés, rosszul tűrt környezeti tényezők.

Tengerimalac: C-vitaminszintézis hiánya, C-vitaminpótlás szükséges

Házinyúl: laboratóriumi táp, széna-kiegészítés

Táplálék, ivóvíz: *ad libitum*

Egységes (standard) préselt táp: az egereket, patkányokat ugyanazzal a táppal etetjük.

A tápigényt befolyásoló tényezők: életkor, növekedés, vemhesség, szoptatás, hőmérséklet, a nappalok hossza, a mikrobiológiai környezet

Általában természetes anyagokból készülnek: gabonák, lisztek, magvak, premixek.

Összetevőik: fehérje (limitáló aminosavak), szénhidrátok, zsírok, ásványi anyagok, vitaminok, rostok, hasznosítható energiatartalom. Tárolás, takarmányhibák

Ivóvíz: naponta (de min. hetente 2x) friss ivóvíz. Egerek, patkányok napi vízfogyasztása

ÁLLATHÁZ

A megfelelő, szabályozott életkörülmények, csíraszegény vagy steril környezet biztosítása

Három higiéniai fokozat:

„A” szint: csíramentes izolátor: csíramentes (germ-free, gnotobiotikus) állatok tartására

„B” szint: kórokozómentes állatház: kórokozómentes [specified pathogen free, (SPF)] állatok tartására

„C” szint: konvencionális állatház: javított C-szint: minimal disease (MD)

Az állatház felépítése és helyiségei: állattartó helyiségek (tenyésztő, ill. kísérletiállat-tartó szobák; kiszolgáló helyiségek (mosogató-fertőtlenítő, raktárak, személyzeti és műszaki) és kapcsolatrendszerük, sziliprendszerek. Építészeti jellemzők (könnyen lemosható,

fertőtleníthető felületek), világítás, zaj, hőmérséklet, páratartalom, légcseré (gépi szellőztetés, légkondicionálás, levegő túlnyomás, a levegő sterilizálása)

Állatketrecek: egér, patkány: fémrács fedő, polipropilén, polikarbonát vagy poliészter-karbonát alj; állománysűrűség

Itatók: üveg- vagy átlátszó műanyagpalack szopókával (rendszeres mosogatás, fertőtlenítés); automata itatórendszerek

FERTŐTLENÍTÉS

Sterilizálás, dezinfekció. Fertőtlenítő eljárások (fizikai: hő, sugárzás, szűrés; kémiai).

Fertőtlenítőszer. A takarmány, a ivóvíz, az alomanyag és a levegő csíraszámának csökkentése, sterilizálása. Személyi higiénia, kézfertőtlenítés, beöltözés, a személyzet mozgásának korlátozása

Állatházi munkafolyamatok: Alomanyagok, alomcsere, a ketrecek, fedők mosogatása és fertőtlenítése. Az állatok etetése, itatása, az itatóedények mosogatása, fertőtlenítése. A helyiségek takarítása, fertőtlenítése. Állatházi hulladékok kezelése: veszélyes hulladék

AZ ÁLLATOK BE- ÉS KIZSILIPELÉSE. KARANTÉNEZÉS

Az állatházba kívülről beszállított nem SPF állatokat karanténban (vesztégzár) kell tartani.

Időtartama: az esetleges fertőzőbetegségek lappangási ideje (átlagosan 1-4 hét). Elkülönítés, külön személyzet, kifelé zsilipelés

SPF állatok SPF vagy konvencionális állatházba érkezése esetén csak pihentetés, akklimatizáció (8-16 nap)

A RÁGCSÁLÓK TENYÉSZTÉSE

Kültenyésztés: a rokontenyésztés elkerülése: genetikailag változatos állomány [<100 tenyészpár (minimális szám: 16): a rokontenyésztés maximális elkerülése (pontos törzskönyvezés!); >100 tenyészpár: rotációs vagy random tenyésztés; a beltenyésztési együttható $<1\%$). A kültenyésztett (outbred) állomány egyedei *heterozigóták* és *anizogének* (változatos genotípusúak).

Rokontenyésztés: 4 nemzedéken belüli közös őst a családfában

Beltenyésztés: szigorú rokontenyésztés: sorozatos testvér-testvér, gyermek-szülő párosztatás → növekvő homozigotás (genetikai sodródás). Ez zárt kültenyésztésben is megfigyelhető.

>20 nemzedéken át végzett alomtestvér-alomtestvér (szülő-utód) párosztatás → beltenyésztett törzs: az összes lokusz 98,4%-a homozigóta ($F=98,4\%$).

Beltenyésztett (inbred) törzs: egyedei *homozigóták* és *izogének* (azonos genotípusúak).

Fenntartása: a ritka mutációk miatt testvér-testvér pároztatással.

Szigorú törzskönyvezés szükséges (a szülőpárok beállításának, a szüléseknek az időpontja, a megszületett és felnevelt utódok száma, elnevezése, sorsa, felhasználása)

A tenyésztésre váró hímeket, ill. nőtényeket külön dobozban tartjuk a pároztatásig (2-3 hónapos kor).

A tenyésztési adatok alapján visszamenőleg a legtermékenyebbnek bizonyult vonalat kiválasztjuk: a legjobb „őspár” kiválasztása

A kísérletre kerülő állatokat nemként külön dobozokban gyűjtjük (1-2 hétnél több korkülönbség ne legyen köztük), és külön regisztráljuk.

Háremtenyészet (random): egy dobozban 4-5 nőtény és 2 hím. Törzsfenntartásra nem alkalmazható, csak egy generációban kísérleti állatok előállítására.

Az állatok nyilvántartása: törzskönyv, kísérletre váró állatok nyilvántartása, létszámnyilvántartás. Tápnilyvántartás

A rágcslók jelölése: füljelölés bemetszéssel, lyukasztással, klippel, nagyobb állatoknál chip is alkalmazható.

A STERIL KÖRÜLMÉNYEK KÖZÖTT VÉGZETT MUNKA

Dr. Erős Gábor – SZTE ÁOK Sebészeti Műtéttani Intézet

A kísérlet sikere szempontjából sokszor követelmény, hogy a beavatkozások steril körülmények között történjenek. A sterilitás definíciója: az életképes mikroorganizmusok hiánya, a teljes csíra mentesség, amelyet különböző fizikai és kémiai behatásokkal, módszerekkel, eszközökkel lehet elérni. A fertőzések elkerülése érdekében a felhasznált eszközöknek sterileknek kell lenniük, a kísérletezőnek pedig figyelmet kell fordítania az aszepszis és antiszepszis szabályainak betartására.

Az aszepszis olyan ténykedések és eljárások összessége, melyek célja a kontamináció megelőzése. Az antiszepszis alatt pedig olyan eljárásokat értünk, melyek célja a tárgyakon, bőrön, sebben már fennálló, meglévő kontamináció leküzdése fertőtlenítéssel, dezinfekcióval. Napjainkra az aszepszis már részletesen kidolgozott rutin eljárássá vált.

- A beavatkozás előtt bemosakodást, kézfertőtlenítést kell végezni
- A beavatkozás közben steril műtősköpenyt és gumikesztyűt kell viselni (A bemosakodás nem teszi a kéz bőrét sterillé!)
- Az állat bőrét fertőtleníteni kell
- A műtéti területet izolálni kell

A bemosakodás lépései:

- Átöltözés (bemosakodó ruha és műtői cipő vagy lábzsák)
- Sapka és maszk felvétele (a maszknak szorosan illeszkednie kell az arcra és az orra)
- Az órát, gyűrűt, karkötőt levesszük
- Higiénés kézmosás szappannal
- Öblítés
- A körmök tisztítása szappanos körömkefével (Körömkefével csak a körmöket szabad tisztítani!)
- Öblítés
- A kéz és az alkar szappanos tisztítása
- Öblítés

- Az adagolóból egy adag dezinficiens oldatot pumpálunk a tenyerünkbe, és azt a kéz és az alkar bőrébe dörzsöljük (A bedörzsölést egy harántujjnyival a könyök alatt fejezzük be.) A bedörzsölés ideje: 1 perc
- A bedörzsölést még négyszer megismételjük (4x1 perc). A második alkalommal a könyök alatt három harántujjal, a harmadiknál az alkar közepén fejezzük be. A negyedik adaggal a kezet és a csuklót dörzsöljük be, az ötödikkel csak a csuklót

A steril köpeny felvétele:

- A dobozból kivesszük a hozzánk legközelebb eső köpenyt, a másik kezünkkel visszatartjuk a többit
- Hátrébb lépünk a doboztól; a köpeny ne érjen nem steril felszínhez!
- A köpeny nyaki részét megfogjuk, és magunktól eltartva hagyjuk kibomlani
- A köpenyt széthajtjuk úgy, hogy a belső felszíne felénk nézzen
- A köpenyt a nyakrészénél fogva kissé feldobjuk a levegőbe, és mindkét kezünket egyszerre, határozott mozdulattal a nyílásba vezetjük
- A mögöttünk álló asszisztens a köpenyt a karunkra és a vállunkra húzza, a helyére igazítja, és a hátsó szalagok segítségével rögzíti

A műtősköpeny bizonyos részei nem tekinthetők sterilnek felvétel után:

- A háta és a hónalja
- Az axillaris vonaltól oldalra eső terület
- A derék alatti rész
- A ruha ujja válltól a könyék felett 10 cm-ig

A gumikesztyű felvétele:

- A műtősnő először a balkezes kesztyűt tartja elének. Jobb kezünk mutatóujját a nyílásba belülről beakasztva a nyílást nagyobbra tágítjuk, és bal kezünket határozott mozdulattal a kesztyűbe dugjuk
- A jobbkezes kesztyűt az előzőhöz hasonlóan tartja felénk a műtősnő, ekkor bal kezünk kesztyűs mutatóujjával kívülről, a visszahajtott mandzsetta alá nyúlva tágítjuk ki a kesztyű nyílását, és jobb kezünket a kesztyűbe dugjuk

A műtéti terület lemosása:

- A lemosást a bemosakodás után, de a steril köpeny felvétele előtt végezzük
- A lemosást magfogóba fogott steril gézgombócokkal („bucikkal”) végezzük, és povidon-jodidot vagy alkoholos lemosószert használunk
- Aszeptikus beavatkozásnál a tervezett metszéstől indulva a periféria felé haladunk, a tervezett metszésvonallal párhuzamosan

A műtéti terület izolálása:

- A lemosott területet steril textíliával vagy vízhatlan papírral el kell különíteni a nem fertőtlenített területektől
- Az izoláláshoz négy darab izolálókendőt vagy lepedőt használunk
- A kendőket a felhelyezés után a műtéti terület felé már nem mozgathatjuk, csak a periféria felé

Metabolikus kórképek állatkísérletes modelljei

(diabetes, diszlipidémia,
hiperurikémia)

Dr. Zupkó István, tszvez. egy. docens
SZTE Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai
Intézet

- Diabetes, hiperglikémia
- Hiperurikémia
- Hiperlipidémia

- In vivo & in vitro módszerek

In vivo DM modellek

- Pancreatectomia Beagle kutyán (1890)
10% glükóz, 10 IU/L inz: 1L/nap, 3 napig
Krónikusan: 30-40 IU inz, pancreas enzimek,
3 havonta D-vit
- Hormonális DM
Kutya, macska: ismételt GH → DM
Tmalac, nyúl: glükokortikoid → DM
Patkány: glükokort + erőltetett etetés → DM
- Immunmediált DM: többszöri inz tmalacnak → inz ellenanyag
Patkánynak iv: hiperglikémia

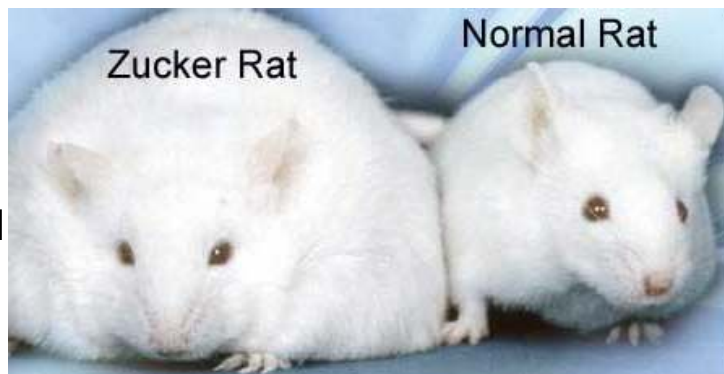
- Glükóz csökkentése nyúlön (Ph Hg): 18 h éheztetés – 0,2 IU/kg → 60 min: 25% csökkenés
8 nap washout
standardok melletti kezelés, 60 & 150 min mérés
- Hipoglikémiás görcs egéren: sc inz, 90 min megfigyelés: elhullás, görcs, háton fekvés

Spontán DM állatok

- Defektív leptin pathway
- BB (Bio Breeding) rat: autoimmun insulitis, 60-120 nap: gyors DM, mikofenolátra szenz
- WBN/KOB rat: Wistar-törzs, öreg ♂: lassú spontán glükóz intoler → DM
- Cohen rat: hiperinzulinémia, inz rezisztencia

- Goto-Kakizaki rat: non obese, inz rezisztens, inbred Wistar, NIDDM
- Zucker fatty rat: obesitas modell, hiperinzulin, glükóz intolerancia, inz rezisztens, éhomi glükóz: ~ norm

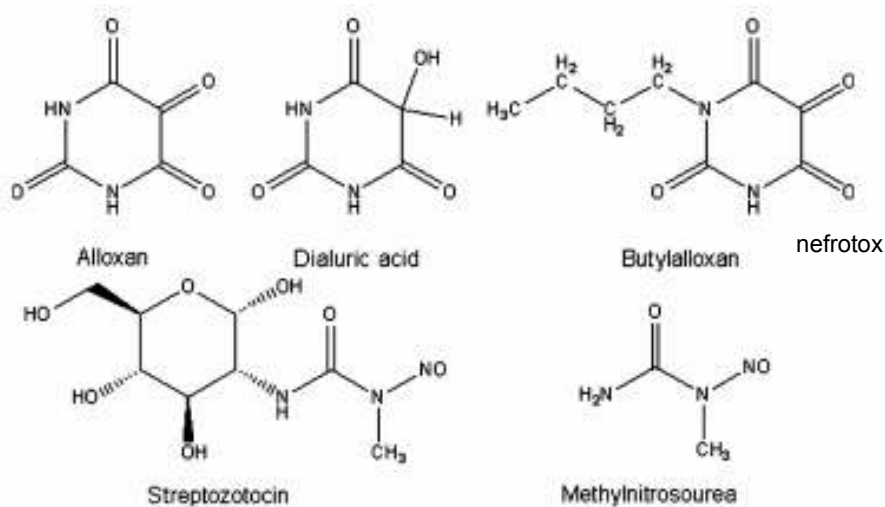
- Zucker diabetic fatty rat: ~20 mM glükóz



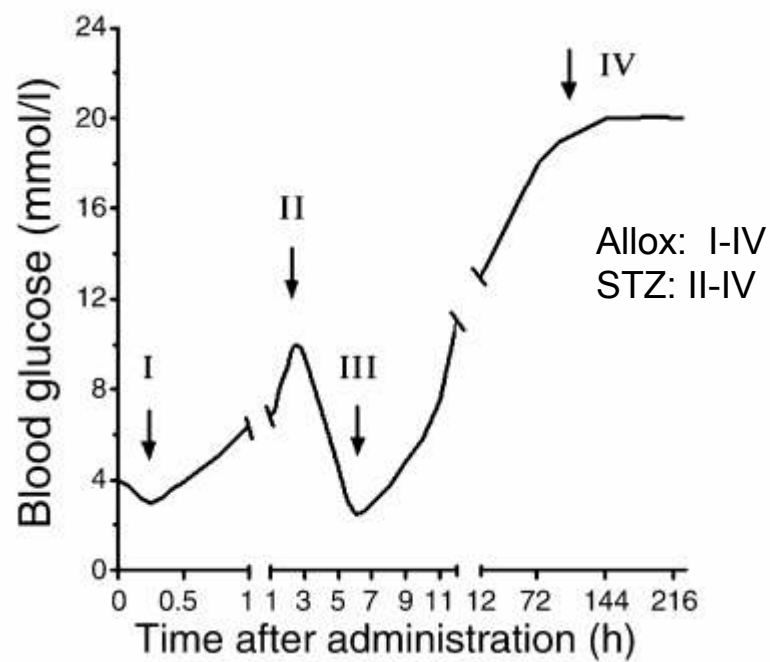
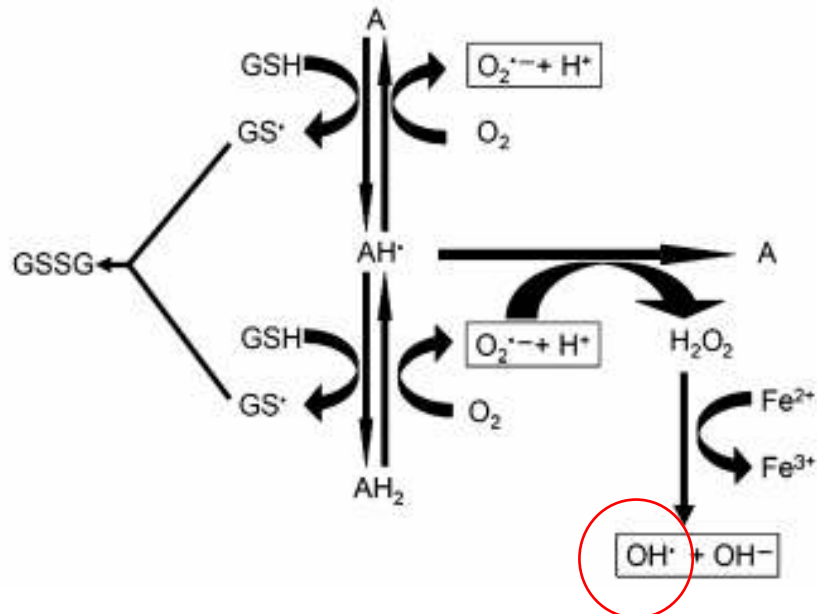
Indukált diabetes modellek

- Szelektív toxicitás a β -sejtekre: GLUT2 (vs máj)
- Alloxán: 65 mg/kg iv (150 mg/kg ip),
éheztetés után hatékonyabb,
hiperglikémia parciálisan véd
- Mech: glükokináz inhibitor, ROS-generátor
- Kivédhető:
3-O-metilglükóz (GLUT2 komp)
antioxidánsok (SH-donorok) – paradox hatás

Diabetogén szerek: citotoxikus glükóz-analógok (glükomimetikum)

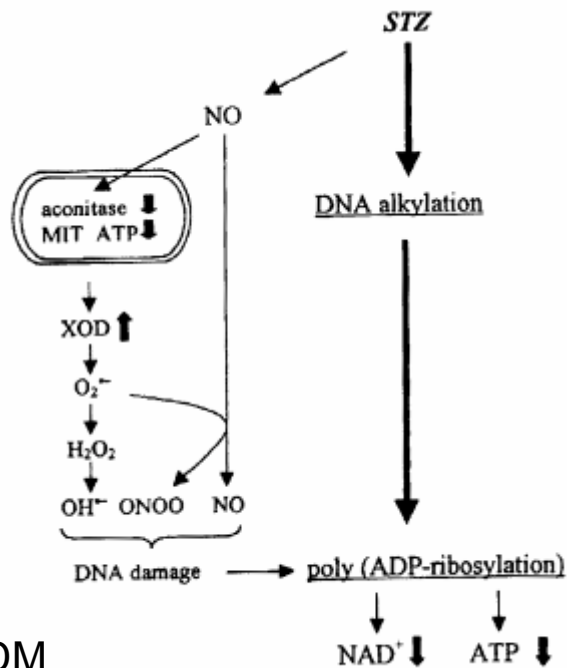


Alloxán DM

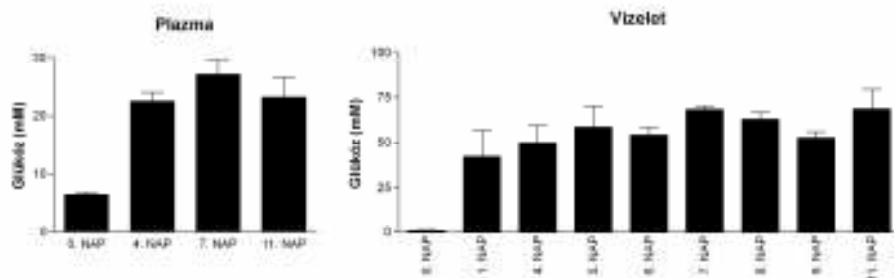


STZ

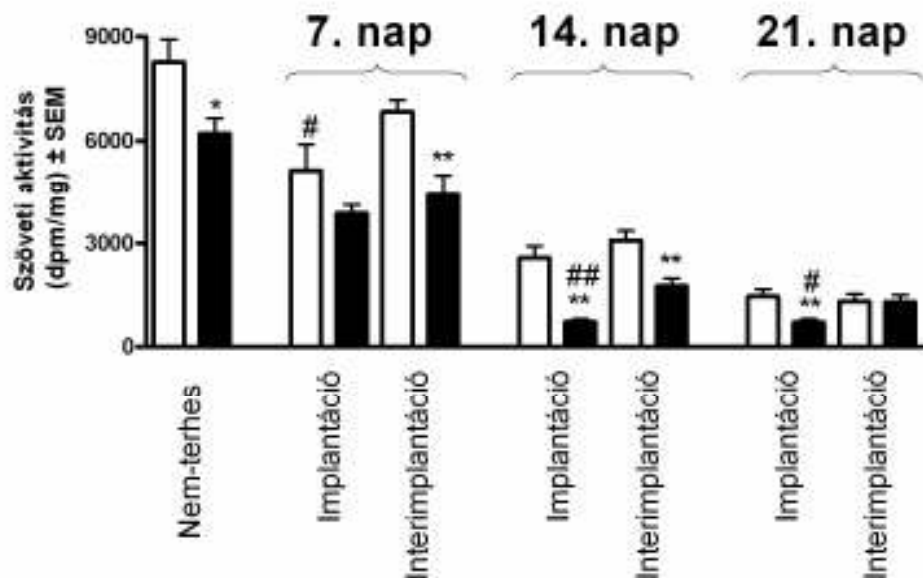
- Alkilálószer
- Szelektív uptake: GLUT2 (egyéb tox)
- NAD & ATP dep
- PARP inhib: kivéd
- ROS: ??
- 40-60 gm/kg iv/ip
- 100 mg/kg ip
- Többszöri kis D: immunmediált DM



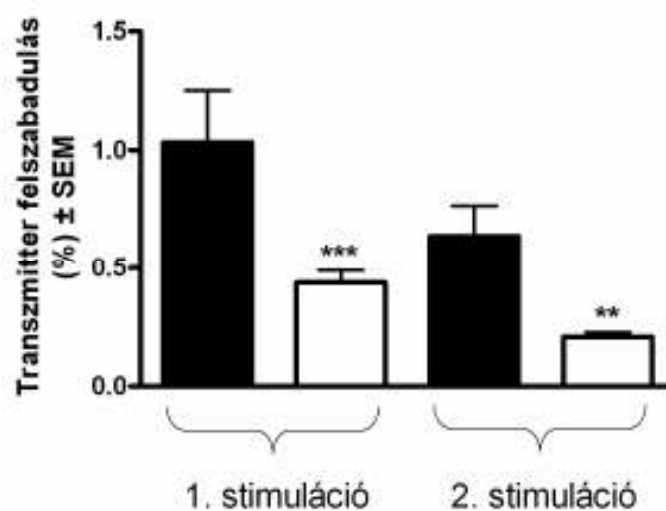
SPRD ♀, 60 mg/kg iv



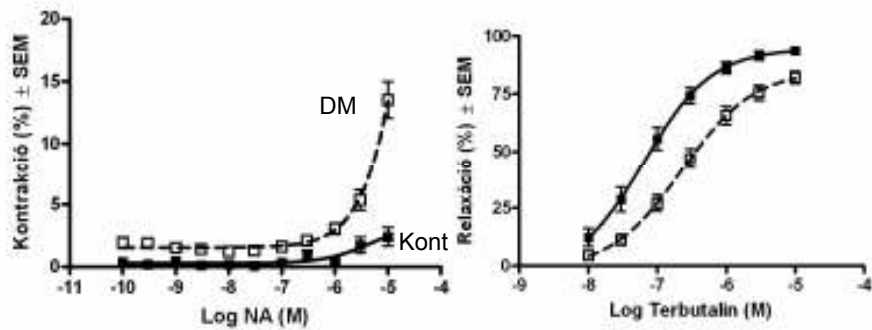
Myometrium adrenerg neuron funkció



Myometrium adrenerg neuron funkció

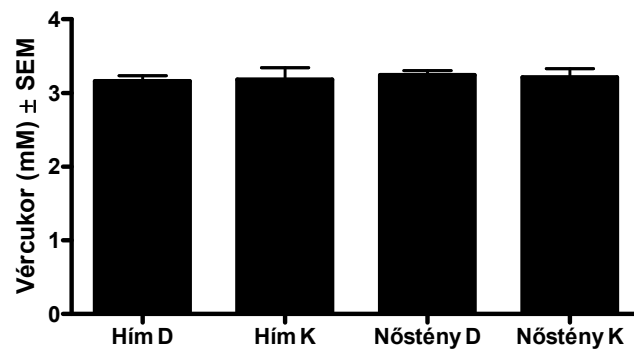


Myometrium adrenerg funkciók

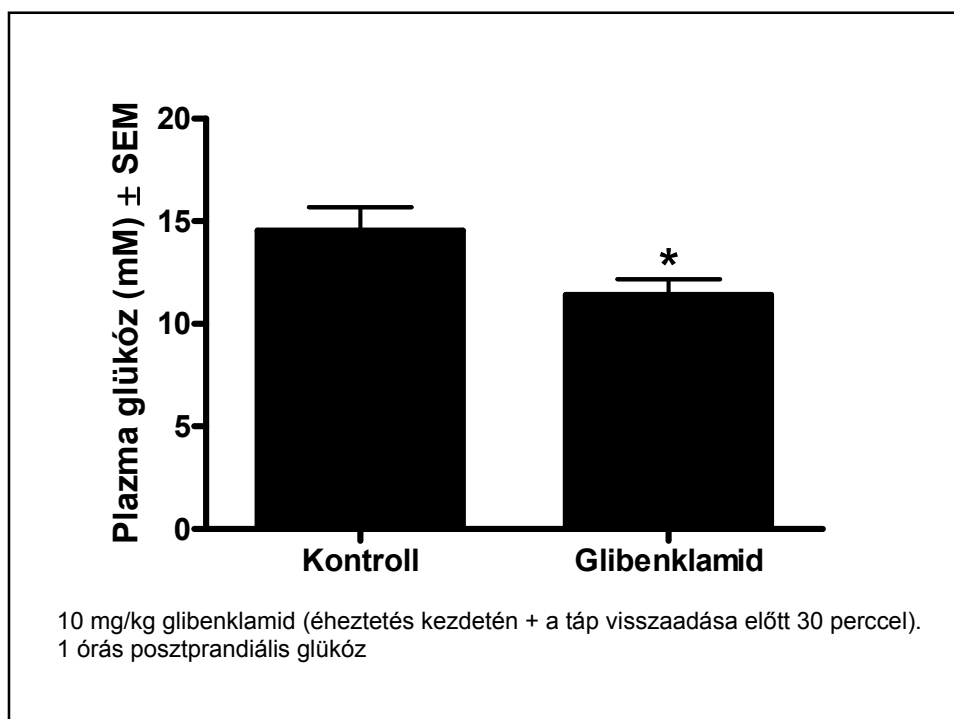
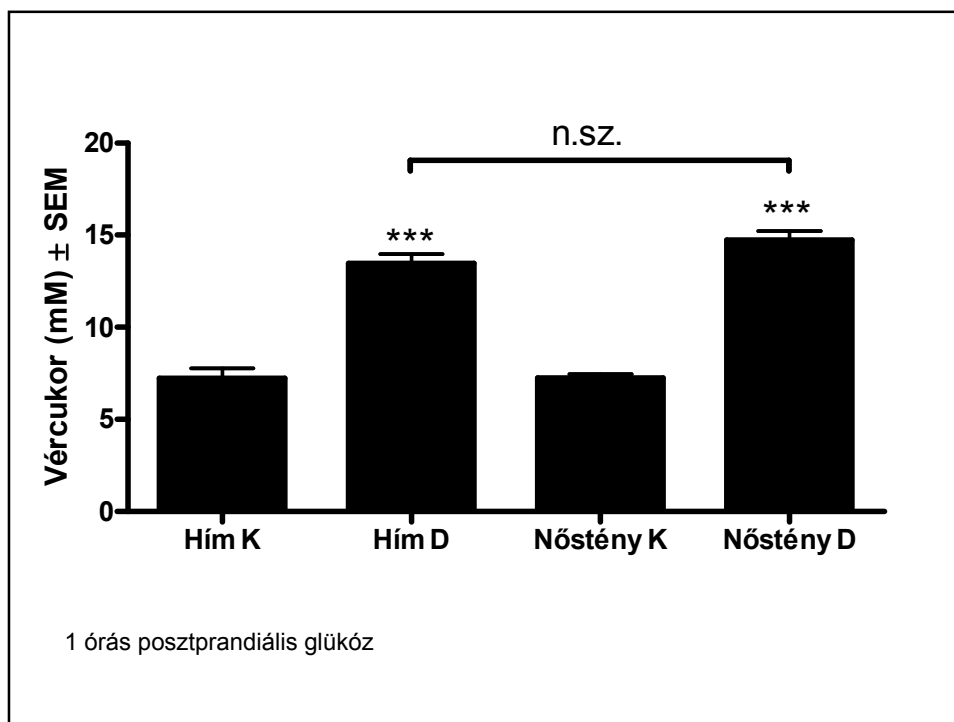


STZ - NIDDM

- 2 napos korban 150 mg/kg ip, 25-50% túlél
- 8-10 hetes kor

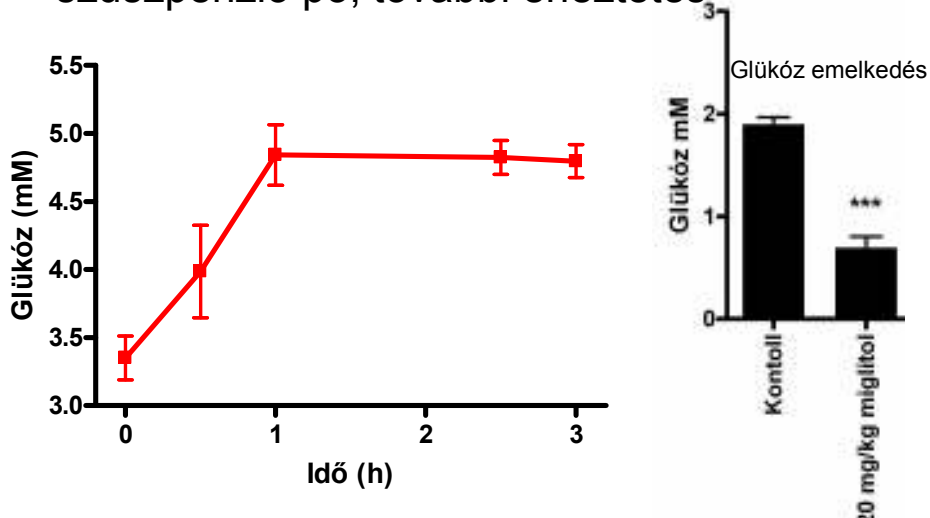


Éhomi glükóz, D: STZ-kezelt, K: kontroll



Keményítő-terhelés

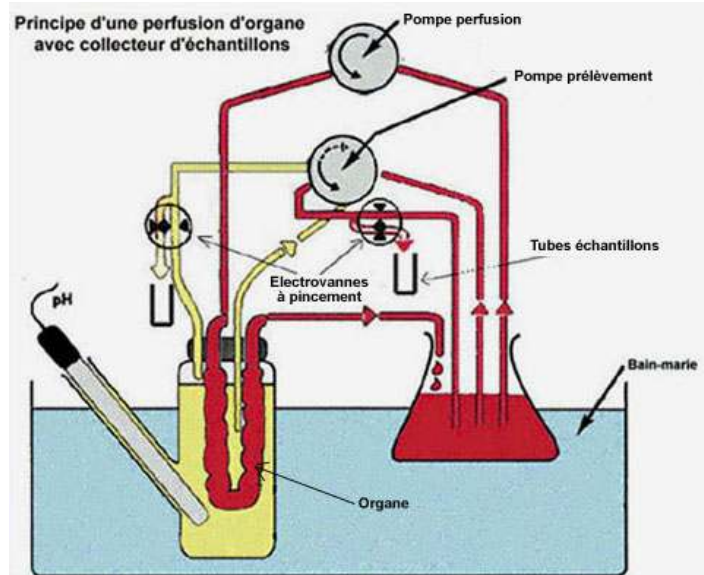
- 16 óra éheztetés, 2,5 g/kg keményítő szuszpenzió po, további éheztetés



In vitro DM módszerek

- Zsírsejtek glükóz felvétele (epididymal fat):
kollagenáz-emésztés, ^{14}C -glükóz + tesztanyag
Főleg inzulin-származékokra
- Izolált pancreas: indirekt hatások is mérhetők
- α -amiláz végpontos meghatározás:
 $3,5-(\text{NO})_2\text{szalicilsav} \rightarrow \text{nitro-aminoszalicilsav}$
546 nm
- Glükozidáz: maltóz/szacharóz (37 C, 20 min):
glükóz meghatározás. Leállítás: forralással

Everted sac



Hiperlipidémia in vivo

- Intakt állaton is lehet mérni, de ...
[önkontroll, szeparálás, májextrakció]
- Koleszterin-atherosclerosis nyúlon: 0,3-2%
kol, 10-12 héten át
- Patkánynak napi 10 ml/kg: 1L mogyoróvaj +
100 g kol + 30 g propiltiouracil + 100 g kólsav
7 nap alatt kialakul a hiperlipidémia
opcionális: ballonlézió
- RICO rat: ↑kol, norm TG, nem obes
- Poloxamer-407: 0,5-1 g/kg ip

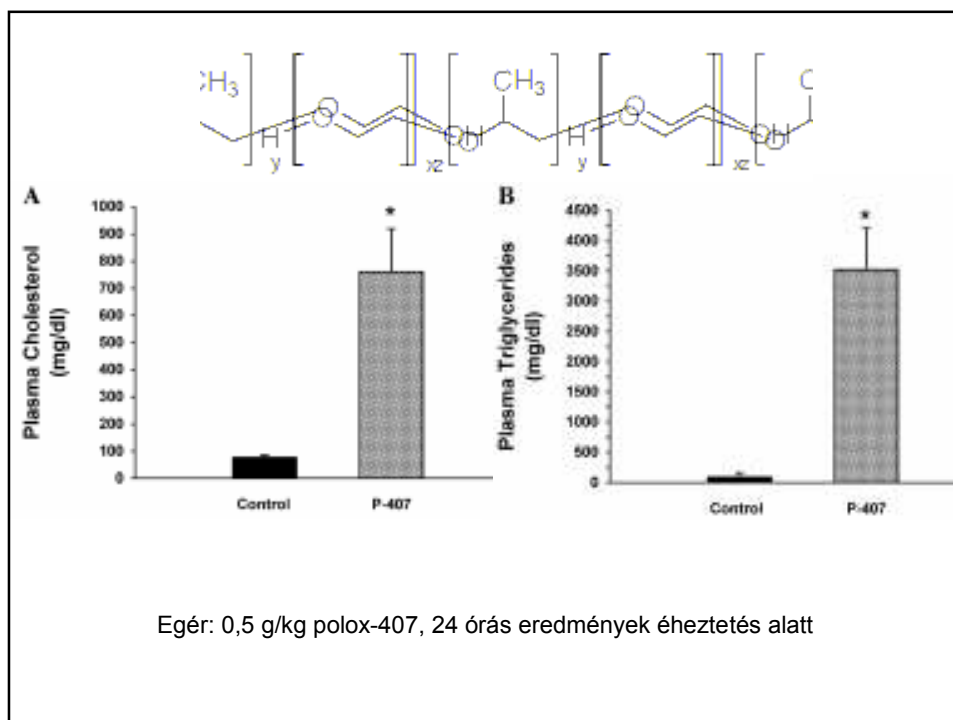
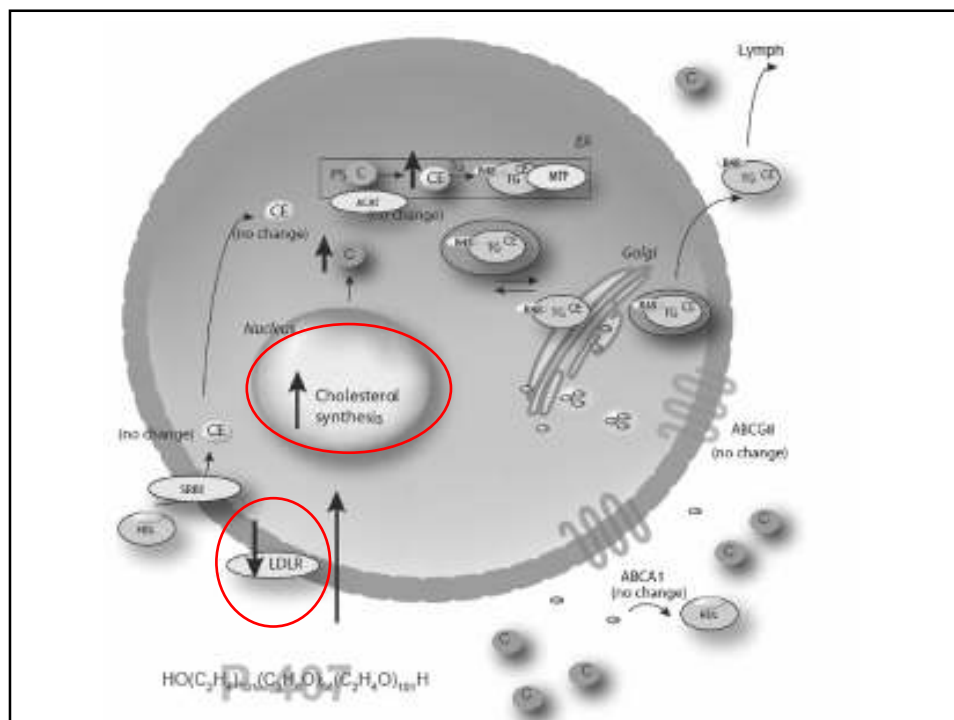
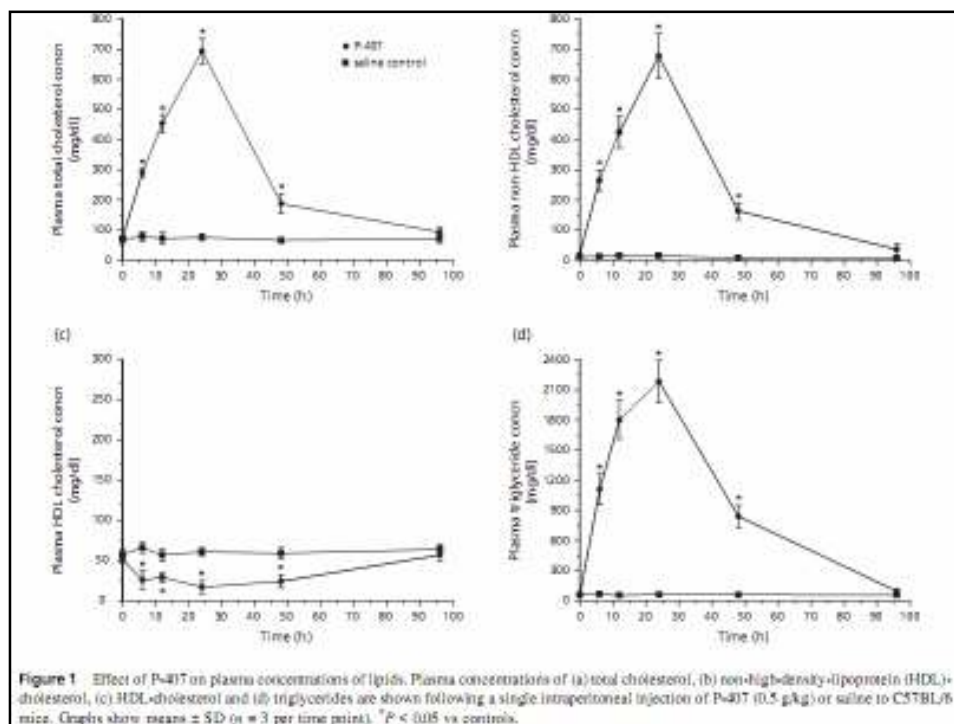


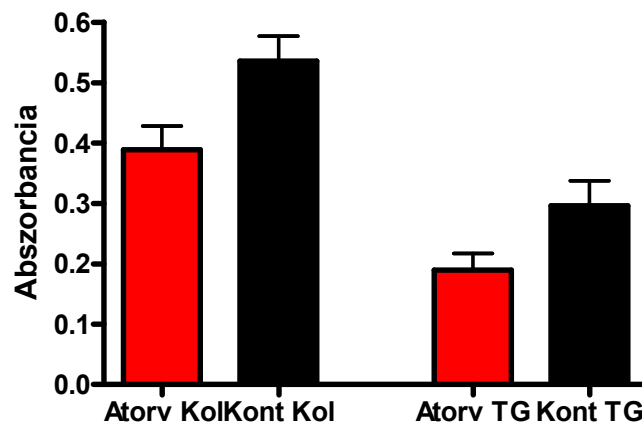
Table 2. Biochemical Parameters for Serum Lipid in HL and Control Rats

Biochemical parameters	Control	HL rats
HDL-ch (mg/dl)	53.0±7.7	253.5±10.4**
LDL-ch (mg/dl)	9.8±1.7	51.5±4.2**
HDL%	44.3±2.1	4.0±0.8**
LDL%	8.8±1.0	39.3±10.8**
VLDL%	34.5±3.7	56.8±11.1**

Determinations of these parameters were performed at 36 h after intraperitoneal administration of P407 (1 g/kg, HL rats) or the same volume of vehicle without P407 (control). Values are the mean±S.D. of 4 rats. ** $p<0.01$ compared with control.



1 nap atorv előkezelés Polox-407 + 3 nap atorv

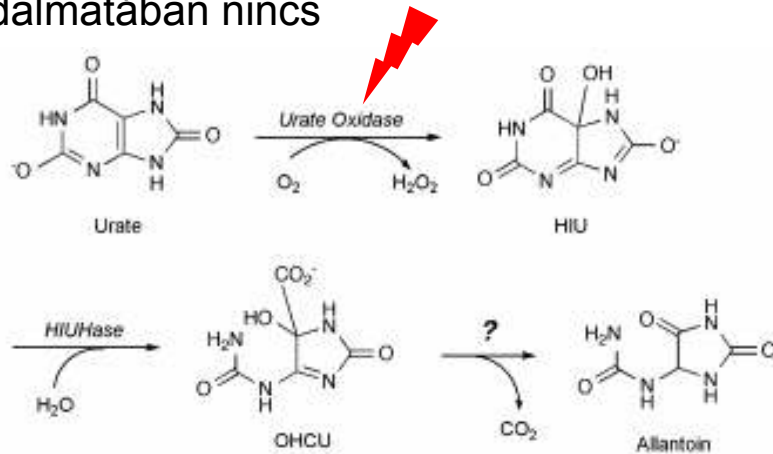


Lipid-tolerancia teszt

- ~5 napig tesztanyag, majd 10% lipid emulzió iv bólus.
0., 10-20-30-40 min: TG meghatározás.
A lipoprotein-lipáz aktivitást jelzi.

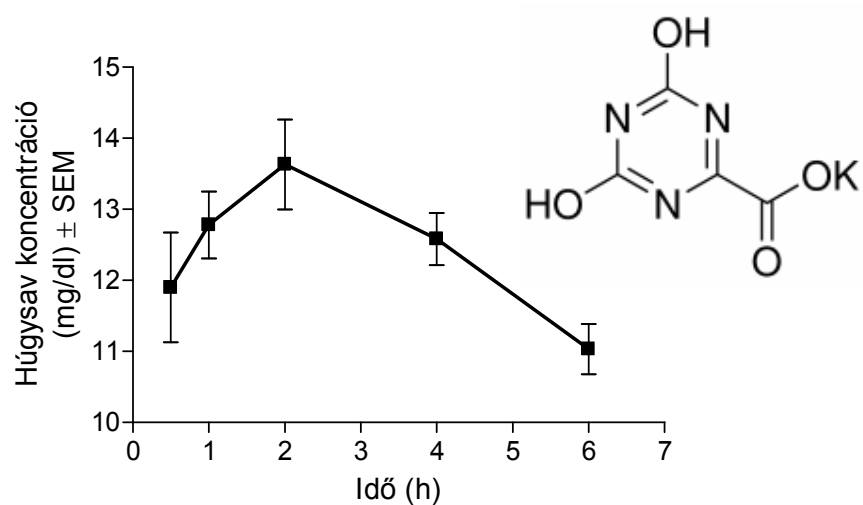
Hiperurikémia modell

- Urikáz (urát-oxidáz): főemlősökben és dalmatában nincs



OHCU, 2-oxo-4-hydroxy-4-carboxy-5-ureidoimidazolin

K-oxonát hiperurikémia (250 mg/kg ip)



The Competitive Inhibition of Uricase by Oxonate and by Related Derivatives of *s*-Triazines*

IRWIN FRIDOVICH†

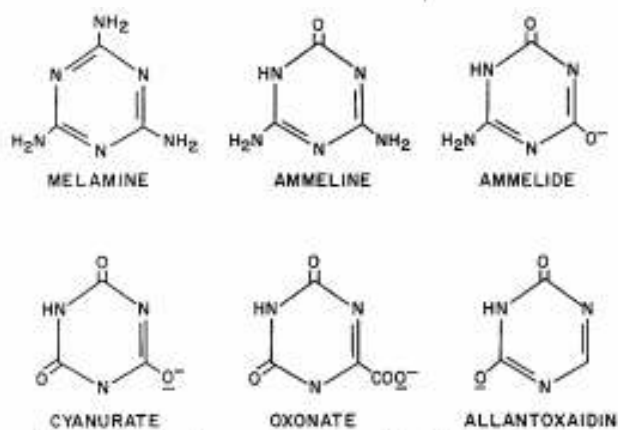
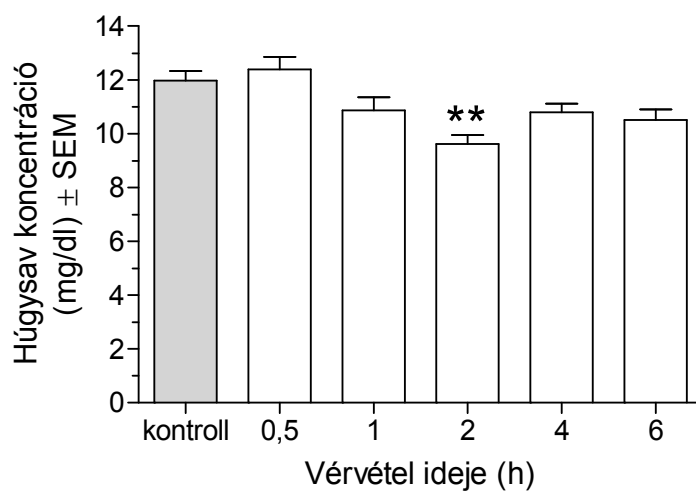


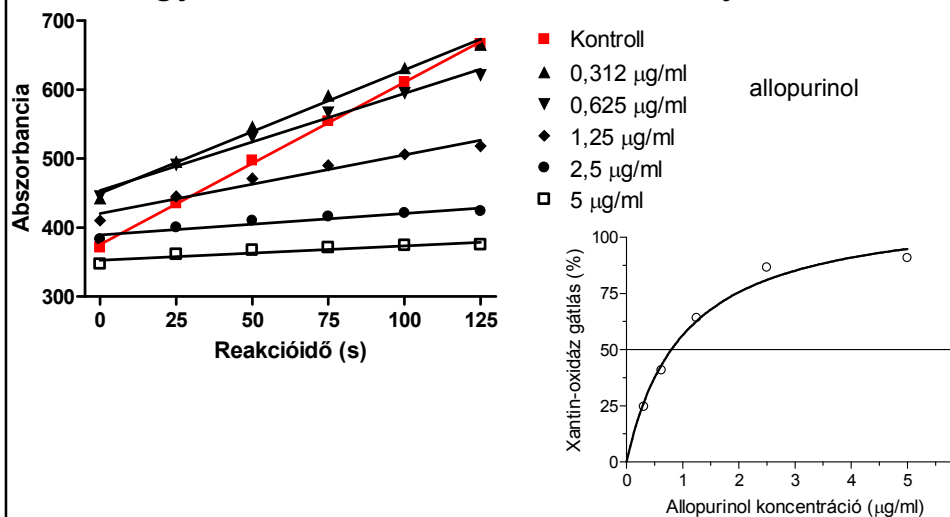
Fig. 3. The structures of oxonate and of related *s*-triazines

50 mg/kg allopurinol po (az oxonáttal egyszerre)



XO meghatározása in vitro

- $\text{Xantin} + \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2 \rightarrow \text{húgysav} + \text{H}_2\text{O}_2$
- Húgysav: 290 nm, kinetikus assay



A KÍSÉRLETI ÁLLATOK TARTÁSÁNAK ÉS GONDOZÁSÁNAK ALAPVETŐ KÉRDÉSEI

Dr. Gál Balázs

A kísérleti állat az emberi szervezet működését akkor modellezheti, ha a funkciók esetében teljes, vagy nagymértékű a hasonlóság (tehát a modell egyben mérőeszköz is). A kísérleti eredmények csak akkor fogadhatók el, ha a mérés pontos, hiteles és megismételhető. Ezek az elvárások leginkább akkor valósulnak meg, ha a kísérleti és a kontroll csoport csak egyetlen vonásban, mégpedig a vizsgált tényező tekintetében tér el egymástól. Az állatok érzékenységeiben (egyes reakciókban megmutatkozó válaszadó képességükben) genetikai okokból jelentős különbségek vannak, ezért egy adott kísérletben egyes fajok vagy törzsek különösen alkalmasak vagy alkalmatlanok lehetnek.³⁰

A laborállatokkal kapcsolatban alapvető igény, hogy legyenek olcsók, és tartásuk egyszerű legyen. Ma ezeknek a kívánalmaknak leginkább a rágcsálók felelnek meg. A laboratóriumi emlősök közül a felhasználás gyakoriságát tekintve az egér és a patkány együttesen kb. 90%-ot tesz ki, de az utóbbi évtizedekben a felhasznált mennyiség a korábbi időszakok tizedére csökkent. Társállatként is tartott fajok, pl. tengerimalac, nyúl felhasználási aránya ehhez képest igen alacsony. A felhasználás jelentős csökkenésének okai az állatmentes mérési eljárások fejlődése, a sajátos tulajdonságú állatok (beltenyésztett, SPF, ld. később) alkalmazása, valamint az árnövekedés is.³⁰

1. A leggyakoribb laboratóriumi emlősök biológiája

1.1. Egér

Tipikus rágcsáló, állandóan növekvő metszőfogakkal, ezért a koptatás miatt kemény táplálékot igényel. Jellemző a bélsárevés (*koprofágia*). Sokat mozognak, másznak, megijedve haraphatnak. Az ivarérett hímek agresszívek egymással. Érzékenyek a hőingadozásra, huzatra, magas páratartalomra. Élettartamuk 1-2 év. Az ivarérettség 6-8 hónapos korban következik be. A nemi működés egész évben folyamatosan, ciklusosan ismétlődik (*poliösztroszosak*). Az ivari ciklus hossza átlagosan 4 nap, a vemhességi idő 13-21 nap, az ellés után azonnal ivarzanak. Az alomnagyság 6-10 db, a szopósok leválasztása 3 hetes korban történik.

1.2. Patkány

Anatómiai különlegesség pl. a szemzugokban lévő Harder-féle mirigy (váladéka a porfirin tartalomtól színes – ld. I. fejezetet is), vagy az epehólyag hiánya. A fogazat olyan, mint az egéré (tipikus rágcsáló). A táplálékfogyasztását energetikai alapon szabályozza. Az egérhez képest kevésbé mozgékony, nem agresszív. Átlagos élettartama 2-3 év. Érzékeny a huzatra, a magas ammónia szintre, az alacsony páratartalomra és a zajokra. Fogékony a légúti fertőzésekre. A szaporodás biológia szinte megegyezik az egérével. A vemhességi idő 21-23 nap.

1.3. Tengerimalac

A kutatásban leginkább használt törzsek rövidszőrűek. A tengerimalac új vagy félelmet keltő élmények hatására könnyen pánikba esik. Ilyenkor szétszóródnak a ketrec sarkaiba, vagy dermedten, mozdulatlanul egy helyben maradnak. Ideges egyedekben fogcsattogtatás is megfigyelhető. Az átlagos élettartam 4-5 év. Minden foguk nyitott gyökerű, folyamatosan növekvő. Növényevő, nem valódi rágcsáló, hatalmas vakbelük van. Nem szintetizálnak C-vitamint, ezt a táplálékkal kell felvenni (C-vitaminnal kiegészített speciális, pelletált táppal kell etetni). A tengerimalac poliösztrozusos, egész évben szaporodik (tenyészhető). Spontán ovulátorok (spontán peteleválás). A ciklus hossza 15-17 nap, az ivarzás 1-2 napig tart. Az átlagos vemhességi idő 65 nap. Az átlagos alomnagyság 3-4 db. Az utódok születéskor jól fejlettek, az elválasztás 14-28 napos korban történik.

1.4. Házinyúl

A kutatásban leggyakrabban a közepes testű, 2-5 kg-os testtömegű (Új-Zélandi, Kaliforniai) fajtákat használják. A nyúl élettartama 5-6 év. Minden fog nyitott gyökerű és folyamatosan növekszik. A nyúl nem tud hányni (mint a patkány és a ló). Növényevő. A vakbél nagy és a feregnyúlványban végződik, ami jelentős mennyiségű nyirokszövetet tartalmaz. Koprofágok, a lágy (ún. éjszakai) bélsarat megeszik. A nyulakat leginkább pelletált kereskedelmi nyúltáppal etetjük, mely beltartalmilag komplett. A vérerekkel jól ellátott fülkagylók a hőszabályozásban töltenek be fontos szerepet. A méhük kettős (*uterus duplex*), kettős méhnyakkal. A tenyészettség kezdete 5-6 hónapos kor a közepes testűeknél. Indukált ovulátorok (párazás által indukált tüszőrepedés), szabálytalan nemi ciklussal. A párazásra alkalmas nyúl pérája vérbő és lila. Az átlagos vemhességi idő 32 nap. Kevéssel a fialás előtt a nőstény fészket épít a kitépett szőreből. Az átlagos alom-nagyság 7-8 db, a leválasztás ideje 4-6 hetes kor.

1.4. Szíriai aranyhörcsög

A hörcsög a harmadik leggyakrabban használt laborállat, 90%-ban szíriai aranyhörcsög. Gyakran harap ha nem megfelelően nyúlnak hozzá, ha fél, ha sérült, vagy ha éppen alvásból ébredt fel. A nőstények nagyobbak és agresszívebbek, mint a hímek. Élettartamuk 1.5-2 év. A metszőfogak nyitott gyökerűek, folyamatosan nőnek. Jellegzetesek a pofazacskók, melyek a lapockákig terjednek és nagyon tágulékonyak. Kereskedelmi, pelletált hörcsög- vagy rágcsálótáppal kell táplálni. A horpász- vagy illatmirigyek sötét pöttyként láthatóak a horpászoknál (faggyúmirigyek, a területjelölésben és a párzási viselkedésben van szerepük). Húgycsőjük a hüvely alatt, különállóan nyílik. Kb. 3 hónapos korban válnak ivaréretté. Poliösztuszosak, egész évben szaporodnak, az ivarzás 4 napig tart, az átlagos vemhességi idő 16 nap. Az átlagos alomszám 5-9 db. A kannibalizmus gyakoribb, mint más rágcsálóknál. A leválasztás a szopósok 3 hetes korában történik.

1.5. Vadászgörény

A vadászgörények átlagos testtömege 0.8-1.2 kg; átlagos életkoruk 5-11 év. Szezonális testtömeg vesztés tavasszal előfordul. Bőrük vastag, izzadságmirigyek nélkül (ezért hamar túlhevülhetnek), aktív faggyúmirigyekkel, amik az illatukért felelősek, miként a páros végbélmirigyek ("bűzmirigyek") is. A görényeknek különleges kardiovaszkuláris anatómiájuk, nagy lépük van. Szigorú húsevők, ragadozók, rövid gyomor-béltraktussal, vakbél nélkül. Magas fehérje és zsírtartalmat, alacsony szénhidrát tartalmat igényelnek a táplálékban. Macskatáppal vagy speciális görénytáppal etethetők.

1.6. Törpesertés (*minipig; micropig; vietnami „csüngőhasú” sertés*)

A törpesertések társas (szociális) állatok és szigorú, tekintélyelvű hierarchiában élnek. Csoportos elhelyezésben általában 1-2 nap alatt harccal döntik el az erőssorrendet, amely csaknem közvetlenül a testmérettel áll összefüggésben. Általában barátságosak, okosak és rosszul reagálnak a nem szakszerű kezelésre. Zajos állatok. A házi sertés betegségeire fogékonyak, érzékenyek a szélsőséges hőmérsékletekre (főleg az extrém melege, magas páratartalommal), porra és huzatra. Átlagos élettartamuk 10-12 év. Táplálásukra megfelelnek a kereskedelmi sertéstápok, de az elhízás elkerülése fontos. Átlagos testtömegük 15-40 kg. A tenyészérettséget 6-7 hónapos korban érik el. Poliösztuszos, az ivari ciklus 18-24 nap, a vemhességi idő 114-115 nap. Az átlagos alomnagyság 5-8 db. Leválasztás 4-5 hetesen történik.

1.7. Macska

A macska szigorú húsevő és ragadozó. Tökéletes látással és hallással bír, de szaglása gyengébb a kutyáénál. Territoriális állatok, területüket vizeletspricceléssel és a felületek feromonokkal történő bekenésével jelölik meg (szaglási kommunikáció). Nem szocializáltak, de a csoportban éléshez hozzászoktathatók. Az ideális csoport kb.20 egyed, ami lehetővé teszi viszonylag stabil hierarchia kialakulását. A macskának néhány élettani jellemzőben több hasonló tulajdonsága van az emberrel, mint a nyúlnak vagy a rágcsálóknak, ezért széles körben használják a viselkedési és orvosbiológiai, különösen a neurológiai kutatásban. A tenyészállatok átlagos élettartama 10-13 év. A macska nem él meg más húsevők, mint pl. a kutya részére előállított táplálékon, speciális macskatápot igényel (pl. taurin szükséglet). A nőstény macskák szezonálisan poliösztroszosak, de kisebb hányaduk folyamatosan pározhat. Poligámiában is jól szaporíthatók. Az egyetlen lehetőség az ivarzás felismerésére a viselkedés változások észlelése, ami 4-6 napig tart. Az ovuláció indukált (a párzás váltja ki a tüszőrepedést), a vemhességi idő 59-65 nap. Az átlagos alomszám 4-6 db, leválasztás 5-6 hetes korban történik.

1.8. Kutya

A kutyák erősen szocializált, barátságos, emberszerető állatok. Mind a fajtatársakkal, mind az emberrel való szociális kapcsolat fontos a jó közérzetükhöz, ezért a szociális izoláció és egyedi elhelyezés igen fontos stresszor. Megfelelően kialakított csoportokban jól tarthatók. A legideálisabb laboratóriumi kutya a beagle, de más fajták és főleg keverék kutyák is használatosak. A kutya húsevő, a kereskedelmi kutyatápok megfelelőek a táplálásukhoz. Átlagos élettartamuk 8-12 év. Az ivarérettséget 7-10 hónapos korban érik el. Általában évente kétszer ivarzanak ("tüzelnek"), az ivari ciklus hossza kb. 1/2 év. A vemhesség átlagos időtartama 63 nap. Az átlagos alomlétszám 5-8 db. A szopósok leválasztása 6-7 hetes korban történik.^{30, 33-35}

2. A kísérleti állatok elhelyezése és gondozása

2.1. Általános elvek

Az állatok megfelelő elhelyezése és környezetük megfelelő alakítása nélkülözhetetlen az állatok jóléte érdekében, a megfelelő minőségű, megbízható kísérleti eredményekhez, valamint a személyzet egészségéhez és biztonságához. Az állatok részére elegendő hely kell ahhoz, hogy megforduljanak és a helyzetváltoztatást megtehessék; hozzá kell jutniuk az élelemhez és a vízhez, elegendő tiszta alommal ellátott terület kell a pihenéshez, és terület kell

a mozgáshoz is. Alkalmat kell adni az állatoknak, hogy a fajra jellemző viselkedésmintákat gyakorolhassák. Amikor lehetséges, a társas állatokat csoportokban kell elhelyezni és nem egyedileg, feltéve, hogy az elhelyezés nem ellenjavallt a kérdéses protokoll szempontjából és nem teszi ki az állatokat szükségtelen veszélynek. Erősen szocializált és domesztikált állatoknak előnyös a pozitív emberi kapcsolat.

2.2. Fizikai létesítmények (állatházak típusai, berendezései)

Az állatok mikrokörnyezete az őket közvetlenül körülvevő fizikai környezet, az *elsődleges* tartási tér a maga sajátos környezeti tényezőivel. A makrokörnyezet a *másodlagos* tartási tér (állattartó terem, ól, stb.) fizikai környezete.

2.2.1. Az állattartó létesítmények alapvető típusai

Alapvetően tenyésztő és kísérleti (felhasználói) létesítmények az alábbiak lehetnek.

- **Ketrec:** rögzített vagy mozgatható konténer, melyet tömör falak vesznek körül és legalább az egyik oldalán rácsos vagy dróthálóval fedett, melyben egy vagy több állatot tartanak, vagy szállítanak. A tenyészet sűrűségének és a konténer méreteinek függvényében az állatok mozgása viszonylag korlátozott.
- **Ól:** falakkal, ráccsal vagy dróthálóval körülzárt terület, ahol egy, vagy több állatot tartanak. A terület mérete és az állomány sűrűség függvényében az állatnak általában több mozgástere van, mint a ketrecben. Kifutó: fallal, ráccsal, kerítéssel vagy dróthálóval körülzárt terület, általában kőépületen kívül helyezkedik el, melyben a ketrecben vagy ólban tartott állat időnként, etológiai vagy élettani szükségleteinek megfelelően, szabadon mozoghat. Állattartó terem: épületen belüli helyiség, ahol az állatokat ketrecekben vagy ólakban helyezik el tenyésztés, pároztatás vagy egy kísérlet lefolytatása céljából. A tartó helyiségek többségét általában rácsalók elhelyezésére tervezik. Gyakran nagyobb fajok elhelyezésére is használják. Vigyázni kell azonban, hogy összeférhetetlen fajokat ne helyezzenek el együtt. A helyiségek falainak és padozatának simának, könnyen moshatónak és fertőtleníthetőnek, a padozatnak csúszásmentesnek kell lennie. Ezen helyiségekben szennyvízelvezető csatornák is kívánatosak, melyek levezetéseit le kell fedni. Minden intézkedést meg kell tenni a helyiségek rendszeres és hatékony tisztítása és a kielégítő higiénés színvonal folyamatos fenntartása érdekében. A tartó helyiségeket olyan berendezésekkel kell ellátni, hogy szükség esetén kisebb beavatkozások itt is elvégezhetőek legyenek. Kiszolgáló helyiségek a takarmány, a tiszta eszköz és az alomanyag tároló helyiség és a tisztító-fertőtlenítő helyiség. Az alomtároló helyiségnek száraznak, rácsaló- és

rovarmentesnek, a takarmány (állateledel) raktárnak ezen kívül még hűvösnek is kell lennie. Raktárhelyiséget kell berendezni a tiszta ketrecek és egyéb állattartási eszközök tárolására. A mosó és fertőtlenítő helyiséget megfelelő nagyságúra kell méretezni a szükséges berendezések elhelyezésére. A tisztítási folyamatot úgy kell megszervezni, hogy a tiszta és szennyezett eszközök teljesen külön legyenek, és így megakadályozzuk a frissen tisztítottak fertőződését.^{30, 31, 34}

2.2.2. A leggyakrabban használt fajok elhelyezése

2.2.2.1. Egér, patkány, tengerimalac, vadászgörény

A tartásuk általában különböző méretű műanyag ketrecekben (dobozokban), rács tetővel, általában faforgács alommal történik. Jól szaporíthatók háremben is. A tengerimalacok, görények társas állatok, jól tarthatók csoportosan vagy párban, akár alacsony falakkal elválasztott ólakban (beton "kutricákban"), almozva. Inger-gazdag környezetet igényelnek, főleg a vadászgörények, a tengerimalacoknak szükséges egy menedékhely biztosítása is, ahol biztonságosan elbújhatnak.

2.2.2.2. Nyúl

A nyulak tömegesen tarthatók battériás megoldással, automata itatókkal, de a leggyakoribb az egyedi ketrecekben, tömör vagy dróthálós padozattal történő tartás. Komfortosabb elhelyezés az almozott ólakban, kifutóval összekapcsolt csoportos elhelyezés.

2.2.2.3. Macska

A macskák egyedi ketrecekben, vagy csoportos kennelekben, ketrecekben tarthatók. A csoportos tartásban az elfogadható elhelyezés legfontosabb kritériuma a megfelelő számú búvóhely és a menekülési lehetőség biztosítása az állatok számára. A macskalakba alom (ürülék) tálcát, a pihenéshez tágas polcokat, a mászáshoz megfelelő tárgyakat és körömkoptatási alkalmatosságot kell elhelyezni. A zárt helyiségekben sok, nem nyitható ablak legyen: a látvány, a fény (és más sugárzó hőforrások is) nyugtatja az állatot.

2.2.2.4. Kutya, törpesertés

Elhelyezésükre a lehetőségek széles köre áll rendelkezésre: belső- vagy külső szálláshelyeken (ólakban, termekben) szabad közlekedéssel a kifutóba, illetve teljesen zárt környezetben, néhány komplexitást biztosító lehetőség beépítésével, esetleg egyedi ketrecekben a kísérletek idejére. A kutyáknak alkalmat kell adni az aktivitásra (mozgásra)

arra, hogy bejuthassanak a kifutóba vagy átmenjek egy másik területre (nagyobb ketrecbe vagy külső ólba, kennelbe), amely nagyobb méretű helyet biztosít a mozgáshoz.

2.2.2.5. Majmok (nem emberszabású főemlősök)

Szociális állatok, ha hosszabb időre megfosztják őket a társaságtól, akkor a depresszió és frusztráció félreérthetetlen jeleit mutatják (mint a kutyák, sertések). Élettanilag és anatómiailag egy komplex, dinamikus környezetben való életre alkalmasak. Párban történő elhelyezésük megfelelőbb a csoportos elhelyezésnél.

Emelt pihenőfelületek és magasabban lévő polcok a macskák mellett gyakran kívánatosak kutyák és a nem-emberszabású főemlősök (majmok) részére is. A macskák, kutyák, sertések ketrecben történő elhelyezése szigorúan korlátozott. Az így elhelyezett állatokat naponta legalább egyszer ki kell engedni mozgásra (kifutó), ha ez nem ellenkezik a kísérlet céljaival. Rácsos padlózatot csak akkor lehet alkalmazni, ha az a kísérlet céljaira szükséges.

2.3. Etető és itató berendezések

- Eger, patkány: etetőkosár és itatópalackok szopókával,
- Tengerimalac, nyúl: utántöltős önetető és itatópalackok szopókával,
- Kutya, macska, sertés: rögzített vagy súlyos tálak, tálcák.³⁰⁻³⁵

3. Az állatok ellátása és gondozása

A létesítményért felelős személynek biztosítania kell az állatok rendszeres ellenőrzését, az elhelyezés felügyeletét, és az állatorvos, vagy más illetékes személy részéről történő gondoskodást.

3.1. Takarmány, ivóvíz, alom

Ma már szinte minden faj táplálása egységes (standard) takarmány-keverékkel történik, melyet ún. *pellet* (dugó) formába préselnek. A takarmány csomagolásának, szállításának és raktározásának is meg kell felelni azon követelményeknek, melyek megakadályozzák szennyeződését, megromlását vagy megsemmisülését. A takarmány fő hibái a csíraszám emelkedés, avasodás és gombatoxinok jelenléte. A takarmány szétosztásának módja nagymértékben függ a fajoktól, de mindenképpen olyannak kell lennie, amit az illető faj élettani szükséglete megkíván (rágcsálóknak általában „*ad libitum*”,

húsevőknek, sertésnek adagolva). Az etetőket úgy kell kialakítani és elhelyezni, hogy a táplálékhoz való könnyű hozzáfutást minden állat számára lehetővé tegye, és minimális legyen a széklettel és ivóvízzel történő szennyeződés.

Általánosságban az állatoknak hozzá kell férniük szennyeződésmentes, tiszta ivóvízhez, az egyedi igényeiknek megfelelően. Az általánosan használt itatási módszerek: palackok, edények, automata itató rendszerek. Itatópalackok leggyakrabban kisebb állatok (rágcsálók, nyúl), edények, vályúk általában nagyobb állatok (kutya, macska, sertés) esetén használatosak. A palackoknak átlátszó anyagból kell készülniük, hogy figyelni lehessen tartalmukat. A palackokat és az egyéb alkatrészeket szétszerelve, megfelelő időszakonként, rendszeresen tisztítani és sterilizálni kell. Jobb a vizes palackokat alkalmanként lecserélni, mint újratölteni, a mikrobiológiai átfertőződés elkerülése miatt.

Az alomanyag legyen száraz, nedvszívó, nem poros, nem mérgező, fertőző mikroorganizmusoktól, parazitáktól, férgekől és más szennyeződésektől mentes. Leginkább a nem gyantás fából készült puhafa gyaluforgács alkalmas és használatos. Különös gondossággal kell elkerülni a fűrészpor (poros forgács) vagy a kémiai anyaggal kezelt fából készült forgács alkalmazását. Olyan mennyiségű alomanyagot kell használni, amely elégséges az állatok szárazon tartásához a doboz (ketrec) cserék közötti időben.

A létesítmény színvonala nagymértéken függ a higiéniai körülményektől, vagyis egy adott napirend alapján végzett, megfelelő gyakoriságú alomcserétől, takarítástól és fertőtlenítéstől. Az állatházak minden részlegét, beleértve a kiszolgáló területeket is, rendszeresen takarítani, fertőtleníteni kell. A tisztítás eltávolítja a por és a szennyeződések nagy részét, a fertőtlenítés lecsökkenti a mikroorganizmusok elfogadhatatlan mennyiségét.

A kísérlet folyamán az állat teljesítményét nagymértékben befolyásolja, hogy mennyire bízik az emberben és ezt a bizalmat fejleszteni kell. Ajánlatos ezért a gyakori kapcsolattartás, hogy az állat megszokja az ember jelenlétét és tevékenységét (adaptálás/adaptálódás). Az alkalmazottaknak kedvesnek, gyöngédnek és határozottnak kell lenniük az állatokkal való kapcsolat során.³⁰⁻³⁵

4. A fizikai környezet legfontosabb tényezői

4.1. Hőmérséklet

A termék hőmérsékletét folyamatosan mérni kell. Az ajánlott (optimális) hőmérsékletek:

- Egér, patkány, tengerimalac, törpesertés, majom részére: 20–24°C
- Kutya, macska, nyúl, vadászgörény: 15–21°C.

Újszülött és fiatal állatok, vagy altatásból ébredő állatok esetében magasabb hőmérséklet szükséges.

4.2. Páratartalom (nedvesség)

A tartó helyiségekben a relatív páratartalom (RH) normálértéke $55 \pm 10\%$. Feltétlenül kerülendő a 40% alatti és a 70% feletti értékek huzamosabb fenntartása.

4.3. Levegőminőség, szellőzés

A szellőzés célja a friss levegő (oxigén) biztosítása, a szagok, káros gázok (pl. ammónia), por, valamint a fertőző anyagok szintjének minimális szinten való tartása (pl. szűrt levegő, nyomás különbség a helyiségek között, stb.). A rendszer csökkenti az állatok légcseréjéből, a világítás és egyéb berendezések működéséből eredő túlzott meleget és nedvességet is. A helyiség levegőjét rendszeresen cserélni kell. Óránként 15–20-szor történő levegőcsere az optimális arány. A már használt, visszaforgatott levegő alkalmazása a szellőztetésre kerülendő. A szellőztető levegőt télen fűteni, nyáron hűteni szükséges. A gyakori alomcserék és ketrectakarítás, a zsúfoltság elkerülése, az optimálisan tartott hőmérséklet és páratartalom is csökkenti a toxikus vagy bűzös gázok mennyiségét a termék levegőjében. A szellőztető rendszert úgy kell tervezni, hogy ne okozzon káros huzatot.³⁰⁻³⁵

5. A mikrobiológiai környezet (egészség, fertőzőtség, betegség)

5.1. A mikroorganizmusok, fertőzések szerepe és jelentősége (mikrobiológiai és járványtani alapfogalmak)

Az állatokat érintő kórokok lehetnek öröklődő rendellenességek, élettelen (fizikai-kémiai) tényezők, vagy élő (egy- vagy többsejtű) élőlények. A potenciális kórokozók lehetnek baktériumok, vírusok, gombák, élősködők. A fertőzés során egy mikroorganizmus vagy parazita társult viszonyba kerül az állati szervezettel, függetlenül attól, hogy okoz-e betegséget vagy nem (tehát a fertőzőtség nem egyenlő a betegséggel!). A megbetegedést okozó mikroorganizmusok lehetnek feltétlen (*obligát*), vagy esetleges (*fakultatív*) kórokozók.

A fertőzés, betegség kialakulása függ még a kórokozók faj és fajtaspecifikusságától, illetve fogékony szervezet jelenlététől. Tünetmentes (*latens*) fertőzőtség (szubklinikai betegség) esetén a kórokozó jelen van a szervezetben, de nem mutatható ki, illetve nem okoz klinikai tüneteket, ugyanakkor fertőzésveszélyt jelent. A kórokozó behatolásának pillanatától valamennyi idő eltelik, amíg a mikroba elszaporodik (lappangási idő), majd további idő kell a tünetek megjelenéséhez (vagy egyéb történéshez, pl. ellenanyag képződéshez). A tünetekben

megnyilvánuló betegség kimenetele sok tényezőtől függ, ezek alapján lehet nem végzetes, vagy elhullást okozó.

A kísérleti állatok fertőződésének forrása lehet a nem laboratóriumi célra tenyésztett, vagy más tenyészetből behozott állatok; otthoni kedvenc állatok; biológiai anyagok; egyéb anyagok és berendezések (pl. alom!); a személyzet (kutató és a látogató - a legnagyobb mikrobiológiai veszély maga az ember!) Az intézmény jó szervezési, működési gyakorlata és az állandó ellenőrzés fontos a nem kívánt organizmusok bejutásának megakadályozására.³⁰

A karantén (az olasz *"quaranta giorni"*, 40 nap kifejezésből) a más helyről származó állatok állományba történő betelepítés előtti elkülönített tartására, megfigyelésére szolgál. Célja a fertőzések távoltartása. A karantén időtartamának elegendőnek kell lenni, hogy az éppen lappangási időben lévő betegségek tünetei kifejlődhessenek. A karantén és stabilizáció időszakában néhányat vagy mindet meg kell valósítani az következők közül : diagnózis, ellenőrző vizsgálatok, a betegségek megelőzése és kezelése; az élettani és táplálkozási stabilizálás; a kültakaró ellenőrzése a külső élősködők miatt (több zoonózis terjesztésében szerepelnek). Időtartama a lappangási idő és az állategészségügyi előírások alapján kerül meghatározásra. Más esetekben változhat, és a körülményeknek megfelelően egy illetékes személy, általában az intézmény állatorvosa határozza meg. Még ha az állatok kitűnő egészségi állapotban vannak, vagy magasabb higiéniai kategóriájúak is, a szállítás és fogadás után akkor jó az ellátásuk, ha egy akklimatizálódási időszakon (élettani, pszichés és táplálkozási stabilizáció) esnek át, mielőtt kísérleti felhasználásra kerülnének.

5.2. A fertőzőtlenség hatása a kísérleti eredményekre

Sok mikroorganizmus (még a rejtett, latens kórokozók, illetve a szubklinikai betegségek esetén is) befolyásolhatja az élettani paramétereket és ennek következtében az állatkísérleti eredményeket. Az nyilvánvaló, hogy a beteg állatokból nyert kísérleti adatok csak maximális fenntartással használhatók, ha egyáltalán használhatók. A nem kívánatos kórokozóktól mentes laboratóriumi állatok használata fontos előfeltétele a megbízható és megismételhető eredmények elérésének, minimális állatlétszám felhasználásával, ami egyben lényeges hozzájárulás az állatjóléti célokhoz is.

5.3. A kísérleti állatok mikrobiológiai (higiéniai) minősége és besorolása

A nem kívánatos kórokozók jelenléte és egy populációnak egy specifikus kísérletre való alkalmassága csak a kísérletezés előtti és alatti átfogó egészség monitorozás által határozható meg. Az állatok minősége leginkább a mikrobiológiai (higiéniai) állapotuk és

azon tartási rendszer alapján jellemezhető, amely biztosítja a specifikus mikrobiológiai státusz fenntartását.

Mikrobiológiai szempontból a következő tartási rendszerek különböztethetők meg (*higiéniai szintek*): Izolátorban tartott: az állatok sterilizált kamrában tartottak, steril levegővel történő szellőztetéssel, sterilizált anyagok megfelelő bejuttatásával, egy sor beépített kesztyűvel. Barrier (zsilip) mögött tartott: az állatokat egy célzottan kialakított, zsilipek mögötti térben (helyiségben) tartják és szaporítják. Ezeknél az egységeknél az alkalmazottak egy sor zsilipen át (öltözők), zuhanyozást követően, steril ruházatba öltözve juthatnak be. Minden eszköz, anyag, ami bejut, és a szellőztető levegő is sterilizált vagy fertőtlenített. Barrier mögötti tartás megvalósítható ketrec vagy állvány szinten is, sterilizálható vagy más módon fertőtleníthető eszközök használatával. Konvencionálisan (hagyományosan) tartott: az állatokat olyan területen (helyiségben) tartják, ahol nincs semmilyen speciális gát a kórokozók bejutása ellen. Ez a tartásmód nem biztosítja a mikrobiológiai állapot stabilitását, mert nem kívánt organizmusok bármikor bejuthatnak. Mikroizolációs ketrecek általában használatosak hogy megvédjék az állatokat az egyébként konvencionális termekben.

Számos besorolás (klasszifikáció) került kidolgozásra a laboratóriumi állatok mikrobiológiai minőségének meghatározására. A legfontosabb *higiéniai kategóriák* a következők:

- GF (*germ free*, mikrobamentes, csíramentes). Császármetszéssel vagy embrió transzferrel nyert állatok, melyeket izolátorban nevelnek fel és tartanak aszeptikus technikákkal.
- SPF (*specified pathogen free*, meghatározott kórokozóktól mentes). Az állatokban semmilyen bizonyítéka nincs (általában szerológiai, kórszövettani vagy tenyésztési vizsgálatokkal) meghatározott kórokozók jelenlétének. Egy állat akkor sorolható az SPF kategóriába, ha egy vagy sok patogén mikroorganizmustól mentes. A kereskedelmi forgalmazók (előállítók, tenyésztők) különböző értelmezéseket alkottak az SPF státusz kifejezésére, ami tehát így nem egységes, nem egyértelmű. Minden meghatározás alapja az adott állatokban rendszeresen vizsgált és ez alapján nem kimutatható kórokozók sora.
- VAF (*virus antibody free*; vírus ellenanyagtól mentes). Meghatározott rágszáló vírusok ellenanyagaitól mentes állatok (rágszálók). Ezek az állatok a meghatározottakon kívüli vírusoktól és más mikroorganizmusoktól valószínűleg nem mentesek.

- MD (*minimal disease*; kevés betegséggel terhelt). Az állatokat alacsony biztonsági szintű zsilip mögött tartják és néhány patogéntől mentesnek nyilvánítják. A kifejezés használata óvatosságot igényel, jelentésének pontatlansága miatt.
- Konvencionális (hagyományos). Ezekben az állatokban a kórokozó terheltség ismeretlen, ellenőrizetlen, vagy mindkettő.

5.4. Tünetek, diagnózis, a beteg állat sorsa

A betegségeket kezdetben csak általános tünetek jelzik. Értékelhető tünetek jelentkezésekor sokszor már késő az állomány megóvása. A klinikai vizsgálat több fajnál (pl. rágcsálók) nehézkes. Általános tennivalók:

- a betegnek tűnő állat azonnali elkülönítése (SPF állományban az állományból is el kell távolítani; itt a deklaráltan elő nem forduló kórokozó kimutatása is már „betegség”!);
- a környezet fertőtlenítése;
- a betegnek tűnő (beteg) állat és néhány társa azonnali vizsgálatra küldése (SPF), konvencionális állatházban az elkülönített betegek gyógykezelése, megsemmisítése, esetleg állomány szintű kezelés (vizsgálatra küldés itt is hasznos lehet).

5.5. Zoonózisok Állatról emberre, illetve viszont terjedő fertőzések. A kutatásban, oktatásban, vagy tesztelésben használt állatokhoz kapcsolódó lehetséges potenciális zoonózisok listája elég hosszú, mégis a valóságban a veszély nagyon kicsi, amikor a laboratóriumi kisállatokkal foglalkozunk. Ennek több oka van. Először is a kereskedelmi laborállat forgalmazók (tenyésztők) remek munkát végeznek a betegség mentes állatok előállításában. Ugyanígy a felhasználó intézetek általában jó foglalkozás egészségügyi és biztonsági programokat alkottak, melyek hatékony állatorvosi szűrő és kezelési elemeket tartalmaznak. A fertőződés veszélye nagyobb azoknál, akik nem laboratóriumi célra tenyésztett állatokkal (kutya, macska, gazdasági állatok) vagy vadállatokkal végeznek kísérleteket. A nem emberi főemlősökkel történő munka egy speciális eset, mert sok zoonózist okozó mikroorganizmust hordozhatnak. Minden ismeretlen helyről származó laborállatot, vagy amelyet nem fertőzés mentesítettek, zoonózist okozó mikrobák forrásának kell tekinteni!³⁰⁻³²

6. Szociális környezet és egyéb környezeti tényezők

A szociális környezet általában magába foglalja az ugyanazon faj egyedei (fajtársak) közötti fizikai érintkezést és kommunikációt, de jelenti az egyedek közötti, érintkezés nélküli kapcsolatot is vizuális, hang, és szagjelek útján.

6.1. Területigény, csoportméret

A területigényt a szabályozások kiemelten kezelik, ezekben részletesen meghatározásra került a minimális területigény és ketrecméret. A szociális állatokat párokban vagy csoportokban kell elhelyezni és nem egyedileg, ha az nem jelent szükségtelen kockázatot az állatokra nézve, ha megvalósítható és összeegyeztethető a protokollal. A csoportban tartott állatok helyigénye függ az egyedi alapterület igénytől, a viselkedéstől, az állatok összeférhetőségétől, az állatok számától és a tartási céloktól.

6.2. Egyéb tényezők

Figyelembe kell venni a fajok közötti és fajon belüli hatásokat (hang, szag és mikrobiológiai hatások), a „szagtér”, „hangtér”, „mikrobatér” megfelelő elkülönítése miatt minden fajt külön helyiségben kell elhelyezni (pl. zajos állatokat, mint a kutya, sertés, majmok, távolabb kell tartani a csendesebb állatoktól, mint pl. rágcsálók vagy macska). Fontos tényezők a fény és színhatások és a biológiai ritmus.³⁰⁻³²

7. Az állatok szállítása, fogadása

Az állatokat mindig törvényesen kell beszerezni. A direkt kísérleti célra tenyésztett állatok beszerzése a kívánatos, ami a leggyakrabban használt emlős fajok esetében a jogszabályok szerint is kötelező. Rendszerint az ilyen állatok előállítói (forgalmazói) rendszeresen tájékoztatást adnak (deklarálják) az állományaik vagy egyedi állataik genetikai és mikrobiológiai státuszáról.

A szállítás olyan stressz, amely félelemből, zajból, hőmérsékletváltozásból, táplálék-és ivóvízmegvonásból stb. tevődhet össze, aminek következtében súlyos eltérések mutatkoznak az élettani mutatókban. Az eltérések normalizálódásához rágcsálóknak legalább két hétre, fejlettebb idegrendszerű állatoknak (pl. majom) legalább két hónapra van szükségük! Ezen időszak lerövidülését szolgálják a szállítás megtervezése, a klimatizált állatszállító járművek, és az új helyen hasonló környezeti feltételek létrehozása. Minden állat számára ajánlatos egy hétig terjedő akklimatizációs időszakot biztosítani. A szállító feladata annak ellenőrzése, hogy a szállítandó állat jó egészségben van-e. Nem szállíthatók olyan vemhes állatok amelyek várhatóan a szállítás közben szülnek. A feladónak és a szállítónak minden óvintézkedést meg

kell tennie a csomagolásnál, berakodásnál és a szállítás során, hogy a nem megfelelő szellőzés, szélsőséges hőmérséklet, étel vagy ital hiánya, a hosszú állásidő ne okozzon szenvedést az állatnak. Az állatküldeményeket azonnal át kell venni és haladéktalanul kicsomagolni. Átvizsgálás után az állatokat azonnal tiszta ketrecekben (ólakban) kell elhelyezni és étellel, itallal ellátni. Minden állat számára ajánlatos minimum egy hétig terjedő akklimatizációs időszakot biztosítani, még akkor is, ha hosszabb karanténózást nem igényel.³⁰⁻³²

8. A laboratóriumi állatok tenyésztésének fő irányai

8.1. Genetikailag definiált állományok - beltenyésztett (*inbred*) törzsek

A folyamatos rokon pároztatások miatt az egyedek gyakorlatilag genetikailag egyformának tekinthetők. Az ilyen egyedeket speciális igényű kutatásban (szerv- és daganat átültetés, immunológia, stb.) használják. A természetellenes tenyésztési törekvésnek negatív hatásai lehetnek a szaporaságban, életerőben, ami gyakran a törzsek leromlásához vezet. Speciális beltenyésztett állományok pl. a transzgén állatok.

Genetikailag nem definiált - kültenyésztett (*outbred*) állományok

A rokontenyésztés tudatos elkerülése a cél. Általában szaporák, így olcsóbbak. Elméletileg csak olyan vizsgálatokban lennének használhatók, ahol a genetikai jellegnek nincs hatása az eredményekre, de a gyakorlatban sokkal szélesebb körben használják ezeket!³⁰⁻³²

KÍSÉRLETI ÁLLATOK MEGFOGÁSA

Dr. Szabó Andrea, SZTE ÁOK Sebészeti Műtéttani Intézet

Feladatok:

1. **Egerek** és **patkányok** megragadása az állatok farkának segítségével

Szükséges anyagok: vizsgáló kesztyűk

Helyes kivitelezés: az állatokat vízszintes felszínre vagy ketrecük rácsára helyezzük, a farkuk tövéénél megragadjuk, majd felemeljük. Nem szabad a farkok végét megfogni, mert a farkok végén a bőr megsérülhet, sőt teljes mértékben leválhat, leszakadhat!

A beavatkozás alkalmazhatósága: ezt az eljárást csak az állatok rövid ideig tartó megragadására, például áthelyezésük (egyik ketrecből a másikba, vagy kalodába helyezés, súlymérés) céljából használjuk.

2. **Egerek** megragadása a hát bőrénél a „kétkezes technikával”

Szükséges anyagok: vizsgáló kesztyűk

Helyes kivitelezés: Az állatokat a farkuk tövéénél megragadjuk egyik kézzel, majd másik kezünk első három ujjának segítségével a hátuk laza bőrét a gerinc mellett mindkét oldalról megragadjuk, majd az állatot az aljzatról felemeljük és a hátára fordítjuk.

A beavatkozás alkalmazhatósága: ennek segítségével az állat alkalmas lehet pl. injekció beadására éber állapotban.

3. **Patkányok** megragadása a hát bőrénél a „kétkezes technikával” (kevésbé javasolt)

Szükséges anyagok: vizsgáló kesztyűk és a domináns kezünkre harapás-biztos kesztyű

Helyes kivitelezés: Az állatokat a farkuk tövéénél megragadjuk a nem domináns kezünkkel és vízszintes felszínre vagy ketrecük rácsára helyezzük őket és a farkokra enyhe húzást gyakorolunk, minek következtében az állat kapaszkodni kezd a mellső lábaival. Ezt követően a domináns kezünkkel az állatok válla alatt a hátuk laza bőrét a gerinc mellett mindkét oldalról megragadjuk. A hüvelyk és mutató ujjat a fej stabilizálására használjuk, a maradék 3 ujj pedig a törzset stabilizálja. Vigyázzunk, hogy a megfogás szorossága nem zavarja az állatok légzését. Meg kell említeni tovább, hogy szemben más rágcsálókkal (egér, hörcsög) a patkányok erősen ellenkeznek ez ellen a megragadási mód ellen.

A beavatkozás alkalmazhatósága: ennek segítségével az állat alkalmas lehet pl. gavage alkalmazására éber állapotban.

4. **Egerek** megragadása a hát bőrénél az „egykezes technikával”

Szükséges anyagok: vizsgáló kesztyűk

Helyes kivitelezés: Az állatokat a farkuk tövéénél megragadjuk egyik kézzel, majd a farkat az azonos kéz 4. és 5. ujjába rakva ragadjuk meg. Az így felszabadult első három ujjunk segítségével a hátuk laza bőrét a gerinc mellett mindkét oldalról megragadjuk, majd az állatot az aljatról felemeljük és a hátára fordítjuk. Ezt a módszert az állatok nagyobb mérete miatt nem alkalmazzuk **patkánynál**.

A beavatkozás alkalmazhatósága: ennek segítségével az állat alkalmas lehet pl. injekció beadására éber állapotban.

5. **Patkányok** megragadása a törzsük hátulról történő átfogásával

Szükséges anyagok: vizsgáló kesztyűk és a domináns kezünkre harapás-biztos kesztyű

Helyes kivitelezés: Az állatokat a farkuk tövéénél megragadjuk a nem domináns kezünkkel és vízszintes felszínre vagy ketrecük rácsára helyezzük őket és a farokra enyhe húzást gyakorolunk, minek következtében az állat kapaszkodni kezd a mellső lábaival. Ezt követően a domináns kezünkkel az állatok válla alatt a törzset megragadjuk és az állatot óvatosan elemeljük a felszínről. Tanácsos a mellső lábakat keresztezni, hiszen ekkor kisebb az esélye annak, hogy az állat harap. Hibás és veszélyes kivitelezésnek minősül, ha az állatot a váll felett, azaz a nyaknál ragadjuk meg, hiszen ekkor az állat könnyen haraphat.

A beavatkozás alkalmazhatósága: ennek segítségével az állat alkalmas lehet pl. injekció beadására éber állapotban.

6. **Egerek** és **patkányok** kalodába helyezése elől nyitott módszerrel

Szükséges anyagok: vizsgáló kesztyűk, kaloda

Helyes kivitelezés: Az állatokat a farkuk tövéénél megragadjuk egyik kézzel, és az aljatról felemeljük. Ezt követően az állat fejét a kaloda nyitott bejárata fele irányítjuk. Mivel a rágcsálók kedvelik a rejtőzködő életmódot, belebújnak a kalodába. Ezt követően a kaloda bejáratát zárjuk. A folyamatot segíthetjük azáltal, ha a kalodát letakarjuk, hiszen az állatok kedvelik a sötétséget.

A beavatkozás alkalmazhatósága: ennek segítségével az állat alkalmas lehet pl. farokba történő injekció beadására éber állapotban.

7. **Egerek és patkányok** kalodába helyezése a farok irányából

Szükséges anyagok: vizsgáló kesztyűk, kaloda

Ehhez a feladathoz olyan kalodára van szükség, ahol a kaloda teljes hossztengelyének megfelelően a nyílás található, mely a farok kivezetésére alkalmas.

Helyes kivitelezés: Az állatokat a farkuk tövéénél megragadjuk egyik kézzel, és az aljzatról felemeljük. Ezt követően az állatot a kaloda nyitott bejárata fele a farok irányából közelítjük, majd a kaloda bejáratát zárjuk.

A beavatkozás alkalmazhatósága: ennek segítségével az állat alkalmas lehet pl. farokba történő injekció beadására éber állapotban.

8. A hím és nőnemű egyedek megkülönböztetése

Szükséges anyagok: vizsgáló kesztyűk

A fenti módszerek (1-3) egyikével az állatot a hátára fordítjuk, majd az urogenitális nyílások távolságát vizsgáljuk meg. Ha ezek távolsága nagy, hím egyedről, míg ha kicsi, nőstény egyedet látunk.

SZAKIRODALMI ÉS PUBLIKÁCIÓS ISMERETEK

Dr. Erős Gábor SZTE ÁOK, Sebészeti Műtéttani Intézet

A kísérletes munka megtervezésének elengedhetetlen lépése az irodalomkutatás. A következő kérdésekre kell választ találni:

- Közöltek-e korábban hasonló vagy azonos állatkísérletes eredményt
- Közöltek-e olyan eljárást, amit fel lehet használni a tervezett kísérletben

A vizsgálat végrehajtását az eredmények közzlése követi. A kézirat elkészítése során a következő szempontokat célszerű figyelembe venni:

- A legmegfelelőbb folyóirat kiválasztása (témakör, átfutási idő, díj)
- Az adott folyóirat formai követelményei
- Általános elvek

A legtöbb folyóirat online kéziratfeldolgozó-rendszert használ. Ezek regisztrációt igényelnek. A kézirat benyújtása meghatározott algoritmus szerint történik. Először a kézirat típusát kell megadni (pl. kísérletes közlemény, összefoglaló, stb.) Ezután kell beírni a kézirat címét, majd a szerzők nevét és munkahelyét. A következő lépés az absztrakt és a kulcsszavak megadása. Számos folyóirat lehetőséget ad arra, hogy bírálókat javasoljunk. Az utolsó lépés pedig a kézirat fájl(ok) feltöltése.

A beküldésért a levelező szerző felelős. Ő tölti fel a kéziratot, ő tartja a kapcsolatot a szerkesztőséggel és a társszerzőkkel. A levelező szerző feladata az esetleges javított kézirat benyújtása és a kefelevonat ellenőrzése is. A kézirathoz kísérő levelet is csatolni kell, amiben nyilatkozni kell arról, hogy a kéziratot máshol nem közzltek illetve nem áll bíráló alatt. Azt is deklarálni kell, hogy az összes szerző elolvasta a végleges verziót, és jóváhagyta annak benyújtását. Érdekes még röviden megemlíteni azt is, hogy a kézirat milyen újdonsággal járulhat hozzá a szűkebb szakterülethez.

A kézirat benyújtásakor a következő fájlokat kell feltölteni:

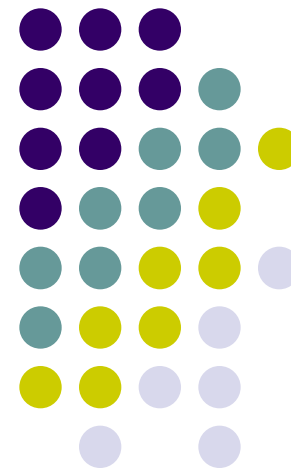
- Kísérő levél (kötelező)
- Kézirat (szöveg) (kötelező)
- Ábrák (opcionális)
- Táblázatok (opcionális)

A kézirat elkészítésekor vegyük figyelembe azt is, hogy az adott folyóirat milyen formai követelményeket támaszt az ábrákkal és a referenciákkal szemben.

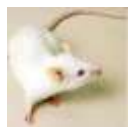
LABORATÓRIUMI ÁLLATOK ÁLTAL KÖZVETÍTETT HUMÁN PATHOGÉNEK



Vezér Tünde
SZTE ÁOK
Népegészségtani Intézet



LABORATÓRIUMI ÁLLATOK $\neq$ KÍSÉRLETI ÁLLAT



LABORATÓRIUMI ÁLLATOK FERTŐZŐ BETEGSÉGEI

A. **Indukált betegségek** - fogékonyság!

B. **Spontán betegségek**

- tünetmentes – klinikai tünetekkel járó
- horizontális terjedés (állományon belül)
- kísérleti eredmények befolyásolása
- humán fertőzések (**zoonózisok**)

Kísérletek reprodukálhatósága
Eredmények megbízhatósága !

- Genetikai háttér
- Tartási körülmények
- Higiénés státus
- SPF – CV állatház/tartás

Cél – egészséges állomány

RÁGCSÁLÓK MIKRÓBÁINAK MINŐSÍTÉSE

Nagiyama, Goto, Takakura Asia Central Institute for Experimental Animals /

ICLAS Monitoring Center

Jelenlétük nemkívánatos az állatházban !

A. Rágcsálók által közvetített humán patogének: zoonózisok

Hanta vírus

Salmonella spp

Dermatophytes

E. A higiénés státusz és a környezet indikátorai

Syphacia muris (fonalféreg faj)

NEM megengedhető

Entamoeba muris

Új kórokozótól való mentesség

Mouse norovírus, Mouse parvovírus

FELASA ajánlás – egészség-monitoring 3 havonta státuszvizsgálat!

Federation of European Laboratory Animal Science
Associations (FELASA, Európai Laboratóriumi
Állattudományi Szövetség)



Recommendations for the health monitoring of rodent and rabbit colonies

39

Health Monitoring in Accordance with FELASA recommendations

		Date of issue:				
Location:		Housing: (Barrier/Non-Barrier/VC/isolator):				
Species: Rat		Strain: (Strain)				
Species and strains present within the unit:						
	Test frequency	Latest test date	Latest results	Testing laboratory	Test method	Historical results (≤ 18 months)
Viruses						
Parvoviruses						
Kilham rat virus	3 months					
Rat parvovirus	3 months					
Toxigen's H-1 virus	3 months					
Pneumonia virus of mice	3 months					
Sindbi virus	3 months					
Slakodacrydentitis/Rat coronavirus	3 months					
Hantaviruses	Annually					
Mouse adenovirus type 1 (PL)	Annually					
Mouse adenovirus type 2 (X27)	Annually					
Reovirus type 3	Annually					
Additional organisms tested:						
Bacteria, mycoplasmas and fungi						
Bordetella bronchiseptica	3 months					
Clostridium piliforme (Tyzzer's disease)	3 months					
Corynebacterium kutscheri	3 months					
Mycoplasma spp.	3 months					
Parasitellaceae	3 months					
Salmonella spp.	3 months					
Streptococcus moniliformis	3 months					
Streptococci	3 months					
β-haemolytic (not group D)						
Streptococcus pneumoniae	3 months					
Mycobacter spp.	Annually					
Additional organisms tested:						
Parasites						
Ectoparasites:	3 months					
Species designation						
Endoparasites:	3 months					
Species designation						
Pathological lesions observed	3 months					

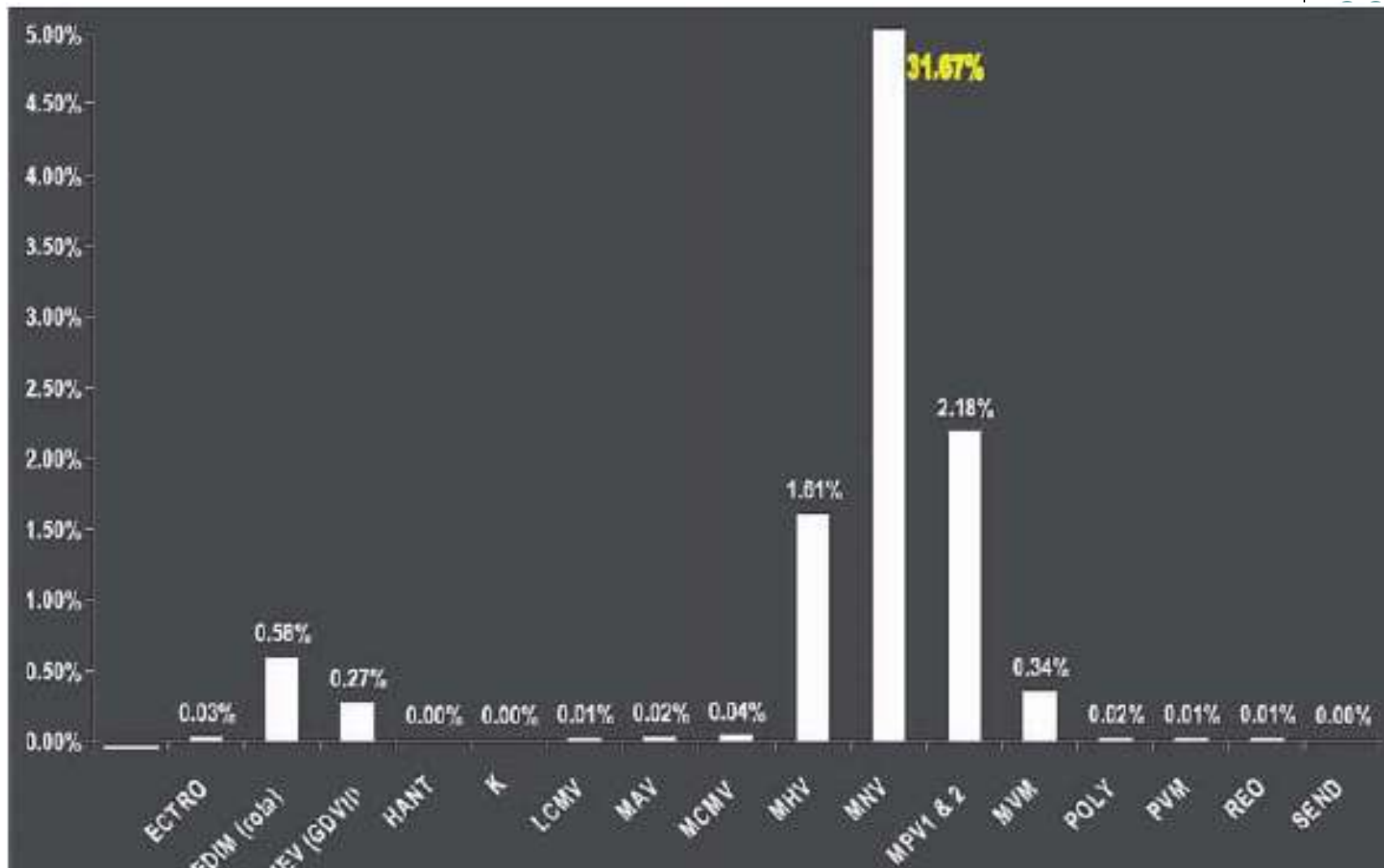
Data are expressed as number positive/number tested

Positive findings in other species in the same unit:

Abbreviations used in this report:

ELISA = enzyme linked immunosorbent assay, MICR = microscopy, IFA = immunofluorescence assay, CULT = culture, PATH = gross pathology, PCR = polymerase chain reaction, HIST = histopathology, NT = not tested

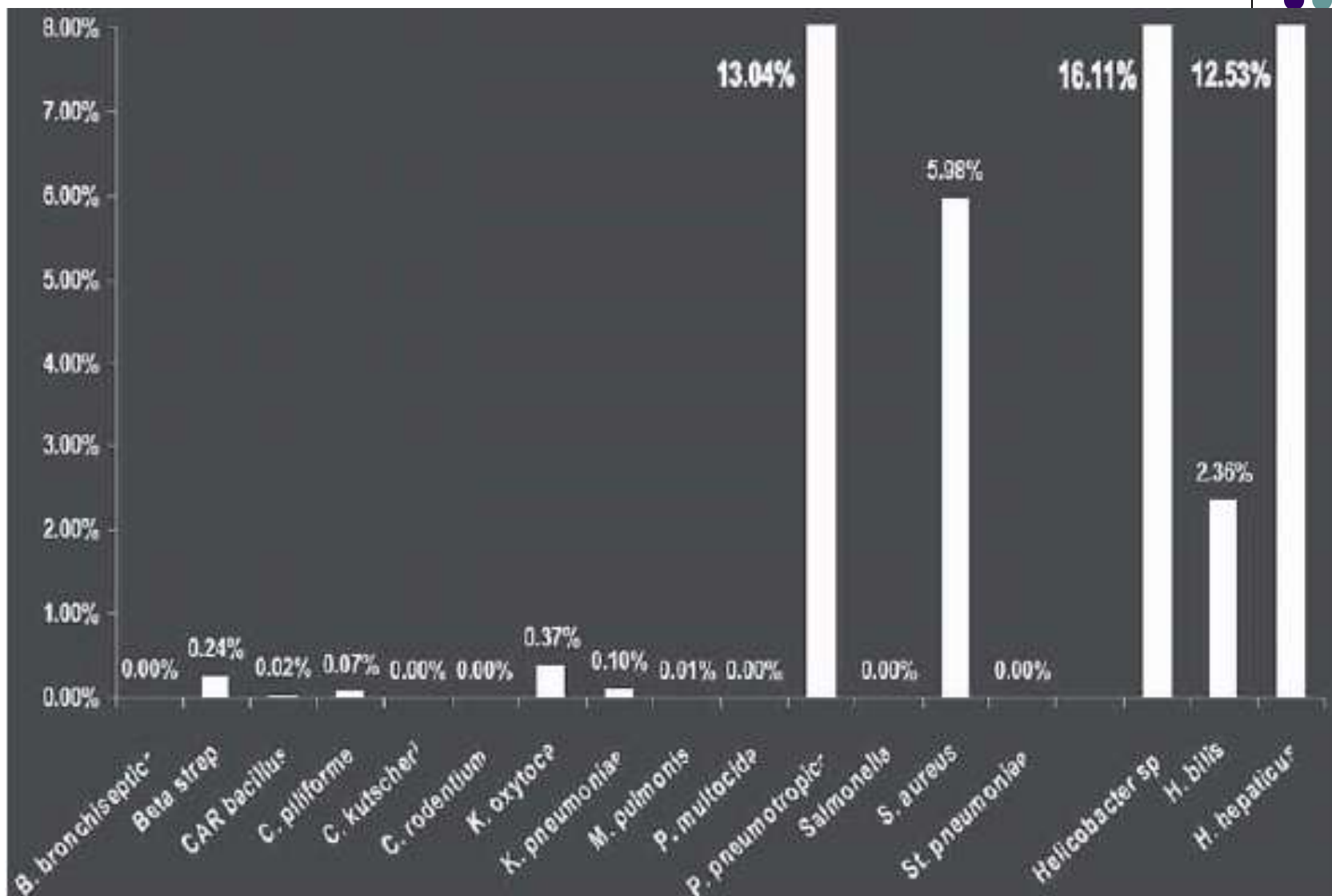
SPF állatházakban előforduló virális fertőzések



MNV₄₇: egér norovírus; **MPV1+2**: egér parvovírus; **MHV**: egér hepatitisvírus

Forrás: Anderlik P., Torday F.: Kísérleti állatok - állatkísérletek, 2010

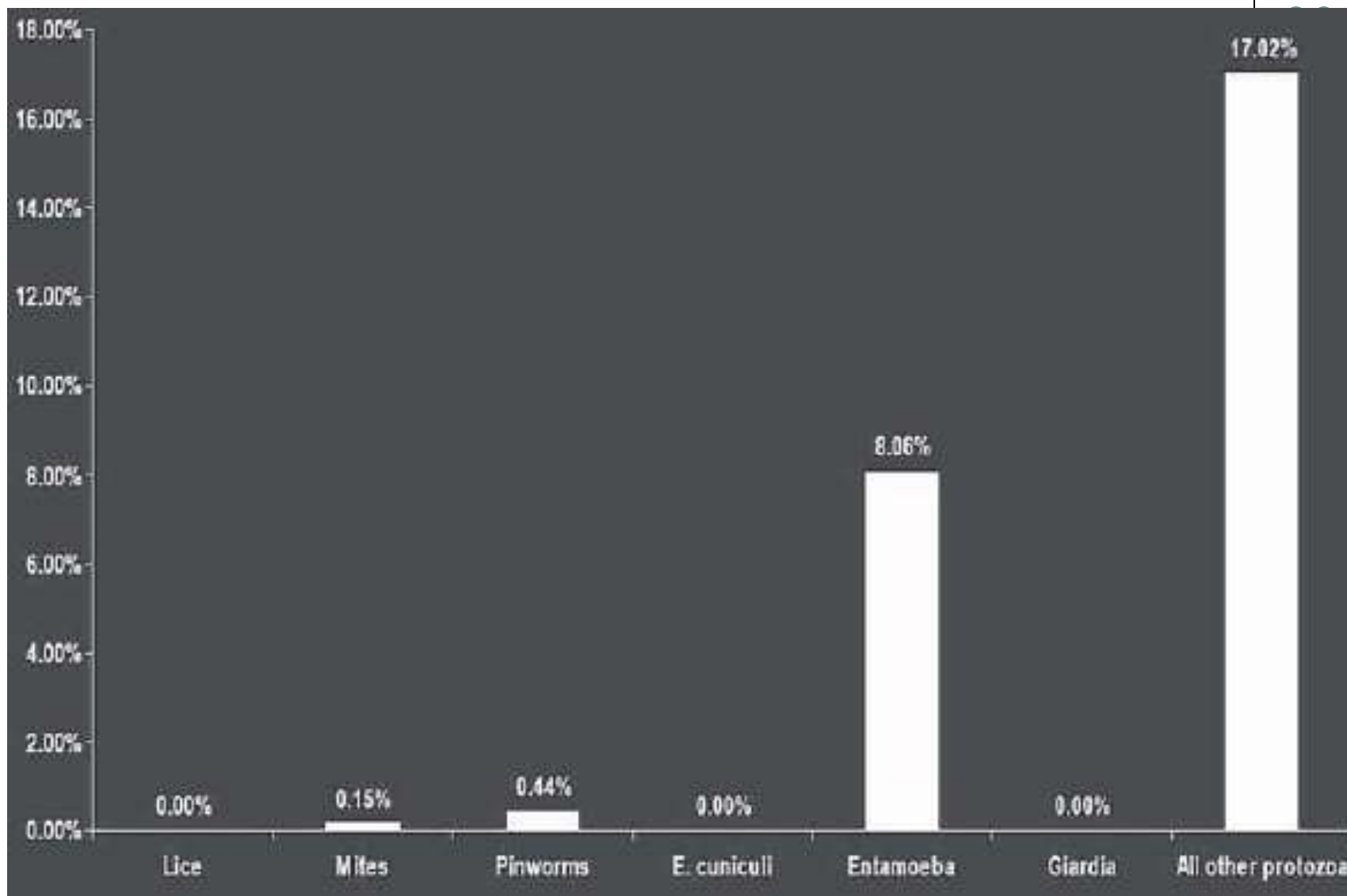
SPF állatházakban előforduló bakteriális fertőzések



Helicobacter ssp, Pasteurella pneumotrop., H. hepaticus, S. aureus, H. bilis

Forrás: Anderlik P., Torday F.: Kísérleti állatok - állatkísérletek, 2010

SPF állatházakban előforduló paraziták fertőzések



Entamoeba, fonalférgek, atkák

Forrás: Anderlik P., Torday F.: Kísérleti állatok - állatkísérletek, 2010

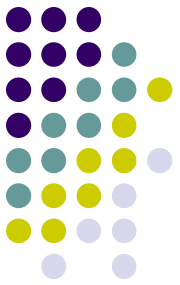
Konvencionális viszonyok között tartott SPF-Han-Wistar patkány tenyészet higiéniás státuszának „hanyatló sorsa”



	89 okt.	90 máj.	90 jún.	90 okt.	91 febr.	91 ápr.	91 máj.
Vírus szerológia							
Patkány parvo vírus (KRV)	+	-	-	+	-	-	+
Sendai vírus	-	-	-	+	-	+	+
Toolan / H1 vírus	-	-	-	-	-	+	-
Egér pneumonia vírus	-	-	+	+	-	-	-
Bakteriológia							
Sterptococcus	+	-	-	-	-	-	-
Staphylococcus	+	-	-	-	-	-	-
Pasteurella pneumotropica	+	-	+	+	+	+	+
Szövettan							
Tüdő:- lymphoid hyperplasia	-	-	-	-	+	-	-
-hurutos gennyés pneumonia	+	-	-	-	-	-	-
- tracheitis	+	-	-	-	-	-	-

50

Korábbi CV állomány → Új SPF állomány



JÁRVÁNYTANI TERMINOLÓGIA

Barrier - akadály - (épület, placenta, membrana pellucida)

Járványok

Enzootia - endaemia - helyi, állományi járvány

Epizootia - epidaemia - állományok között terjedő járvány

Járványok terjedése

Transmissio/metastasis - a fertőzés terjedése az egyedek között/a szervezetben

Terjedés iránya

homolog - faj azonos

“ $A \rightarrow A$ ”

heterolog - fajok közötti

“ $A \rightarrow \leftarrow B$ ”

vertikális - generációk közötti (anyáról utódra)

“ $A \downarrow a$ ”

horizontalis - alom, ketrec, fajtársak közötti terjedés

“ $a \rightarrow \leftarrow a$ ”

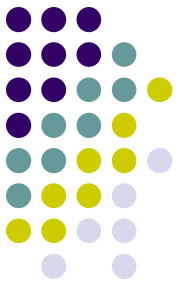
PATOGENITÁS



Patogenitás (kórokozó képesség), virulencia (támadó képesség)

	Obligat patogén (gazdaspektrum)	a körülményektől független (mindig betegséget okozó) kórokozó
	Szekunder patogén	a már kialakult betegséget nem ő okozta, de súlyosbítja
	Fakultatív patogén	a körülményektől függő (szervezetre ártalmas) kórokozó
	Szaprofita kommenzalizmus	együtt élő mikroorganizmus „egy asztaltársaságban étkező”

LABORATÓRIUMI RÁGCSÁLÓK ÉS NYÚL ÁLTAL TERJESZTETT ZOONOZISOK



A. BAKTERIÁLIS ~

Streptococcus moniliformis, S. pulmonis viridans, Staphylococcosis, pestis, Pasturellosis, Salmonellosis, Yersiniosis, Campylobacteriosis, tularaemia, borreliosis, leptospirosis, Q-láz, Rickettsiosisok, Chlamydophilosis, patkányharapási láz, C. piliformis ?

B. VÍRÁLIS ~

himlők, LCMV-choriomeningitis, CMV-fertőzés, KE, Choloradoi kullancsláz, Hanta VHL, Krími-Kongói HL, Lassa-láz, Venezuelai lóencephalitis, Encephalomyocarditis, Louping betegség

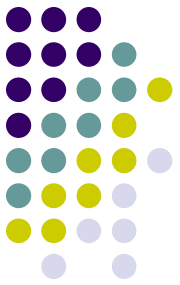
C. PARAZITÁS ~

Mycoplasma pulmonis, Giardia muris, Entamoeba histolitica, Balantidium coli, Pneumocystis carinii, (fonal)férgek: Hymenolepiasis, atkák

D. MYCOTIKUS ~

Microsporum canis, M. gypseum, Trichophyton mentagrophytes

EGYÉB LABORATÓRIUMI ÁLLATOK ÁLTAL TERJESZTETT ZOONOZISOK



A. KUTYA ~

tularaemia, tetanus, rabies; toxoplasmosis, Pneumocystis carinii, Balantidium coli, Dirofilariasis; Echinococcosis, Trichinellosis, Entamoebiasis

B. MACSKA ~

rabies; toxoplasmosis, tularaemia, Pneumocystis carinii, Trichinellosis, Entamoebiasis

C. SERTÉS ~

anthrax, leptospirosis, sertésorbánc, Salmonellosis, HEV, Pneumocystis carinii, Balantidium coli

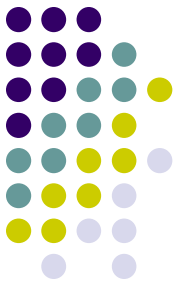
D. MAJOM ~

malaria, Herpesvírus

E. MADÁR ~

ornithosis, tularaemia, Nyugat-Nílusi láz

ZOONOZISOK ÁLTALÁNOS JELLEMZŐI



- **A fertőzés elsődleges forrása**

- állat (vadon élő, házi-, laboratóriumi állat)

- **Terjedési mód**

- emberről emberre közvetlenül nem terjednek, csak kivételes esetben
- állatokkal v. azok váladékaival való közvetlen érintkezés (pl. brucellosis)
- levegő közvetítésével (pl. ornithosis)
- állatok harapása, karmolása útján (pl. lyssa)
- (kompetens, domináns) vektorok közvetítésével (pl. kullancsencephalitis)

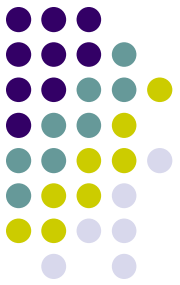
- **Megelőzés**

- állategészségügyi intézkedések
- élelmezéshigiénés normák betartása
- védőoltás

- **Egyéb**

- foglalkozási megbetegedések
- „tájkóros előfordulás” – természeti góc (ok: enzootia)
- ⁵⁵változatosság

RÁGCSÁLÓK ÉS NYÚL TERJESZTETTE BAKTERIÁLIS ZOONOZISOK



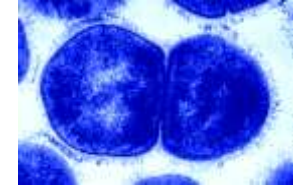
STREPTOCOCCOSIS

- **Kórokozó:** Streptococcus paeumoniae

- **Jelentősége**

Legtöbb S. törzs a nyhártyák epiphyta lakója (állatgondozó - tünetmentes garathordozás),
Néhány patogén törzs (S.p.viridans) - patkányban okozott légzőszervi kórokozó hatását
1950-ben ismerték fel.

- **Gazda:** ember, patkány, juh, sertés



STAPHYLOCOCCOSIS

- **Kórokozó:** Staphylococcus aureus

- **Gazda:** ember, patkány, sertés

- **Jelentősége**

Sebzés

Lokális gyulladás, nyirokcsomó gyulladás

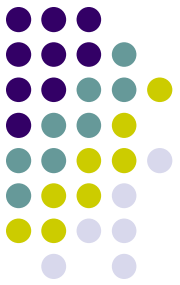
RÁGCSÁLÓK ÉS NYÚL TERJESZTETTE BAKTERIÁLIS ZOONÓZISOK



SALMONELLOSIS

- **Kórokozó:** *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, egyéb Salm.
(*S. ent.*: századfordulón rodenticidként használták Anglia, Francia o., USA)
- **Gazda:** patkány, egér, nyúl, ember
- **Terjedési mód:** faeces – direkt: szennyezett kéz
- **Kórlefolyás**
patkány, egér - ritka, jellegtelen tünet:
Akut fázis: borzolt szőr, csökkent aktivitás, súlycsökkenés, széklet (normális színű, hígabb esetleg nyálkás, véres);
Szeptikémia alatt methaemoglobinaemia: barnás szemek, livid fül, talp, farok.
Akut fázis után: tünetmentes Salmonella hordozás, szakaszos ürítés → az állományban az elhullások/megbetegedések száma mérsékelten ↑
ember: acut enteritis
- **Patológia:** akut, ill. az ezt követő 4 hétig: diffúz enteritis – ileum, coecum megvastagodás, híg gázos-véres bélsár, splenomegalia, fokális nekrózisok/granulomaképződés a májban, lépben, nyirokcsomókban.

RÁGCSÁLÓK ÉS NYÚL TERJESZTETTE BAKTERIÁLIS ZOONÓZISOK



SALMONELLOSIS

- **Diagnózis:** aszimptomatikus állatoknál a szerológia nem érzékeny, beteg állatoknál izoláció, tenyésztés, szerotípus meghatározás
Hörcsögben a pulmonáris thrombosis patognomikus
- **Gyógykezelés:** állományoknál stamp out.
Gnotobiotikus technológia → az organizmus nem hatol át a placentán.

Vakcináció, antibiotikum nem ad teljes megoldást: a vaccinázott egyedek nem betegednek meg, de a baktérium a makrofágokban tovább szaporodik az állat S. rezevoárrá válik.

- **Monitorozás:** tenyésztés fécesz mintából, hűtőszekrényben szárítva 8 napig alkalmas a tenyésztésre.

RÁGCSÁLÓK ÉS NYÚL TERJESZTETTE BAKTERIÁLIS ZOONOZISOK

PESTIS - humán

Kórokozó: Yersinia pestis

Fertőzés forrása: - vadon élő **rágcsálók** – patkányok, földi mókus, prérikutya (elsődleges gazdák, rezervoárok !)
- fertőzött **ember** (járulékos/véletlen gazda)

Lappangási idő: **bubopestis:** 2-6 nap, v.

hosszabb; **tüdőpestis:** 1-3 nap

Terjedési mód: fertőzött állatról, v. emberről ektoparazitáik (**bolha**; **kullancs**, **tetű**) csípésével (lábszár) emberre; beteg állattal való közvetlen érintkezés, v. harapás, sebzés; **tüdőpestis:** cseppinfekció

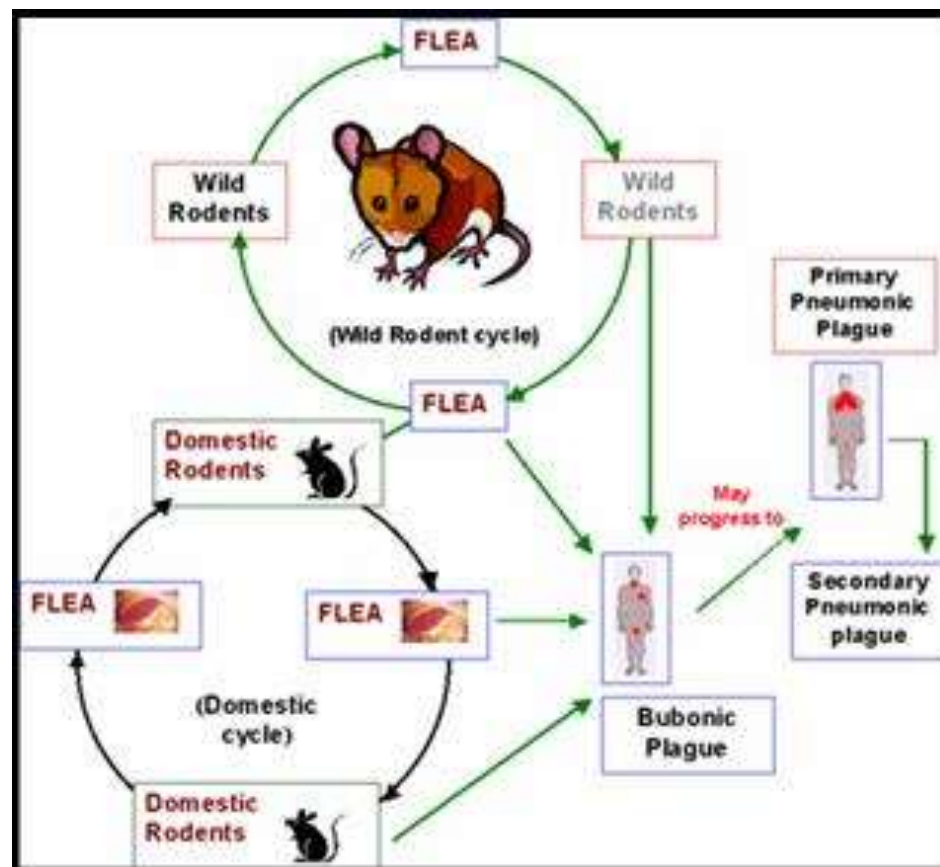
YERSINIOSIS - állat

Kórokozó: Y. pseudotuberculosis,
Y. enterocolitica

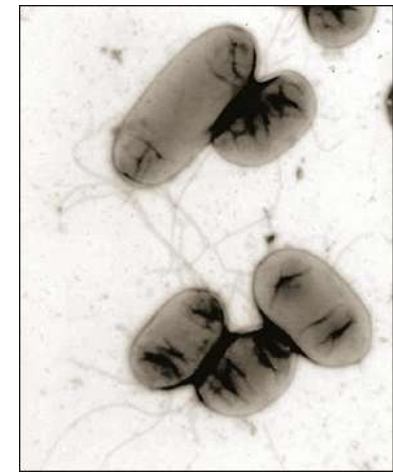
Klinikai tünet

állatban: rágcsálók septicaemiája

emberben: lymphadenitis, septicaemia



RÁGCSÁLÓK ÉS NYÚL TERJESZTETTE BAKTERIÁLIS ZOONOZISOK



YERSINIOSIS - humán

- **Kórokozó:** *Yersinia enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis*
- **Lappangási idő:** 3-7 nap
- **Fert. forrás:** állatok (**rágcsálók**, főként **sertés, kutya**, ill. **madarak**),
beteg, rekonvaleszens ürítő **ember**
- **Terjedés:** közvetlen kontaktus, víz, élelmiszer (CI alacsony)
- **Patomech.:** vékonybél (ileum) falán áthatol → Peyer-plakk, nyirokcsomók (mesenterialis), vér
- **Tünetek:** láz, gyomor- és hasi fájdalom, appendicitis szerű tünetek
- **Szövődmények:** polyarthrititis, meningitis, sepsis
- **Teendők:** BE- és KIjelentendő, labor kötelező (széklet és vér),
F fertőtlenítés (lakásban tartott állat székletét és vizeletét is), állateü.-i és élelmezéseü.-i
rendszabályok betartása

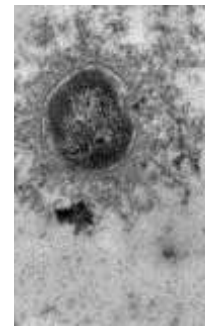
RÁGCSÁLÓK PASTEURELLOSISA

PASTURELLOSIS

Kórokozó: *P. multocida*, *P. pneumotropica*, *P. dagmatis*, *P. stomatis*

Terjedési mód: karmolás, harapás

Tünetek: emberben – lokális bőrtünetek, erithema



- **Kórokozó:** *Pasteurella pneumotropica*
Más pasteurella törzsek: *P. multocida*, *P. haemolytica*, *P. ureae*,
- **Jellemzők:** széleskörű látens elterjedtség a különböző fajok légzőszerveiben és beleiben
- **Gazda:** patkány, egér
- Betegség: látens légzőszervi megbetegedés, jelentősége ↑
- **Patkányban:**
 1. rhinitis, sinusitis, ophtalmitis, corjunctivitis, otitis media
 2. bronchopneumonia
 3. más organizmusokkal együtt;
pyrogen tályogképző megbetegedés: bőr, emlő, a nemi szervek is (gennyes endometritis a mirigy állomány hiperpláziájával)
- Serdai v. *Mycoplasma mentes* állományban nem patogén



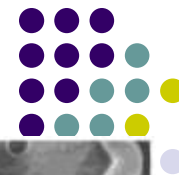
写真4 (左から上野動物園の鼠、ノドイヌの鼠、ウサギの鼠、マウスの鼠)

NYÚL PASTEURELLOSIS

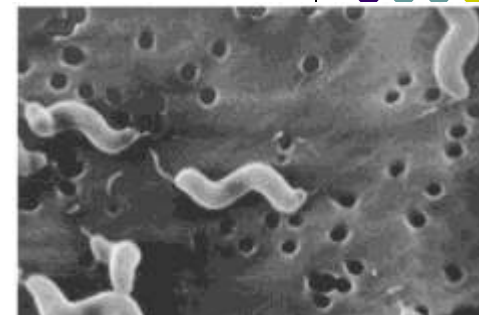
- **Kórokozó:** Pasteurella multocida
- **Gazda:** nyúl, kutya, macska, sertés, madár, ember
Többnyire nincs heterolog transzmisszió
- **Elterjedtség:** A klinikailag egészséges állatok konvencionális állományai nagy %-ban hordozzák:
Szopós korban: 10-15 %
Növendékekben: 30-40 %
Tenyész állatokban: 40-50 %
- **Patogenitás:** Általában fakultatív patogén.
Hajlamosító környezeti tényezők: por, folyamatos fedeztetés stb.
 - Társfertőzések: - Bordetella bronchiseptica,
- S. aureus
- **Tünetek :**
nátha, savós-gennyes orrhurut, könnycsatorna: kötőhártya gyulladás, fülkürt: közép és belső fül gyulladás (ferde fejtartás: torticollis), agyhártya, agyvelő gyulladás.
 - A septicémia után testszerte tályogok a bőr alatti kötőszövetben, a parenchymás szervekben (folyékony v. kenőcsös gennyes tartalommal). Gennyes-fibrines pleuritis és pneumonia.
 - A nemi szerveket is megbetegíti: méhgyulladás: pyometra; vetélés, heregyulladás
- **Monitorozás:** szerológia



RÁGCSÁLÓK ÉS NYÚL TERJESZTETTE BAKTERIÁLIS ZOONOZISOK



Campylobacteriosis - humán



Scanning electron microscope image of *Campylobacter jejuni*, illustrating its corkscrew appearance and bipolar flagella.

- **Kórokozó:** *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*
- **Lappangási idő:** 1-10 (általában 3-5) nap
- **Fert. forrás:** házi- (főleg baromfi), laborállatok (**nyúl, hörcsög**) és vadállatok, **ritkán ember**
- **Terjedés:** közvetlen kontaktus, felszíni- és ivóvíz, hús, (nyers!) tej
- **Patomech.:** vékonybél nyálkahártyán szaporodik → hőstabil exotoxin (gyulladás, necrosis)
- **Tünetek:** láz, fejfájás, hányinger, hányás, köldöktáji fájdalom, hasmenés (folyékony, bűzös, esetleg véres széklet)

RÁGCSÁLÓK ÉS NYÚL TERJESZTETTE BAKTERIÁLIS ZOONOZISOK



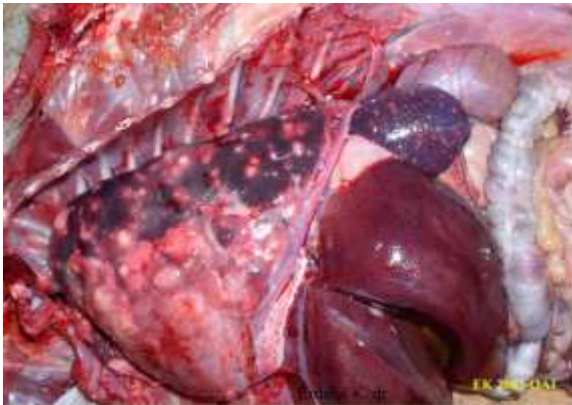
TULAREMIA

Kórokozó: *F. tularensis* ssp. *Tularensis*, ssp. *Holarctica*

Rezervoár:

vadon élő rágcsálók (faji különbségek!)

Fertőzés: ember: 6 megjelenési forma



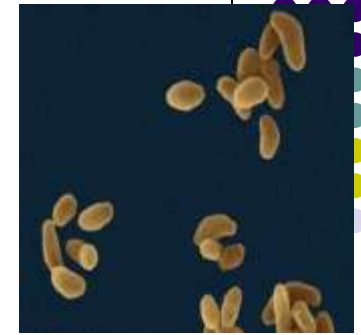
Huszármajom



Humán (hazai eset)

Mezei nyúl

TULAREMIA



- **Kórokozó:** Francisella tularensis
- **Fertőzés forrása:** fertőzött ember, házi-, vadon élő állatok
- **Rezervoár: vadon élő emlősök: mezei nyúl, mezei pocok, patkány**, egér, mókus, menyét, háziállatok: birka, macska, kutya, házinyúl; madarak, halak; **kullancs!** (H. concinna) - transzovariálisan utódjának !
- **Szezonalitás:** május-június-július (csapadék – magas páratartalom – kullancs-aktivitás↑)
- **Lappangási idő:** 3-8 nap
- **Terjedés:**
 - direkt:** fertőzött állat szőrével, bőrével;
 - indirekt:** mosogatóvíz, munkaeszközök útján, fertőzött állat harapása
- **Tünetek:** behatolás helye, kórokozószámtól, virulenciától függően változó:
 - 80%-ban:** ulceroglanduláris;
 - 1-2%-ban:** oculogland; orogland, abdominalis, septicus/typhoid; pneumonia
 - 20%-ban:** bőrtünetek - maculopapulosis exanthemák, erythema nodosum
- **Rizikócsoportok:** laboratóriumi dolgozók

RÁGCSÁLÓK ÉS NYÚL TERJESZTETTE BAKTERIÁLIS ZOONOZISOK



BORRELIOSISOK

Lyme-kór

Kórokozó: *Borrelia burgdorferi*, *B. afzelii*, *B. garinii*

Terjedés: természeti gócfertőzés

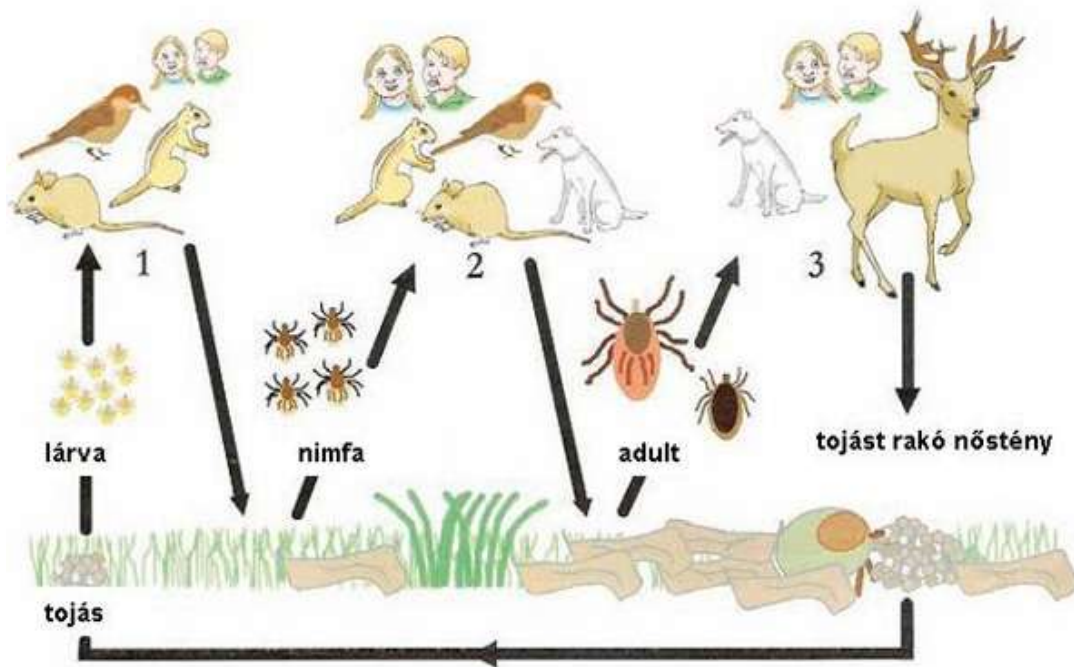
Vektor: kullancs



Visszatérő láz

Kórokozó: *B. hermsii*, *B. parkeri*

Tünet: ismétlődő lázas roham



Lyme kór klinikai tünetei



Lyme rash



Lympadenositis cutis benigna (nyiroksejtes bőrcsomó)



Acrodermatitis chronica atrophicans (végtagi bőrsorvadás)



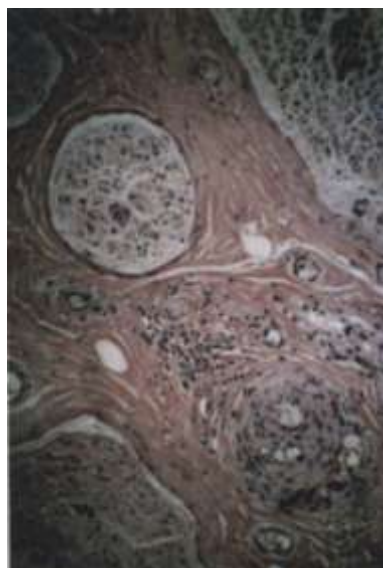
Bokaizületi arthritis



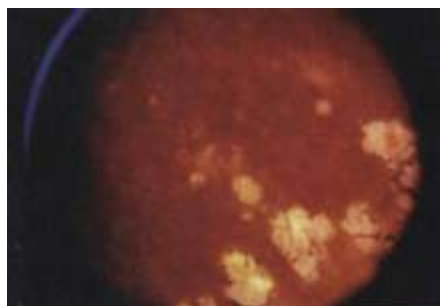
Sүн és fehérlábú egér, mint „kullancsfutár”



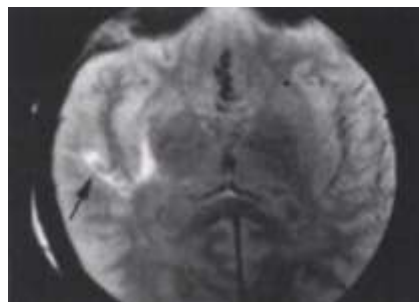
Ixodes ricinus csípés akut bőrreakciója



⁶⁷Meningoradiculitis cranialis and spinalis



Chorioretinitis



Progressiv encephalomyelitis (cranial and cervical MRI)



RÁGCSÁLÓK ÉS NYÚL TERJESZTETTE BAKTERIÁLIS ZOONOZISOK

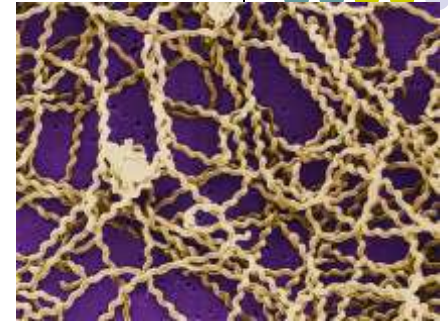


LEPTOSPIROSIS

Kórokozó: *L. interrogans* csoport

Rezervoár: egér, patkány, hörcsög, nyúl

Jellemző: hosszú tünetmentes hordozás



Leptospira (spirocheta)



Petechiás rash



68
Septikus vasculitis
(*L. ictero-haemorrhagiae*)



Conjunctiva suffusio

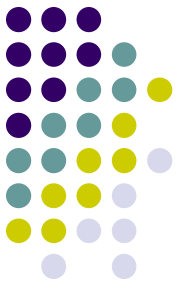
Leptospiraemiás
conjunctivitis, icterus



Leptospiraemiás nephritis,
tubuláris necrosis (állati vese)

Leptospirosis

(iszapláz, mocsári láz≠malária,
rizsföldi betegség, víziláz, „hansági láz”)



- **Kórokozó:** Leptospira icterohaemorrhagiae (**patkány**);
L. grippotyphosa, L. hebdomadis (**egérfélék**);
L. pomona (**sértés**);
L. hyos (**sértés**)
- **Fertőzés forrása:**
beteg, v. fertőzött állat
(**rezervoár**: vadon élő **kis rágcsálók, és emlősök** - **patkány, egér**, pocok,
néhány háziállat - **sértés, kutya**)
- **Lappangási idő:** 5-14 nap (**rövid lappangás** = súlyos fertőzés, rossz prognózis)
- **Terjedés:** **direkt**: fertőzött állatok vizelete

Tünetek 2 fázisú: 1.: "**leptospiraemia**": hirtelen kezdet, 39-40C láz, hidegrázás,
izomfájdalmak, conjunctivitis, hepato-splenomegalia;
4-7 nap láztalan szak;
2.: **szervi manifesztáció**: serosus meningitis,
hepatocelluláris károsodások, nephritis, tubuláris necrosis

RÁGCSÁLÓK ÉS NYÚL TERJESZTETTE BAKTERIÁLIS ZOONÓZISOK



PATKÁNYHARAPÁSI LÁZ

Kórokozó: Streptobacillus moniliformis, Spirillum minus

Rezervoár: patkány (tünetmentes hordozás – szájüreg, légutak)

Terjedési mód: harapás, karmolás

Lappangási idő: 2-10 nap

Tünetek:

emberben – láz, fejfájás, „influenza-szerű” tünetek,
izomfájdalom, ízületi gyulladás, myocarditis, pneumonia,
meningitis, bőrküütések



CHLAMYDIOSIS

Kórokozó: C. psittaci, C. abortus, C. felis, C. pecorum

Rezervoár: egér, tengerimalac, nyúl

Tünetek:

állatokban - pneumonia, conjunctivitis, enteritis, arthritis
emberben – aerogen fertőzés, „influenza-szerű” tünetek

RÁGCSÁLÓK ÉS NYÚL TERJESZTETTE BAKTERIÁLIS ZOONOZISOK



C. burnetii

Q-LÁZ (Erlichiosis)

- **Kórokozó:** *Coxiella burnetii* (alacsony ID, nagy rezisztencia)
- **Fertőzés forrása:** házi- (juh, kecske, szárnyasok)
- **vadon élő (rágcsálók, szárnyasok)** - székletükkel, vizeletükkel, tejükkel, szőrükkel, tollukkal ürítik – változatos fertőzési utak
- **Terjedési mód:** állatkontaktus (állatkerti simogatók!), inhaláció, per os (nyers tej!)
- **Lappangási idő:** 18-21 nap
- **Rizikó:** foglalkozás, lakóhely (Alföld: falu, tanya), állattartás ténye – **Rizikófoglalkozások:** állattenyésztő, mg-i munkás, vágóhídi-, csatorna- szennyvíztelepi- /víztelepi dolgozó, vadász, állatorvos, erdész, hulladéktp,
- **Tünetek:** 40%-ban aspecifikus klinikai kép; ffi>nő (3:1); 5%-ban chr. → 65-70% †*
láz, fejfájás, elesettség,; felső légúti gyulladások, atipusos pneumonia (pneumonitis) → folyamat súlyosbodása, myalgia, endocarditis, hepatitis, granulóma (máj, mellékvese, csont) – *kezeletlen endocarditis!!
- **Átvészeltisége:** tartós immunitást eredményez (Th: doxycyclin, tartós utánkövetés)

RÁGCSÁLÓK ÉS NYÚL TERJESZTETTE ZOOÑOZISOK



RIKETTSIOZISOK

Vektor:

Sziklás hegységi foltos láz: kullancs

Rikettsiás himlő: atka

Egértýphus: bolha

Bozóttyphus: atka

Szibériai kullancstyphus: kullancs

Rezervoár: - vadon élő rágcsálók

- **laboratóriumi rágcsálóktól** nem jellemző, hogy megfertőződik az ember

Tünetek:

emberben: általános, lázas megbetegedés – fejfájás, izomfájdalom, nyirokcsomógyulladás, kiütések

COLORADOI KULLANCSLÁZ

Kórokozó: Reovírus

Rezervoár: **rágcsálók**

Vektor: kullancs

Tünetek: ember: fejfájás, izomfájdalom, meningitis

RÁGCSÁLÓK ÉS NYÚL TERJESZTETTE VIRÁLIS ZOONOZISOK



HIMLŐK (majomhimlő, tehénhimlő)

Rezervoár: afrikai **rágcsálók**

Tünetek:

állatokban – himlős bőrelváltozás

emberben – láz, fejfájás, himlős bőrtünetek



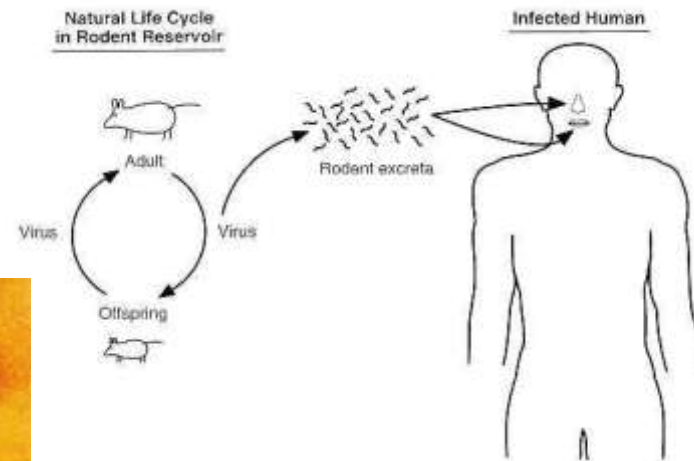
Tehénhimlő
(fertőzés patkánytól)



majomhimlő

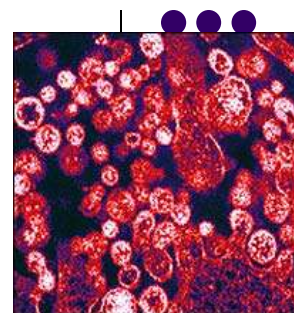
RÁGCSÁLÓK ÉS NYÚL TERJESZTETTE VIRÁLIS ZOONOZISOK

Choriomeningitis lymphocytica



- **Kórokozó:** LCM vírus (Arenavírus; TERATOGEN! – vetélés, fejlődési rendellenesség)
- **Terjedési mód:** inhaláció, enterális (fertőzött élelmiszer),
vertikális (anyáról magzatra)
- **Fertőzés forrása:** házi- és mezei egér, hörcsög, aranyhörcsög, tengerimalac
(tünetmentes hordozás - légúti váladékukkal, vizeletükkel, székletükkel ürítik)
- **Lappangási idő:** 8-13 nap
- **Patomechanizmus:**
légutak (szaporodás) → nyirok-/vérkeringés → KIR: meningitis serosa; myelitis
enterális (bélnyálkahártyában szaporodás) → viraemia → meninxek
- **Tünetek:**
„enyhe”: influenza-szerű (láz, fejfájás, hányás), enyhe meningizmus
„súlyos”: meningitis, meningoencephalitis, letális kimenetel (<1%)
Congenitalis LCM vírusinfekció: abortus, chorioretinitis, congenitalis hydrocephalus, periventricularis calcificatio, mentális retardáció

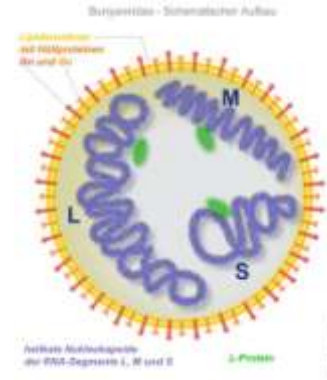
RÁGCSÁLÓK ÉS NYÚL TERJESZTETTE VIRÁLIS ZOONOZISOK



LASSA LÁZ

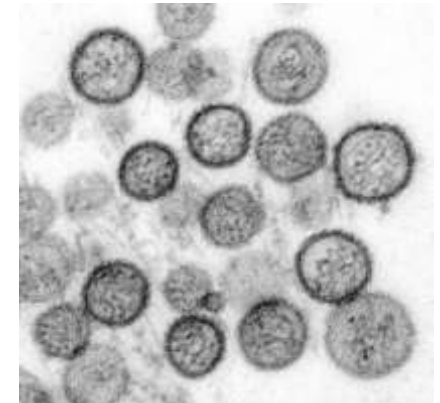
- Elterjedtség: Ny-Afrika;
endemiás: Guinea, Libéria, Sierra-Leone, Nigéria + más Ny-Afrikai terület
- Kórokozó: Lassa vírus (Arenaviridae család)
- Fertőzés forrása: (vadon élő) rágcsálók, fertőzött ember
- Lappangási idő: 3-17 nap
- Terjedési mód: vírushordozó rágcsáló váladékaival szennyezett étel, ital fogyasztása, szennyezett por inhalációjával, nosocomiális (vér, véres váladékok, anyatej, vizelet - közvetlen kontaktus, percutan sérülés)
- Tünetek:
 - „tünetmentes” fertőzés;
 - „influenza-szerű” kórkép;
 - „súlyos megbetegedés” (nosocomiális): fokozatos lázas állapot, láz, fejfájás, arcduzzanat, nausea, hasmenés, köhögés, izomfájdalom, conjunctivitis, diffúz kapilláris vérzések (has, végtagok), encephalitis
- Szövődmény: hajhullás, sükettség
- Letalitás: 30-50% (nosocomiális)
- Megelőzés: rágcsálóirtás, élelmiszer védelme, kísérleti állatok szűrővizsgálata, egzotikus állatok ellenőrzött importja

RÁGCSÁLÓK ÉS NYÚL TERJESZTETTE VIRÁLIS ZOONOZISOK



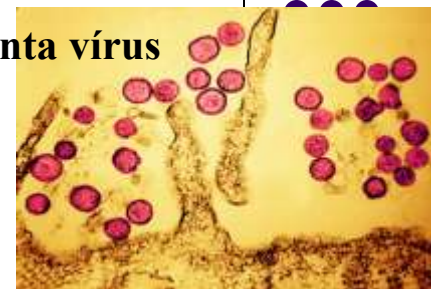
Hanta vírus

- **Kórokozó:** Hanta vírus (Bunyaviridae család, RNS tartalmú vírus)
- Gazda: **patkány, egér, humán**
- **Patogenitás:** potenciális humán patogén, rágcsálókban alacsonyabb patogenitású
- **Járványmenet:**
horizontálisan gyorsan terjed, heterolog transzmisszió lehetséges, rágcsálókban aszimptomatikus fertőzést eredményez.
Rágcsálókban a kb. 7 napos virémia után életre szóló szeropozitivitás, a vírus a nyállal, széklettel, legtovább a vizelettel (kb. 9 hónapig) ürül.
- **Rágcsáló patológia:** bronchopneumonia, multifocalis interstitialis pneumonia, focalis légzőhám hyperplasia és nekrózis, perzisztáló peribronchiális lymphocytás infiltráció



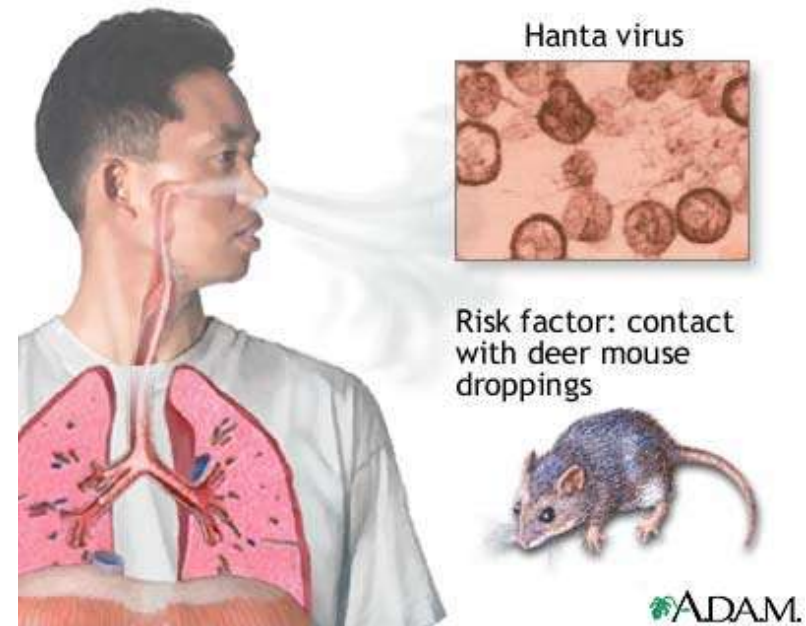
Hantavírus okozta megbetegedés - humán

Hanta vírus



- **Elterjedtség:** **Korea, Kína, K-Oroszország, Balkán, USA**
- **Fertőzés forrása:** különböző rágcsálófajok (**egerek, patkányok**, pockok)
- **Lappangási idő:** néhány nap - 2 hónap, általában 2 - 4 hét
- **Terjedési mód:** rágcsálók váladékaiból képződött aerosol inhalációjával; emberről-emberre nem terjed
- **Tünetek:**
 1. fázis = „**lázás szak**”: láz, fejfájás, étvágytalanság, hányás, arc kipirulása, petechiák (garat, lágy szájpad, bőr), belövellt conjunctiva, leláztalanodás
 2. fázis = „**hypotensív szak**”: shockhoz vezető hypotensió, haemorrhagia
 3. fázis = „**oliguriás szak**”: normo-, v. hypertensio, állandó hányinger, hányás, súlyos vérzések, olyguria
 4. fázis = „**diuretikus szak**”: gyógyulás kezdete
 5. fázis „**lábadozás szakasza**”: hetekig-hónapokig tarthat
- **Megelőzés:** rágcsálóirtás, étel-miszer védelme

Pulmonalis syndromával járó Hantavírus okozta megbetegedés (HPS)



- **Fertőzés forrása:** különböző rágcsálófajok (**egerek, pockok, patkányok**)
- **Lappangási idő:** néhány nap - 6 hétig, általában 2 hét
- **Terjedési mód:** rágcsálók váladékaiból képződött aerosol inhalációjával; emberről-emberre nem terjed
- **Tünetek:** láz, izomfájdalmak, fejfájás, köhögés, kétoldali **interstitialis tüdőinfiltráció**, pleurális vérzések, tüdőoedema, hirtelen dyspnoe, hypotensio, (felnőttek: **ARDS**), légzési elégtelenség, **cardiogen shock**;
- **Letalitás:** **40-50%** is lehet
- **Megelőzés:** rágcsálóirtás, étel- és italok védelme, kísérleti állatok szűrővizsgálata, egzotikus állatok ellenőrzött importja

Pulmonalis syndromával járó Hantavírus okozta megbetegedés



Szarvasegér
(*Peromyscus maniculatus*)



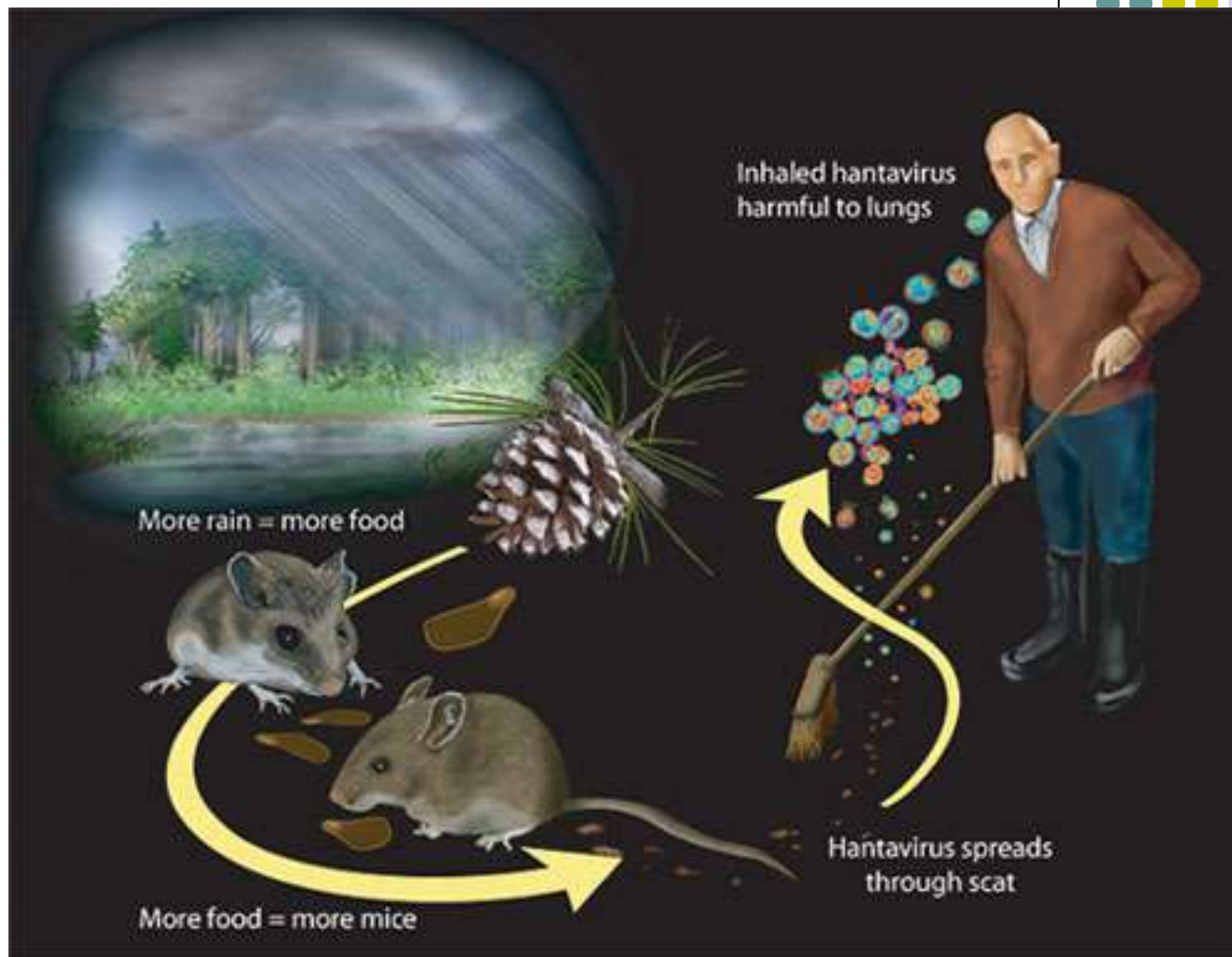
Gyapótpatkány
(*Sigmodon hispidus*)



Rizspatkány
(*Oryzomys palustris*)



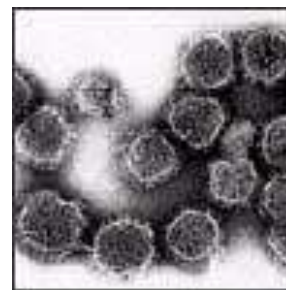
Fehérlábú egér
(*Peromyscus leucopus*)



Hanta vírus korrelációja az esőzéssel. A rágcsálók terjeszthetik a Hanta vírust vizeletükkel, ürülékükkel, nyálukkal, vagy fészekanyagukkal. Humán megbetegedés a friss aeroszolizált vírus belélegzésével történhet.

RÁGCSÁLÓK ÉS NYÚL TERJESZTETTE VIRÁLIS ZOONÓZISOK

Krími-kongói haemorrhagiás láz (CCHF)



Ixodes kullancsfajok

- **Kórokozó: Krími-Kongó HL vírus (Bunyaviridae család)**
- **Fertőzés forrása:** fertőzött ember, vagy állat
- **Lappangási idő:** terj. módtól függően: 1-3 (max. 9 nap); 6-13 nap
- **Terjedési mód: természeti ciklus: kullancs - állat (vadonélő rágcsálók, juh, kecske, szarvasmarha, strucc) - kullancs (Hyalomna fajok)**
 - kullancs csípésével (transz-ováriális transzmisszió);
 - fertőzött ember, v. állat vérével/szöveteivel való kontamináció (**viraemia!**)
- **Tünetek:**
 - „**tünetmentesség**”, v. néhány napos enyhe megbetegedés;
 - „**típusos**”: hirtelen kezdődő hidegrázás, láz (két-fázisú), végtag-, hátfájdalom, fejfájás, arcduzzanat, conjunctivitis, photophobia; confusio, agresszió; aluszékonyság, depresszió, haemorrhagiás enanthema (lágyszájpad, uvula, torok nyh), petechiás rash (mellkas, has ...), vérzések (íny, orr, tüdő, uterus, bél, máj)
- **Letalitás: 30%** (betegség 2. hetében; **2-50%!)**
- **Rizikócsoportok: mezőgazdasági, vágóhídi munkások, állatorvosok**
- **Megelőzés:** vektor-/rágcsálókontroll (repellenesek, akaricidek, védőöltözet), étel-miszer védelme, kísérleti állatok szűrővizsgálata, egzotikus állatok ellenőrzött importja (K-Európa: inaktivált vakcina)

RÁGCSÁLÓK ÉS NYÚL TERJESZTETTE VIRÁLIS ZOONÓZISOK



Kullancsencephalitis - humán

- **Előfordulás:** **természeti góccok:** NY, D, É-i megyék
középkorúak, 50-350 fő/év (↓)
- **Kórokozó:** **kullancsencephalitis vírus** (KEV, Flavivírus)
- **Fertőzés forrása:** **rágcsálók, kisemlősök/emlősök (patkány)**
- **Terjedési mód:** közönséges **kullancs** (Ixodes) **csípése** (vektor és rezervoár is); fertőzött juh, kecske teje
- **Lappangási idő:** 4-21 nap, általában 1-2 hét
- **Patomechanizmus:** vérszívással a vírus (a nyállal) emberbe jut → perif. nyirokcsomó, lép → viraemia → KIR-ben focalis-, oedematosus-, bevérzéses góccok → kéreg és gerincvelő sejtek pusztulása
- **Tünetek:** **abortív lefolyás (70-90%),** vagy
 - **„grippe-s” szakasz (10-30%):** láz, levertség
 - **„második = lokalizációs/manifesztációs” fázis:** láz, meningitis (45%), myelitis/radiculitis (13%), meningoencephalitis (42%), prognózis: † (1%), atrophia
- **Megelőzés**
 - aspecifikus (kullancsirtás, repellenesek; kullancscsipessel korai vektor eltávolítás)
 - **aktív immunizálás** (preexpoziációs: **alulimmunizáltság elkerülésével!** OK: ismételt Flavivírus expozíció esetén: ellenanyag-függő fertőzés-fokozódás – WNV + KEV!)

RÁGCSÁLÓK ÉS NYÚL TERJESZTETTE PROTOZOOM ZOONOZISOK



MYCOPLASMOSIS MURINE RESPIRATORY MYCOPLASMOSIS



- **Kórokozó:** Mycoplasma pulmonis
- **Jellemzők:** néhány napig életben marad a bélsárban, ivóvízben, alomban
- **Gazda:** - **patkány, egér, rágcsálók:** M. pulmonis
- Egyéb háziállatok: M. gallinarum, M. bovis, M. agalactiae
- **Ember:** M. pneumoniae (atipikus pneumonia), M. genitalium, M. penetrans, Ureoplasma parvum
- **Patogenitás:** obligát patogén, az idősebb állatok érzékenyebbek !!

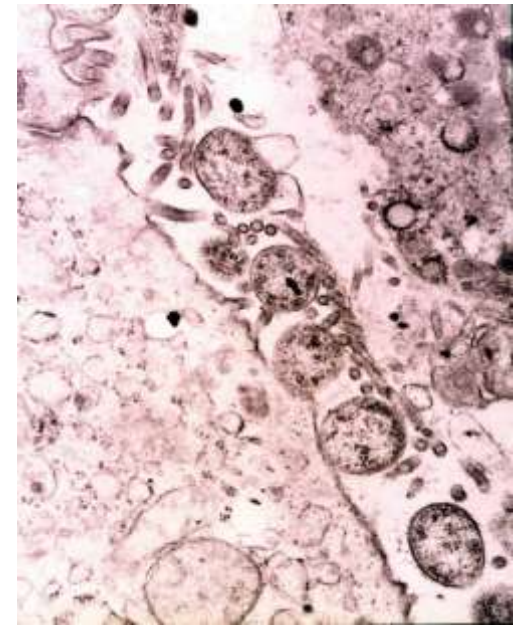
Befolyásoló tényezők: S. pneumoniae, Sendai vírus, Pasteurella pneumotropica

Patkány: max. immunkompetenciát 9 hetes korban éri el, később kb.~96 hétig állandóan ↓

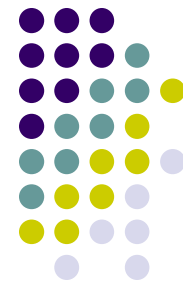
- **Terjedési mód:** aeroszol; **vertikális !!** és **horizontális transzmisszió**

MYCOPLASMOSIS

- **Betegség:** Progresszív megbetegedés
- A Mycoplasma szoros kontaktusban van az epithellel.
Légzőhám: ciliostasis → nagy mennyiségű exudatum
felszaporodás → BALT (bronchial associated lymphoid tissue)
hyperplasia
- **Klinikum:** alacsony morbiditás, a mortalitás kumulatív, több hónap után.
- **Tünetek:** Jellegzetesen látens "inkább hallani mint látni", a megbetegedettek tünetei nem uniformisak: az orr és a szem körül váladék, **vörös könnyezés**, a felső légutak és a középfül nyh gyulladása; légcső-, bronchus-, tüdőgyulladás
- **Betegség:** csak nőstényekben okoz krónikus betegséget. (humán: M.hominis)
 - A fertőzöttek kb. 20%-a meddő, a többiekénél alomszám csökkenés.
- - Az érintett állomány kb. 30 %-ában jelentkeznak kórbonctani leletek: féloldali purulens oophoritis és salpingitis, kitágult bursa, tuba, mirigycsövek, epiteliális hyperplasia.
 - Hímekben ritkán heresorvadást okoz.
 - A nemi szervek fertőződése: coitus, septicaemia
- **Diagnózis:** tenyésztés: pozitivitás legkorábban 3 hét után, szövettan
- **Gyógykezelés:** a vakcina fejlesztés alatt ??

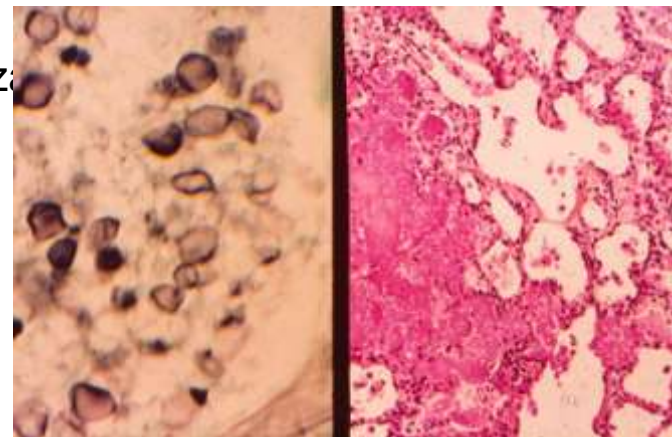


PNEUMOCYSTIS CARINI



- **Jellemzők:** nem osztályozott ubiquiter gomba v. spórás protozoon, a tüdő alveolusaiban él, a 70-es években fedezték fel.
- 3 megjelenési formája:
trophozoit, precysta, cysta (cystában fejlődik ki a trophozoit)
- **Gazda:** patkány, egér, tengerimalac, hörcsög, nyúl, kutya, macska, juh, sertés, ember
- **Patogenitás:** alacsony patogenitású, fakultatív patogén minden fajra, különösen a fiatalokra (patkány: 10-16 hetes kor)
 - Immundeficiens, rossztáplált, v. generalizált megbetegedésben szenvedő emberekben légzőszervi betegséget és halált okozhat
- **Betegség:** hisztiocytás/plazmasejtes pneumonia
Ált. szubklinikai, de tartós immunszuppresszióban 6-8 hét elteltével: borzolt szőrzet, súlyvesztés, nehézlégzés, cyanosis → trophozoitok és cysták az alveolus üregébe kiválasztódott mucinózus váladékban, az interstitiumban hisztiocyták, plasmasejtek
- **Monitorozás:** ajánlott, gnotobiotikus technikával sem z

intracysta test v.trophozoitok kimutatása;
ezüstimpregnáció, Giemsa, PAS

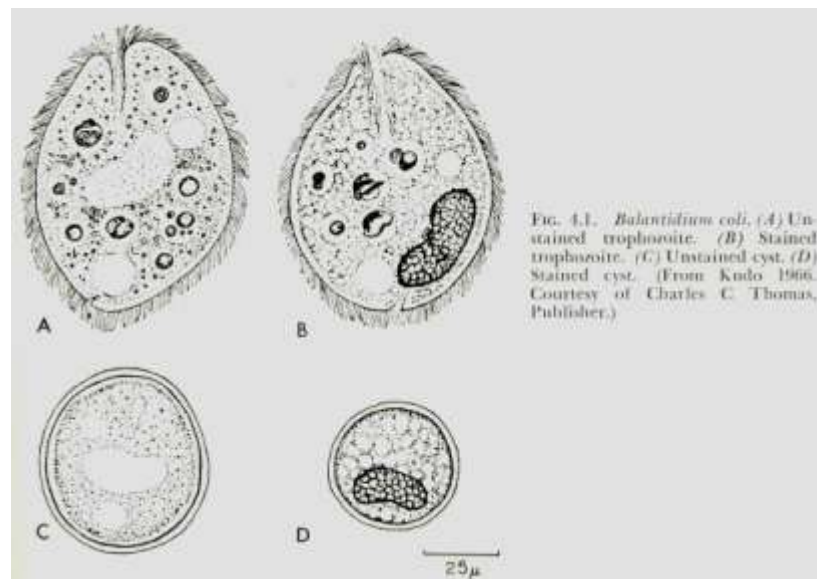


RÁGCSÁLÓK ÉS NYÚL TERJESZTETTE PROTOZOOTON ZOONÓZISOK



BALANTIDIUM COLI

- **Jellemzők:** A vastagbelek lakója. Nagy ciliata.
Trophozoitok: ovoid, 30-150 x 25-150 µm, csillókkal borított test, egyik végén szájnyílással, gyorsan mozog.
 - **Gazda:** patkány, hörcsög, kutya, sertés, ember
 - **Fertőződés:** p.o. fertőződés a B. cystával
 - **Patogenitás:** általában nem patogén, de szekunder kórokozóként a léziókat súlyosbíthatja hyaluronidase tartalmánál fogva.
- Emberre** patogén lehet → hasmenés, ulceratív enteritis (hasonlóan az Entamoeba histolyticához)



RÁGCSÁLÓK ÉS NYÚL TERJESZTETTE MYCOTICUS ZOONOZISOK



DERMATOMYCOSIS

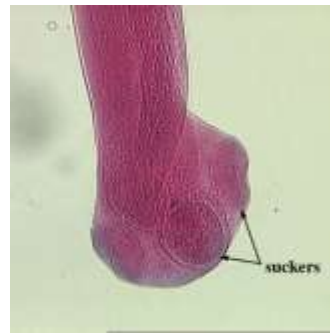
- **Kórokozó:** Microsporum spp. (M. canis), Trichophyton spp
- **Gazda:** **egér, tengerimalac, 1965-óta nem jelentkezett patkányban**
- **Betegség:** farok, hát, nyak: discoid alopecia kiemelkedő szegéllyel, v. szabálytalan, kipirult, szőrhiányos gennyedző szemölcsök.
- **Terjedés:** kontaktus
- **Tünetek:**
 - Rágcsálók: tünetmentes
 - Ember: enyhe, kerek bőrelváltozás



- **Diagnózis:**
gombák kimutatása (Gridly gombafestés, PAS),
bőrkaparék: 10% KOH 30'-ig feltárni, majd
tárgylemezen, vaselin gyűrűben →
mikroszkópizálni: a mycelák az elszarusodó
hámsejtekben, v. 2- 3 µm átmérőjű spórák



RÁGCSÁLÓK TERJESZTETTE FÉREGFERTŐZÉS



H. diminuta scolex



H. nana



2,5-8 cm x 0,9 mm

HYMENOLEPIASIS (törpe-galandférgesség; törpe-Taeniasis)

- **Kórokozó:** Hymenolepis nana, *H. diminuta*
- **Fertőzés forrása:** fertőzött **ember, patkány, egér** (végső gazdák)
- **Terjedés:** direkt kontaktus, enteralis, használati tárgyak közvetítésével
- **Lappangási idő:** 2-3 hét
- **Patomech.:** per os pete → vékonybél (6 horgas oncosphaerából kibújik a lárva) → nyh-ba befurakodás (intramurális stádiumban növekedés és cysticeroid képzés) → béllumenbe visszajutás (4-6 nap múlva) → ivarérettség (9-14 nap) → vékonybél alsóbb szakaszában élősködés
- **Tünetek:**
 - tünetmentes
 - masszív fertőzés: GI tünetek, enterocolitis, sec. anaemia, álmatlanság, epileptikus görcsök

H. diminuta cisticeroid



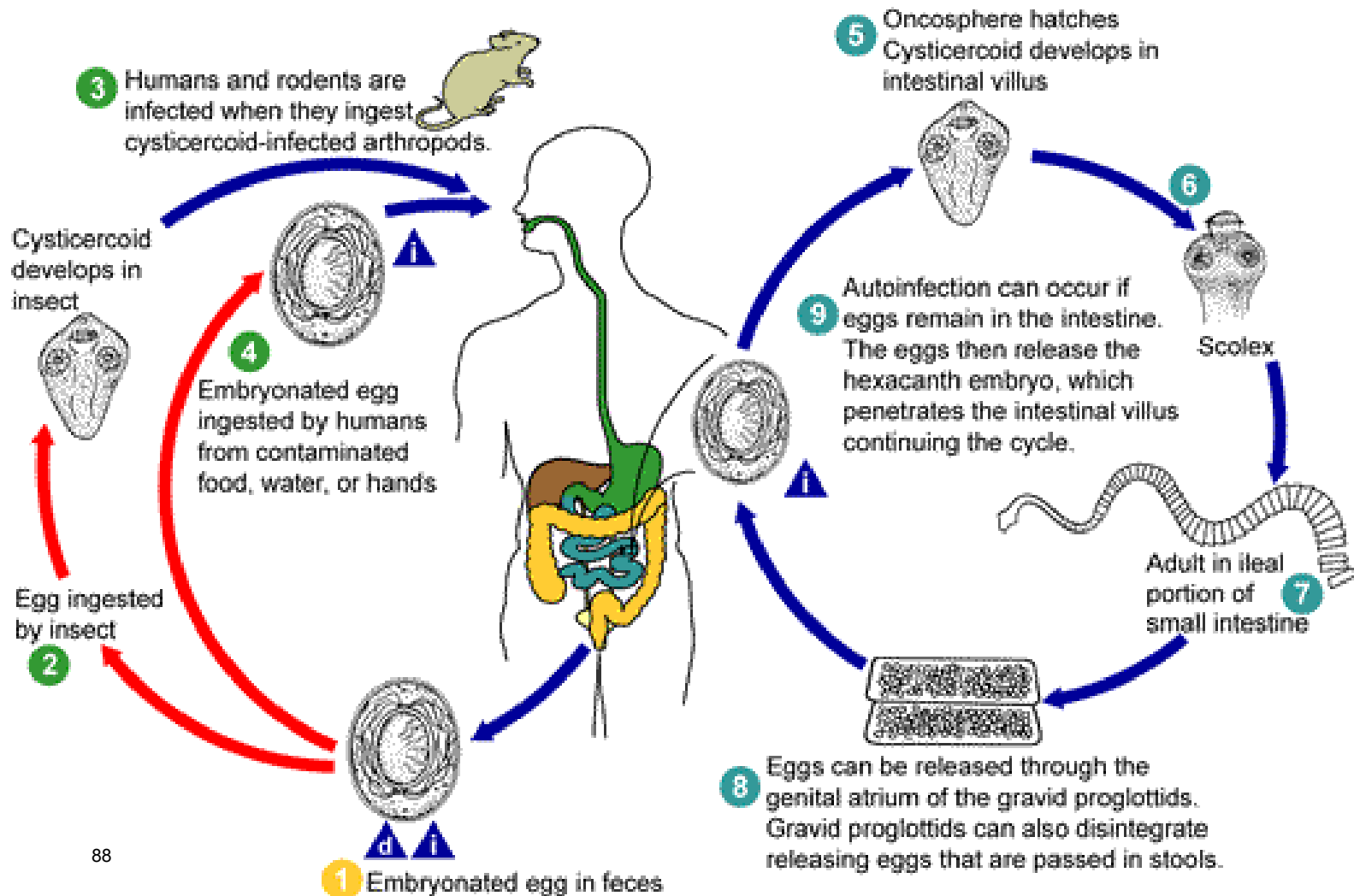
Hymenolepiasis (*H. nana*)



<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx>



i = Infective Stage
d = Diagnostic Stage

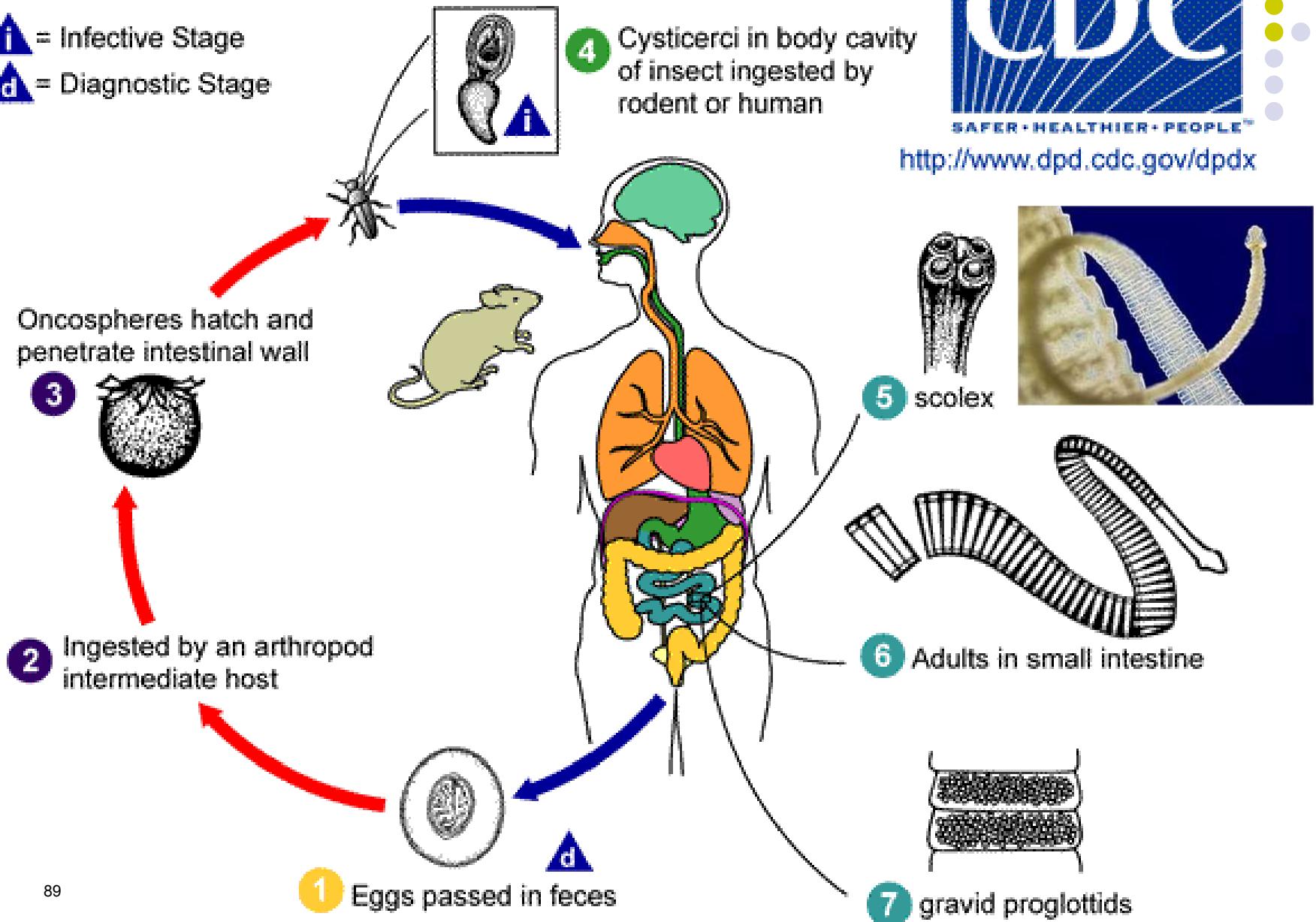


Hymenolepiasis (*H. diminuta*)

i = Infective Stage
d = Diagnostic Stage



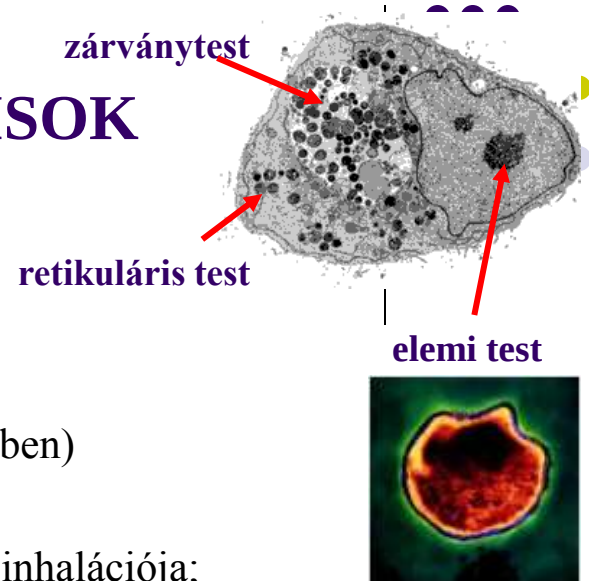
<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx>



MADARAK TERJESZTETTE ZOONOZISOK

Ornithosis (psittacosis)

- Kórokozó: Chlamydia ornithosis
- Fertőzés forrása (rezervoár):
 - fertőzött **laboratóriumi**, házi és vadon élő **szárnyasok** (belében)
- Terjedés módja:
 - légúti: fertőzött szárnyasok tolla, fekáliával szennyezett por inhalációja;
 - közvetlen érintkezés: orális, fertőzött állat csípése, karmolása
- Lappangási idő: 5-15 nap, általában: 10 nap



Tünetek:

állatban: híg széklet, DE tünetmentes is lehet → kórokozó ürítés emberen

3 szakasz:

- 1.: **influenzára emlékeztető tünetegyüttes**: hirtelen magas láz, borzongás, fejfájás, végtagfájdalom, mellkasi szűró fájdalom, pneumonia (csak Rtg-el látható);
- 2.: **typhus abdominalisra emlékeztető tünetek**: splenomegalia, nyugtalanság;
- 3.: **pneumonia tünetei**: improduktív köhögés, kopogtatás és hallgatózás negatív (a láz a 10-14. napon litikusan oldódik → gyógyulás, v. relapsus)

Átvészeltisége: tartós immunitást nem ad

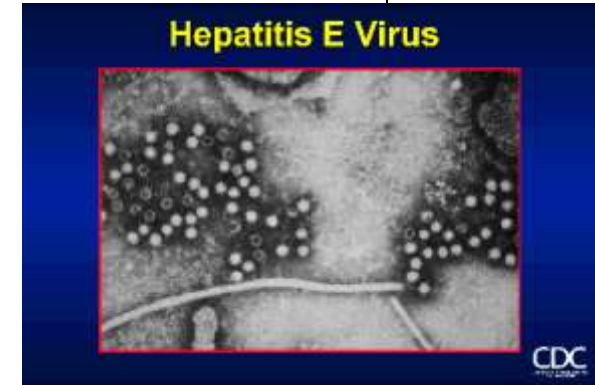
Szövődmények: thrombophlebitis, máj-, szívizom károsodás

SERTÉS TERJESZTETTE ZOONOZISOK



Hepatitis E - humán

- **Fert. forrás:** **sértés** (sertésmáj)
- **Terjedés:** kontakt, szennyezett tárgyak és (bonc)eszközök
- **Lappangási idő:** 15-40 nap
- **Patomech.:** bélfal → vér → máj (szaporodik)
- **Tünetek:** tünetmentes, v.
bizonytalan hasi panaszok, hepato-splenomegalia, icterus
- **Kimenetel:** fiatal felnőttek (terh. 3. trim-ben a **letalitás 20%**)



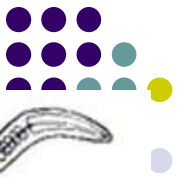
Salmonellosis - humán

- **Kórokozó:** Salmonella ssp. (S. enteritidis, S. hadar, S. typhimurium ...)
- **Fert. forrás:** beteg, ürítő, **háziállatok (szárnyasok, sertés)**
- **Lappangási idő:** **6-48 óra**
- **Terjedés:** direkt, indirekt: **kontaminált élelmiszer**
- **Patomech.:** élelmiszerben elszaporodott Salmonella → pusztulás (ételben ill. a bélben) → **endotoxin** felszabadul
- **Tünetek:** rossz közérzet, fejfájás, hányinger, hasi panaszok, láz, hányás, hasmenés, hasi görcsök, nyelven barna lepedék (generalizálódás ⇒ †)
- **Korai, indokolatlan AB ⇒ chr ürítés!**



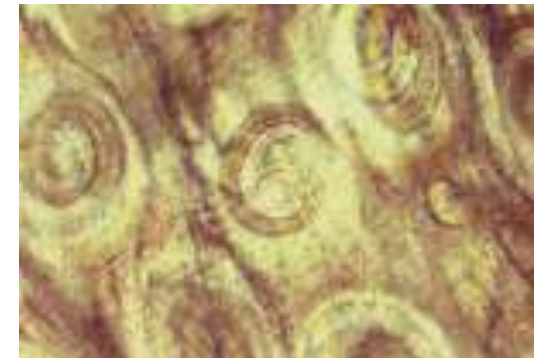
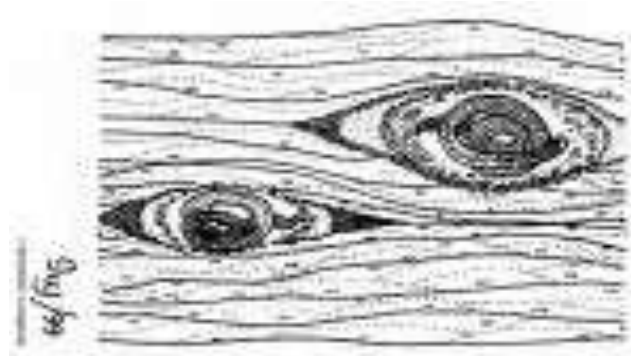
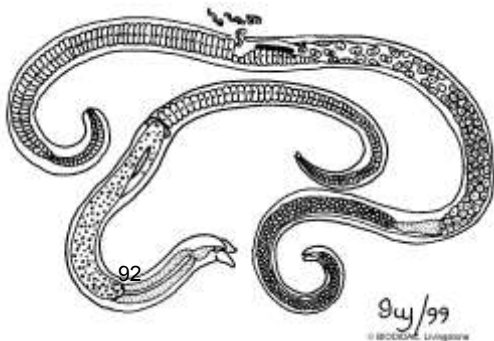
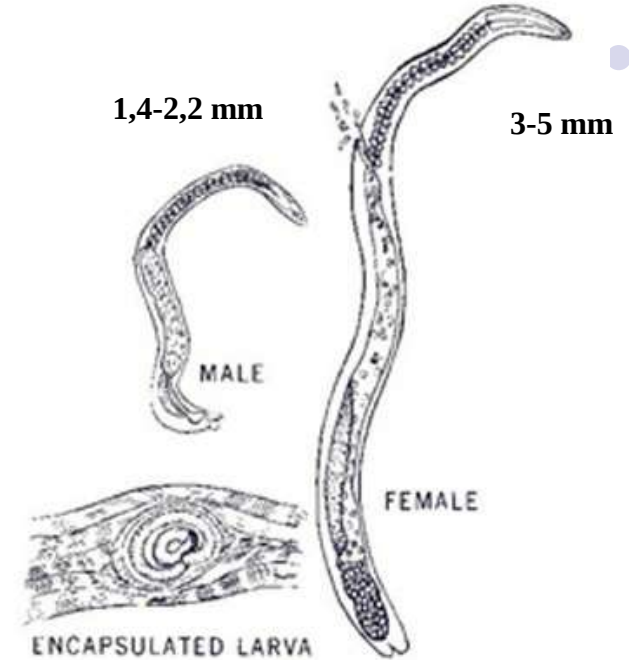
Salmonellás osteomyelitis

SERTÉS TERJESZTETTE ZOONOZISOK



Trichinellosis (fonalóckór)

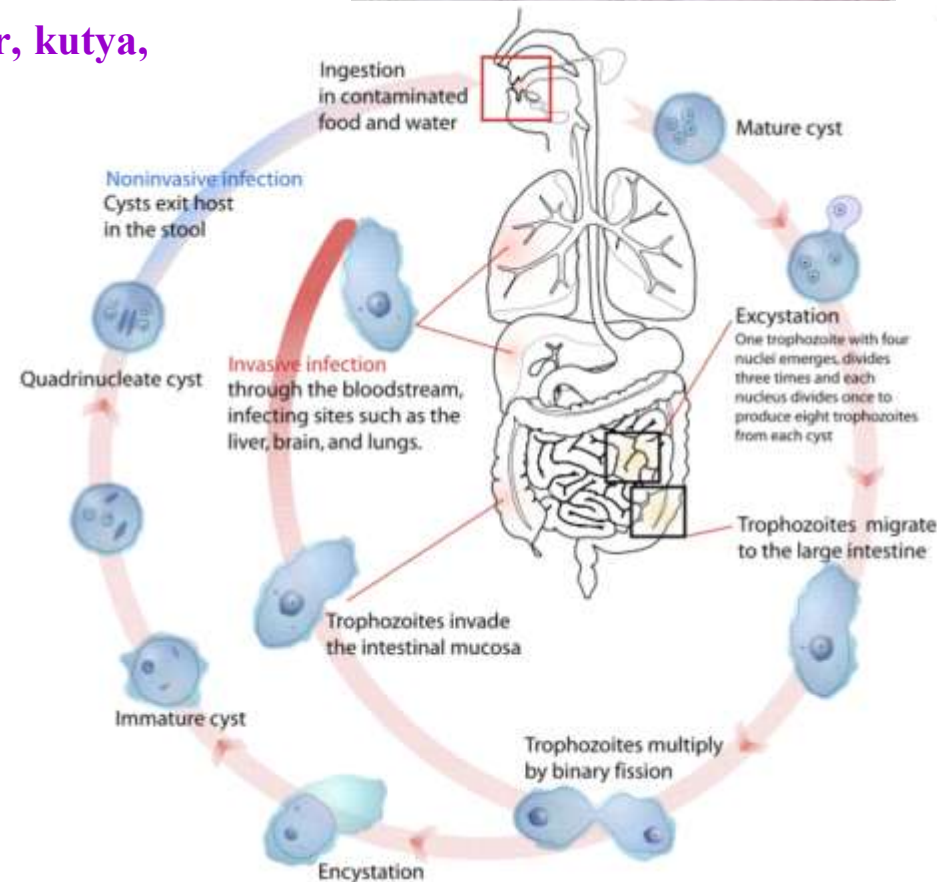
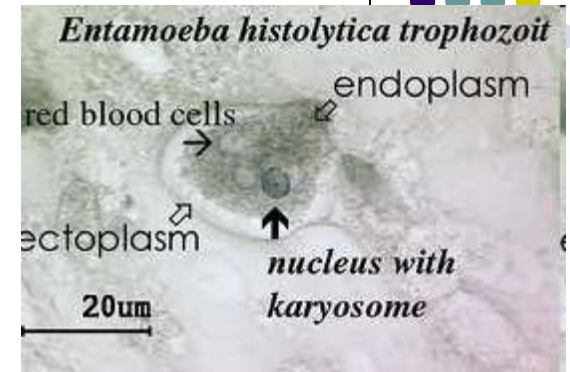
- **Kórokozó:** *Trichinella (pseudo)spiralis*
- **Fertőzés forrása (rezervoár):**
vadon élő, egymással táplálkozó és házi
mindenevők (sertés, patkány),
húsevők (róka, kutya, macska), ló, ember, rozmár
- **Terjedési mód:**
hőkezeletlen hússal
- **Lappangási idő:** 2-28 nap, általában 7-10 nap
- **Patogenesis:**
fertőzés → emésztőnedvek hatására az izomzatban a lárvák körüli tok lebomlik → lárvák kiszabadulása → bél mucosába hatolás → mucosában ivarérett féreggá alakulás (béltrichinella) → 1-2 ezer lárva szülése → izmokba vándorlás/feltekeredés (izomtrichinella), betokolódás és/vagy elmeszesedés (tokban a lárva 20-40 évig életképes)

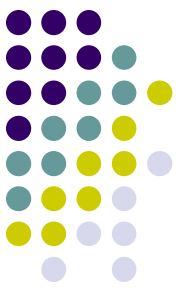




AMOEBÁS DYSENTERIA - humán

- **Kórokozó:** *Entamoeba histolytica*
(környezet - ciszta 9-25 nap,
szervezet - vegetatív alak)
- **Fert. forrás:** beteg/tünetmentes hordozó ember, kutya, macska
- **Lappangási idő:** 2 nap - több hónap
- **Terjedés:** szennyezett kéz, víz, legyek
- **Patomech.:** vastagbél (bélfalba hatol – proteolitikus enzimek → fekély) → keringés → szervek, lokális folyamatok
- **Tünetek:** - tünetmentes
- atípusos tünetek, v. enyhe hasmenés
- típusos tünetek: ≈ shigellosishoz
- **Szövődmény:** bélátfúródás, máj- és agytályog





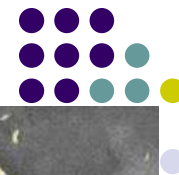
Tetanus (merevgörcs) - humán

- **Kórokozó:** *Clostridium tetani* (G+, oblig. anaerob, spórás baktérium);
spóra > vegetatív alak (O-, H-antigén, 10 szerotípus);
toxinok: **exotoxin** - tetanospasmin (tünetekért felel);
- tetanolysin
- **Fertőzés forrása:** **kutya, juh, ritkán ember** széklete
- **Lappangási idő:** 4 nap (súlyosabb) - 3 hét
- **Terjedési mód:** fertőzött talajjal szennyezett tárgy - sérülés; sebfertőzés;
szülés, abortus során (**T. puerperalis**);
újszülöttek köldökcsonkján (**T. neonatorum**); műtéti fertőzés (**T. chirurgicus**)
- **Patomechanizmus:** bakt. szaporodás a sérülés helyén (aerob → anaerob körülmény),
toxintermelés → szervezet, mozgató idegek mentén → gglionok → GV neurotoxikus hatás:
reflexingerlékenység nő (Ach felszaporodás) → akaratlagos izmok spasmusa → tetanusos merevgörcs
- **Tünetek:** ált. gyengeség, nyugtalanság, nyelési nehézség, progresszió: trismus, rhisus sardonicus, (**facies tetanica**), convulsió; izzadás, mellkasizmok görcse; **orthotonus, opisthotonus**; láz, **tiszta öntudat**
- **Letalitás:** 58,8-70%

Járványügyi teendők tetanus gyanús sérülés esetén



- Megelőzés - **Tetanus profilaxis (megelőzés)**
 - **alapimmunizálás** (aktív immunizálás)
 - életkorhoz kötött kötelező oltások
(1940. 12. 31. után születettek) – Tetanus toxoid (TT)
 - Kampányoltás keretén belül, önkéntes alapon felvehető oltás
(1986-1992. között szervezett) – Tetanus toxoid (TT)
 - **sérülés esetén alkalmazandó specifikus tetanus profilaxis**
(2007. 01. 01.)
 - A sérülés körülményeitől függően
 - A sérült oltási anamnézisétől függően
 - Nem igényel specifikus tetanus profilaxist
 - Aktív immunizálást igényel (TT) és/vagy
 - Passzív immunizálást igényel (TETIG 500 immunglobulin)



TOXOPLASMOSIS - humán



- **Kórokozó:** *Toxoplasma gondii* (TERATOGEN!)
3 megjelenési forma: trophozoit (köménymag),
cystás (fallal körülvett sok bradozoit),
oocysta (ovális) - csak macska székletével ürül, több hónapig fertőzőképes
- **Fertőzés forrása** (rezervoár):
fertőzött vadon élő **rágcsálók és madarak parazitája**;
háziállatok (**kutya, macska-végső gazda!, nyúl, kanári...**)
- **Terjedési mód:**
akvirált : - bőrsérülésen át kontakt úton: kórokozó-hordozó ember, állat váladékai
(nyál, hüvelyváladék, vizelet, vér);
- intranasalis; intraconjunctivális

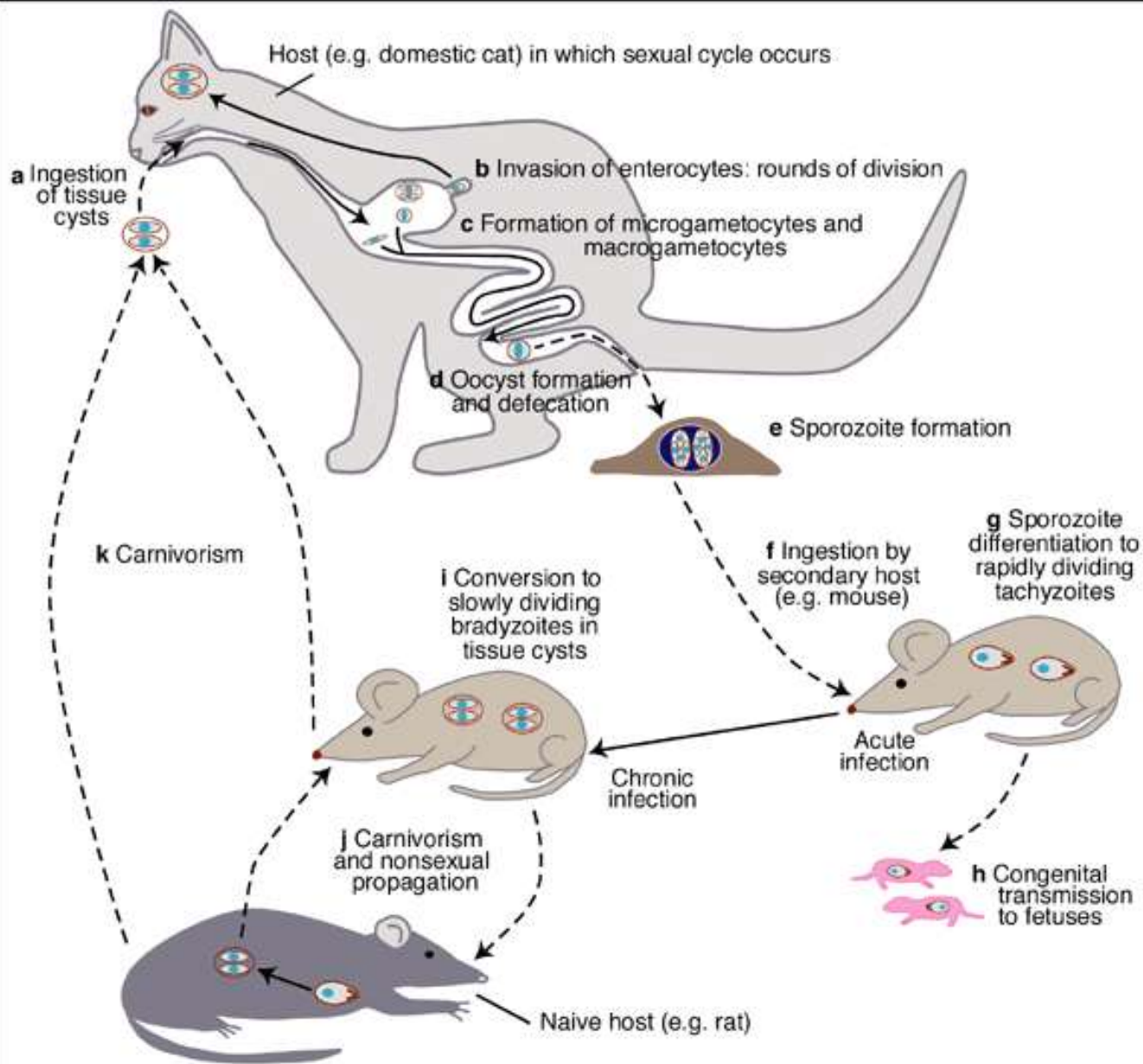
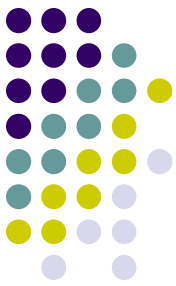
Tünetek: nyacs duzzanat, meningoencephalitis, chorioretinitis, szívizom-, vázizom elváltozások

„**connatalis és congenitális toxoplasmosis**”:

„**szerzett**”: - tünetmentes (latens);

-akut (malignus): magas láz, myalgia, pneumonia, myocarditis;

- benignus (oligoszintomás): megtelepedési helytől függően:
lymphadenitis, uveitis, hepato-, splenomegalia



The *Toxoplasma gondii* life cycle

Expert Reviews in Molecular Medicine ©2001 Cambridge University Press

KUTYA TERJESZTETTE ZOONÓZIS



Echinococcosis (hólyagférgesség)



- **Kórokozó:**

Echinococcus granulosus

Echinococcus multilocularis

(3-6 mm hosszú)

- **Fertőzés forrása :**

tömlőtartalmú hús/belső szerveket elfogyasztó és petéket ürítő kutya

- **végső gazda:** kutya, róka
- **közti gazda:** sertés, juh, ember

- **Terjedési mód:**

direkt: fertőzött állattal való kontaktus

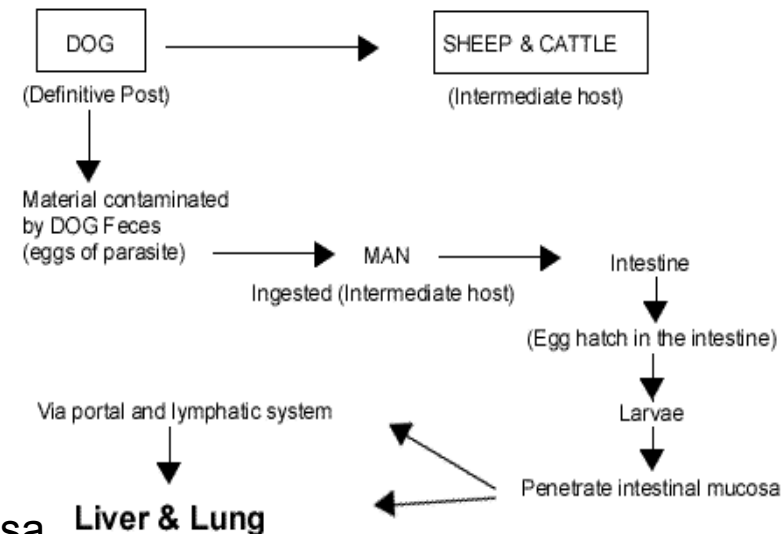
indirekt: széklettel szennyezett étel és ital

- **Lappangási idő:** 1-2 hónaptól 1-2 évig

Tünetek:

gyakran tünetmentes, de
súlyos nyomási tünetek,
tömlőrepedés → fatális **anaphylaxiás shock**

Megelőzés: kutyák fertőződésének megakadályozása



MAJMOK TERJESZTETTE ZOONÓZIS



MALARIA - humán

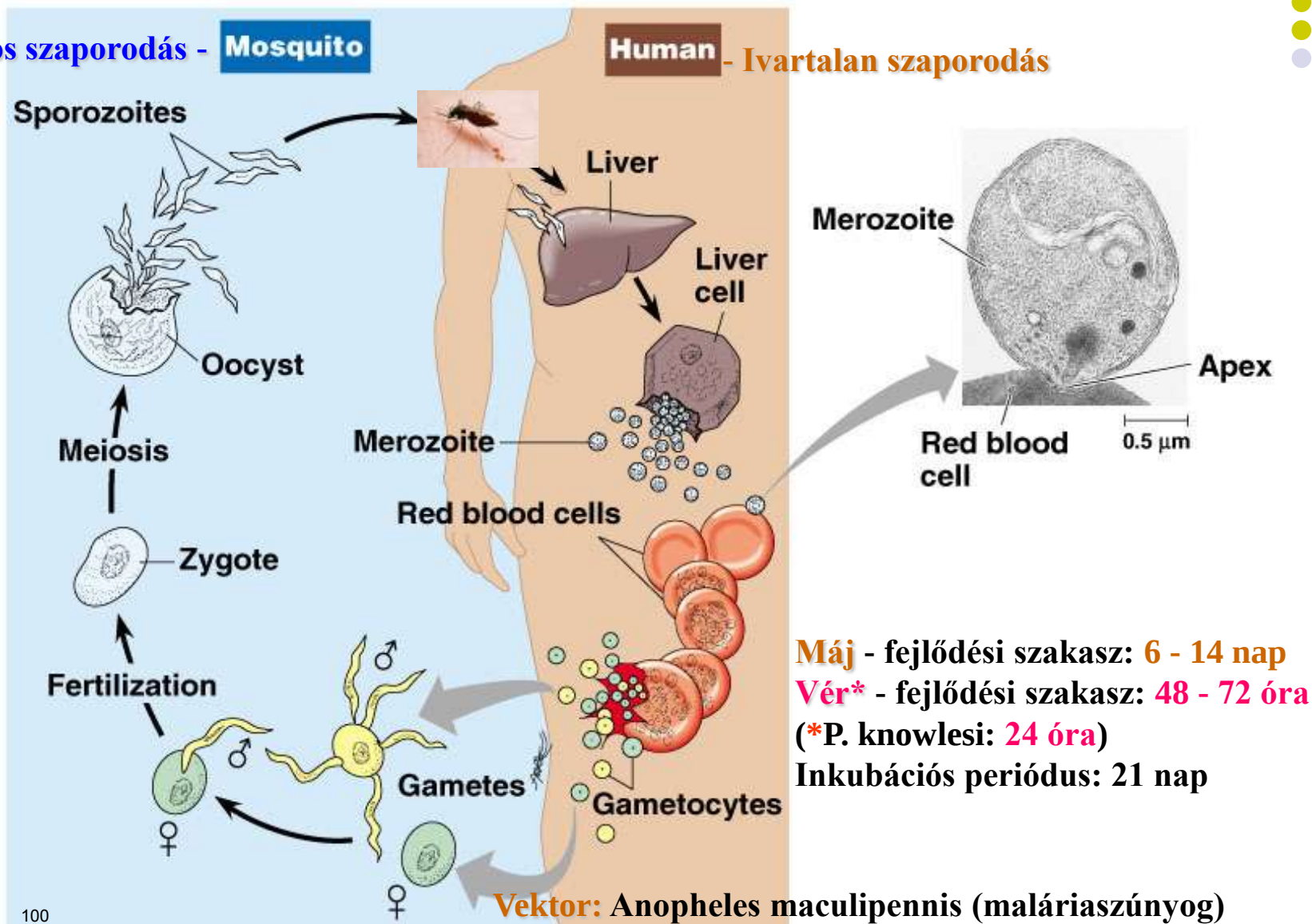
- Kórokozó: Plasmodium knowlesi (D-K Ázsia)
- Fertőzés forrása: **fertőzött ember, hosszúfarkú macaco** (Borneo, Thaiföld, Fülöp sz)
- **Lappangási idő:** általában 9-14 nap, de lehet több hónap is
- **Terjedési mód:** Anopheles szúnyogok ismételt vérszívás során, fertőzött nyállal
- **Patomechanizmus:** sporozoit májban szap → merozoit vvt-ben szaporodás → vvt szétesés v. mechanikus pusztulás → gametocyták kiszabadulás; degenerálódott vvt-k + P-k + pigmentjeik → pyrogén + toxinhatás → kapillárisfal károsodás, endothel átjárhatóság ↑
- **Tünetek:**
heveny: hidegrázás, izzadás, ismételt harmad-, negyed-, v. mindennapos lázrohamok; krónikus: fejfájás, láz, izommerevség, köhögés, vomitus, hasmenés (†: légzési, vese/máj elégtelenség)
- **Megelőzés:** aspecifikus (szúnyogirtás, repellenesek), kemoprofilaxis

A Malária terjedési módja - a Plasmodiumok ivaros és ivartalan szaporodási ciklusa



Ivaros szaporodás - **Mosquito**

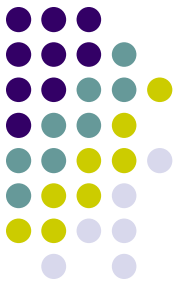
Human - Ivartalan szaporodás



Máj - fejlődési szakasz: **6 - 14 nap**
Vér* - fejlődési szakasz: **48 - 72 óra**
(**P. knowlesi*: **24 óra**)
Inkubációs periódus: 21 nap

Vektor: *Anopheles maculipennis* (maláriaszúnyog)

RÁGCSÁLÓK ÉS NYÚL TERJESZTETTE ZOONOZISOK MEGELŐZÉSE



- **Tenyésztett egerek és patkányok igazoltan (!) mentesek az alábbi kórokozóktól (SPF állatok): PÉLDA GYANÁNT !**

- *Streptococcus spp.*
- *Staphylococcus aureus*
- *Salmonella spp.*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Pasteurella spp.*
- *Mycoplasma tuberculosis*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Corynebacterium kutscheri*
- *Bordetella bronchiseptica*
- *Egér poliomavírus*
- *Egér pneumóniavírus*
- *Egér adenovírus*
- *Hantaan-vírus stb.*

A laboratóriumi állatoktól való fertőződés lehetősége alacsony, DE !

- kiterjedt ellenőrzés
- egyéni védőeszköz
- karantén, moribund állat
 - elkülönítés, exterminálás?
 - állománycsere ?
- direkt és indirekt terjedési mód megelőzése
- orvosi és állatorvosi ellenőrzés
- higiénés rendszabályok betartása
- SZME-ben rögzített műveleti követelmények
 - validálás (mosogatás ...)

Health Monitoring in Accordance with FELASA recommendations

Location: _____ Date of issue: _____
 Housing: (Barrier/Non-Barrier/VC/isolator) _____
 Species: Rat _____ Strain: (Strain) _____

Species and strains present within the unit:

	Test frequency	Latest test date	Latest results	Testing laboratory	Test method	Historical results (≤ 18 months)
Viruses						
Parvoviruses						
Kilham rat virus	3 months					
Rat parvovirus	3 months					
Toxaria H-1 virus	3 months					
Pneumonia virus of mice	3 months					
Sendai virus	3 months					
Stomatocystodentitis/Rat coronavirus	3 months					
Hantaviruses	Annually					
Mouse adenovirus type 1 (F1)	Annually					
Mouse adenovirus type 2 (1037)	Annually					
Reovirus type 3	Annually					
Additional organisms tested:						
Bacteria, mycoplasmas and fungi						
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	3 months					
<i>Clostridium piliforme</i> (Tyzzer's disease)	3 months					
<i>Corynebacterium kutscheri</i>	3 months					
<i>Mycoplasma</i> spp.	3 months					
<i>Pasteurella</i> spp.	3 months					
<i>Salmonella</i> spp.	3 months					
<i>Streptobacillus moniliformis</i>	3 months					
<i>Streptococci</i> (β -haemolytic (not group D))	3 months					
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3 months					
<i>Melioides</i> spp.	Annually					
Additional organisms tested:						
Parasites						
Ectoparasites:						
Species designation	3 months					
Endoparasites:						
Species designation	3 months					
Pathological lesions observed						
3 months						

Data are expressed as number positive/number tested

Positive findings in other species in the same unit:

102

Abbreviations used in this report:

ELISA = enzyme linked immunosorbent assay, MICR = microscopy, IFA = immunofluorescence assay, CULT = culture, PATH = gross pathology, PCR = polymerase chain reaction, HST = histopathology, NT = not tested



HIGIÉNÉS SZABÁLYOK

**FELASA ajánlás – egészség-monitoring
3 havonta státuszvizsgálat!**

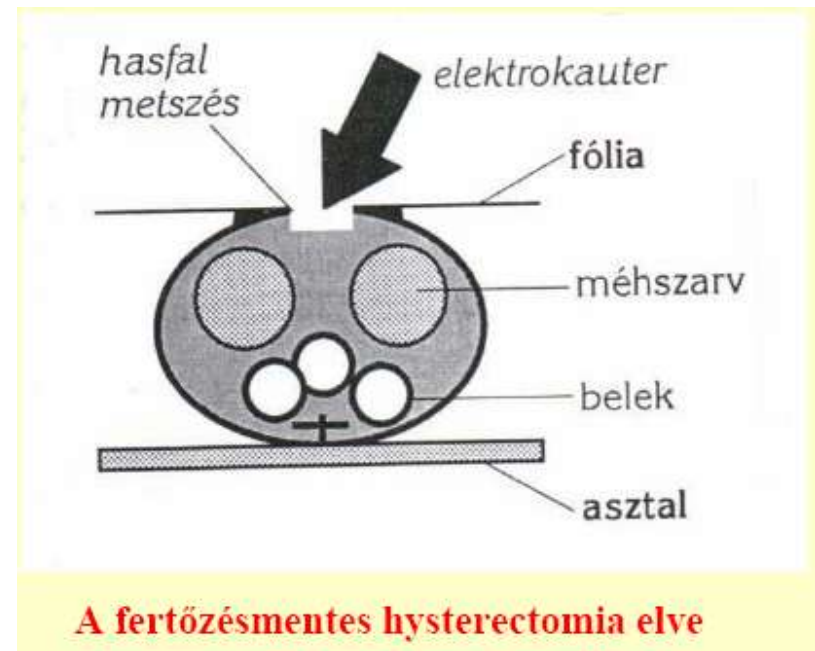
Rederiválás (élő állat fertőzésmentesítése)

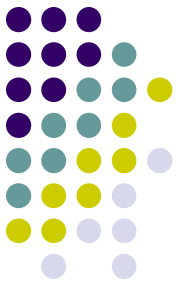
Placenta = természetes zsilip
(DE: LCMV, MMV esetén NEM)

Módszerek:

Hysterectomy (közvetlenül ellés előtt)
túlaltatás, decapitálás, két méhszarv kiemelése
(1-2%-os, 39 Co-os jodofor oldatba helyezés!),
magzat légzésének megindítása, a dajka kölykei
48 óránál fiatalabbak !

Alternatív eljárás: embrió átültetés (ET)





MINŐSÉG	ELHATÁROLÁS
Konvencionális (CV) (rederiválás hysterectomiával)	Nyitott rendszer, abszolút izolátor
Csíramentes (GF) + Kórokozórezisztens (belső) flóra (CRF) (mikrobiológiai vizsgálat) Specifikus patogénmentes (SPF, tenyésztéshez)	Abszolút izolátor (Mouse derived Colonization Resistant Flora = autochton)
SPF (kísérlethez)	Klasszikus (szigorú) SPF rendszer
	Módosított klasszikus elhatárolás

KORSZERŰ KETRECBLOKK

Individual Ventillated Cages (IVC)



ALOM, NYERSANYAG, TARTÁS KÖRÜLMÉNYEK, HIGIÉNÉS KÖVETELMÉNYEK



ALOMANYAG-TÍPUSOK

(tanúsítvánnyal)

- Közvetett alom:
 - rácsfenekű ketrecek alá
- Közvetlen alom:
 - zártfenekű ketrecbe;
 - a) ideális: puhafa gépgyálu forgács nyárfából, ill. z őrölt kukoricacsutka;
 - b) elfogadható: fenyőforgács (de: gyanta!)
 - c) nem alkalmas: fűrészpor, poros faforgács

Ketrectípus és

Élő súly (10×W^{0.75})

alapján:

az adott területre
elhelyezhető egér-,
patkányszám adott

1 egér kb. 20 g 53 cm² felületű, így

1,9 egér/100 cm²

a maximum állatsűrűség

**SPF-térben tartott
állatok létszáma**

KARANTÉNEZÉS

Szabály: a bezsilipelt állatokat érinti

Célja: az állatok pihentetése,
akklimatizálódása

Alap időtartam: 8 nap

- egérről és patkányról már nincs karantén lista (SPF-állapot), ezért a karantén nem lehet az SPF-állatház területén.

2. Az állatok kizsilipelése (fertőző anyagok!)
3. Hulladékok kezelése

Személyi higiénia

1. A személyi higiénia oktatása;

Mottó: Az állatház nem állatkert!

2. Látogatók: az állatokhoz nem nyúlhatnak!!!

3. Vendégdolgozók: 2 hétig nem dolgozhat a saját állatházában és nem érintheti az otthoni állatait sem!
bizonyítványok (A, B, C, D)!

„SENTINEL” ÁLLATOK, MINTAVÉTEL, SELEJTEZÉS



Rendszeres

klinikai tünetelés

mikrobiológiai monitor – „sentinel állat”

- azonos fajú és fajtájú, $\approx$ korú, SPF állatok
- ahol fokozottan kitettek a fertőzés lehetőségének

laboratóriumi vizsgálatok - vérvétel, testnyílások kenetvétele
exterminálás

posztmortem vizsgálat

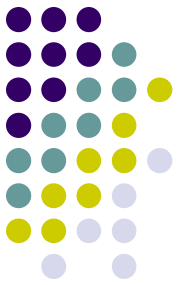
MIKROBIOLÓGIAI VIZSGÁLATOK AZ „SPF”-TÉRBEN

Célja: minőségbiztosítás

Gyakorisága: folyamatos vizsgálatok esetén havonta

Vizsgálatok:

- levegő mintavétel
- felületi mintavétel
- ivóvíz vizsgálat
- táp-, alomvizsgálat



NEMKÍVÁNATOS MIKROORGANIZMUSOK AZ ÁLLATÁLLOMÁNYBAN

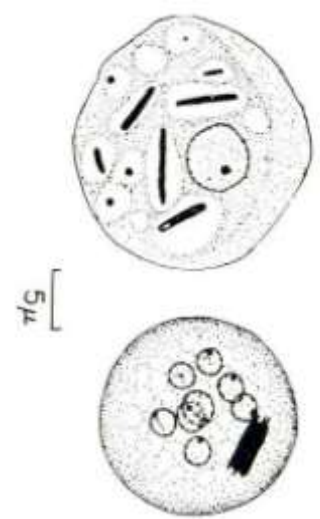
GIARDIA MURIS



- **Jellemzők:** flagelláta, a vékonybél felső szakaszának lakója.
 - trophozoit (5-7 x 10-13 μ m körte alakú lapos képletek, oldalról félhold alakúak, a bélhámsejtekhez asszociálódtak)
Jellegzetesen gördülő-bukfencező mozgás
 - cysta (1x15 μ m elipszoid, vastag falú, 4 mag)
- **Gazda:** egér, patkány, hörcsög
- **Fertőzés módja:** szájon át - cystával
- **Patogenitás:** alacsony patogenitású, elszaporodása esetén emésztési problémákat, fekélyt okozhat. A konvencionális tenyészetekben elterjedt, de nem kívánatos.

ENTAMOEBA MURIS

- **Jellemzők:** A colon lakója
 - trophozoitok (kerekded, 8- 30 μm -es képletek)
 - oocysta (8 magot tartalmaz, melyből 8 amőba születik az új gazdában, HE-festődésű)
- **Gazda:** egér, hörcsög, patkány
- **Fertőzés módja:** szájon át - oocystával
- **Terjedés:** gyakori heterolog transzmisszió
- **Patogenitás:** széleskörű elterjedtség a konvencionális tenyészetekben nem patogén, de nem kívánatos a tenyészetben !



Dr. Kaszaki József, SZTE ÁOK Sebészeti Műtéttani Intézet

E fejezet célja, hogy a gyakorlatban alkalmazható áttekintést adjon egy kísérlet részleteiről, a tervezésről, kivitelezésről és a kísérleti adatok értékeléséről. Az ötlettől a megvalósításig, illetve az eredmény birtokában a következtetés levonásáig az alábbi témaköröket érintjük: az irodalom áttekintése; a kísérleti hipotézis felállítása; a kísérlet megtervezése, kísérleti modellek, módszerek, protokollok, a kontroll csoport; a kísérlet kivitelezése; a mérési adatok értékelése, statisztikai analízis; a konklúzió, válasz a feltett kérdésre, a hipotézis igazolása.

1. Az irodalom áttekintése

A kísérlet tervezése a szakirodalom áttekintésével kezdődik. Fontos, hogy megismerkedjünk a kutatási téma hátterével. Frissítsük fel a korábban tanult és a témával kapcsolatos alapismereteinket, olvassunk minél többet és próbáljuk megérteni a közölt adatok és elméletek között található összefüggéseket. Mindehhez ma már nem szükséges beköltözni a könyvtárba - az Internet segítségével számos nemzetközi folyóirat és adatbázis elérhető. Az egyik leghasznosabb és jó kereső felülettel rendelkező rendszer a PUBMED (a honlap elérhetősége: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>). Kereshetünk kulcsszavak, szókombinációk alapján, a szerző neve vagy a folyóirat adatait megadva. A keresés eredményeképpen kapott közlemények kivonatát elolvashatjuk, majd szerencsés esetben (ha a folyóirat hozzáférése ingyenes) az Adobe Acrobat Reader program segítségével a közlemények PDF file formátumban letölthetők (az esetek egy részében a teljes cikk letöltéséhez csak a megfelelő előfizetés és jelszavak ismerete után juthatunk hozzá). Tanács: *inkább olvass egy hétig és kísérletezz egy napot, mint fordítva!*

2. A hipotézis felállítása

A témával az I. fejezet részletesen foglalkozott, ezért itt csak röviden összefoglaljuk a folyamat lényegét. Az összegyűjtött ismeretanyag alapján, annak ismeretlen, eddig nem tisztázott részleteire, fehér foltjaira építve fogalmazzuk meg a kérdésünket, amire kísérleti úton szeretnénk választ kapni. Ha a vizsgálandó jelenség általunk *feltételezett* folyamatát vázoljuk, kísérleti *hipotézist* alkotunk. Az elméleti alapok adottak, a folyamat bizonyos részletei lehetnek ismertek, de a folyamat mélyebb részleteit és összefüggéseit bizonyítani szeretnénk. Ha a kérdést jól tettük

fel, hipotézisünk helytálló, a kísérleti tervezés és kivitelezés korrekt volt, akkor a kísérlet mérési eredményeinek analízise választ fog adni a feltett kérdésre.

3. A kísérlet megtervezése

Egy kísérlet részletes megtervezése a kísérleti *modell* és *objektum* kiválasztását, a (vizsgáló) *módszerek* feltételeinek megteremtését, ami egyben a kísérleti *elrendezés* (setup) és *protokoll* tervezését, valamint a kísérleti *csoportok* átgondolását igényli. Az utóbbi esetében kiemelt figyelmet kell fordítani a *kontroll* csoportra vagy csoportokra.

3.1. A kísérleti modellek fő típusai

A kísérlet tervezésének meghatározó pontja, hogy milyen kísérleti modellt választunk, illetve milyen modell alkalmas az elképzelések megvalósításhoz. Kérdés, hogy sejt, szövet, szerv, szervrendszer, vagy az élőlény szintjén kívánunk-e vizsgálatokat végezni. Ezek alapján *in vitro* (*ex vivo*) és *in vivo* kísérleti modellek közül választhatunk, ez a csoportosítás első közelítésben az egyszerűbbtől a bonyolultabb, összetettebb életjelenségek vizsgálatát teszi lehetővé. Ez azonban nem azt jelenti, hogy az *in vitro* kísérlet kivitelezése egyszerű lenne, sőt a megvalósítás a mesterséges közeg miatt sok esetben igen költséges, és nagy anyag- és műszer igényvel jár.

In vitro: Mesterséges közegben fenntartott sejt, vagy szövet életjelenségeinek, működésének vizsgálatát jelenti. Elsősorban sejt és szövet kultúrák tartoznak ebbe a típusba (részletesen a XI. fejezet foglalkozik a témával). Az élő szervezetből kiemelt, abból eltávolított (*ex vivo*) szövet, szerv, vagy szervrendszer életjelenségeinek vizsgálata. A vitális működés fenntartására speciális mesterséges közeget biztosítunk, amely összetétele, fizikai és kémiai paraméterei közel azonosak a testnedvek (pl. vér) tulajdonságaival;

In vivo: Éber vagy altatott élőlény életjelenségeinek, normális vagy kóros működésének megfigyelése és vizsgálata.

3.2. A kísérlet „tárgya”

A választott modell alapján kísérletünk „tárgya” (objektuma) lehet egyetlen sejt, de megfigyeléseket, méréseket végezhetünk *in vivo* körülmények között is. Az *in vivo* modellen belül további lehetőség az ún. „kis állat” (pl. rágcsáló) és a „nagy állat” (pl. kutya, sertés) modell. Ezek előnyeit és hátrányait az alábbiakban foglaljuk össze:

3.2.1. „Kis állat” modellek

Előnye hogy a kísérletek nagyobb esetszámban végezhetők, mivel egyszerre több kísérlet is futhat párhuzamosan. A rövid tenyésztidő a fejlődéssel összefüggő, vagy adott életkorban kialakuló folyamatok vizsgálatát is lehetővé teszi. Kiemelten fontos jelentősége lehet a genetikai specialitásoknak (transzgenikus, vagy knock out egér törzsek), amelyek révén molekuláris biológiai és celluláris folyamatok külön farmakológiai kezelések nélkül vizsgálhatók. Összességében ezek a modellek molekuláris biológiai, biokémiai vizsgálatok céljaira sokkal előnyösebbek, mint a nagy állat modell. Hátrányuk lehet a korlátozott (vagy nagyon költséges) instrumentáció (pl. hemodinamikai mérések csak korlátozottan végezhetők), másrészt bizonyos esetekben a kapott adatok nem adaptálhatók a humán viszonyokra.

3.2.2. "Nagy állat" modellek

Az előnyök között kell említenünk mindazt, ami a rágcsló modellek hátránya, vagyis a széleskörű instrumentációs lehetőségeket és a nagyobb humán kompatibilitást. Hátrányuk a kisebb esetszámú kísérleti lehetőség és a hosszú tenyésztidő, ami gyakorlatilag kizárja a genetikai vizsgálatokat.

3.3. A metodikák

A vizsgálómódszerek a tudományterületek szerint csoportosíthatók (morfológiai, biokémiai, fiziológiai, farmakológiai, genetikai, etc. módszerek), ezeket lehetőségeink és a kísérlet célja szerint alkalmazhatjuk. A terjedelmi korlátok miatt e fejezet természetesen csak bizonyos alapvető metodikákat összegezhet.

3.3.1. Altatás/anaesthesia (részletesen lásd a IV. fejezetben)

3.3.2. Légzésbiztosítás

A szabad, átjárható légutak biztosítása minden altatott állatkísérlet alapfeltétele. Maga az altatás, vagy a természetestől eltérő testhelyzet (háti fektetés) elégtelen gázcserét eredményezhet, amely a légzés által meghatározott életjelenségek befolyásolásával azonnal tévútra viheti kísérletünket. A légzésbiztosítás történhet a légcső száján át történő intubálásával, azaz a légzést biztosító, megfelelő méretű cső bevezetésével. Rágcslók estében gyakoribb a trachea sebészi úton történő megnyitásával kivitelezett intubálás. A légzésvizsgáló módszereket a X. fejezet tárgyalja részletesebben.

3.3.3. Sebészi technikák, instrumentáció

E beavatkozások célja, hogy sebési úton feltárjuk, azaz a megfigyelés számára láthatóvá tegyük a vizsgálandó területet (pl. hasüreg, mellkas), vagy a fiziológiai, biokémiai paraméterek monitorozására szolgáló érzékelő, jelátalakító és továbbító eszközöket (szenzorok, transzducerek, katéterek) a vizsgálandó szerv/szerv rendszer területére beültessük.

3.3.4. Életjelenségek vizsgáló módszerei

A fiziológiai paraméterek monitorozására érzékelő, jelátalakító, továbbító eszközöket alkalmazunk, amelyeket megfelelő mérőműszerrel, illetve adatgyűjtő-jelanalizáló számítógéppel kapcsolunk össze. A legfontosabb fiziológiai paraméter a vérnyomás, amelynek monitorozása a keringési állapot megismerésének egyik alapfeltétele. Mérése közvetlen (invazív) vagy közvetett (nem-invazív) módon történhet. A vérkeringés vizsgáló módszereit az VIII. fejezet, a mikrokeringést vizsgáló módszereket a IX. fejezet tárgyalja részletesen.

3.3.5. Biológiai minták analízise

A mintavétel technikája és módszere sarkalatos pontja a biológiai minták analízisének, amely történhet azonnal, vagy a minta bizonyos idejű tárolását a követően. Biokémiai meghatározás esetében általában lényeges a minta hűtése. A hűtés céljára használt közeg lehet olvadó jég (0-4 °C), szénsavhó (-70 °C), vagy folyékony nitrogén (-180 °C). A mintavételi és a tárolási hőmérséklet szempontjából lényeges, hogy a mintát milyen biokémiai meghatározás céljára vettük, pl. enzimaktivitás mérése esetén előnyös a -70 °C alatti tárolás, de ez a tárolási hőmérséklet már károsíthatja a minták RNS tartalmának meghatározását. Biológiai mintavétel történhet testnedvekből (vér, nyirok, liquor, vizelet), illetve szövetből (biopszia). Vérmintákból meghatározhatjuk:

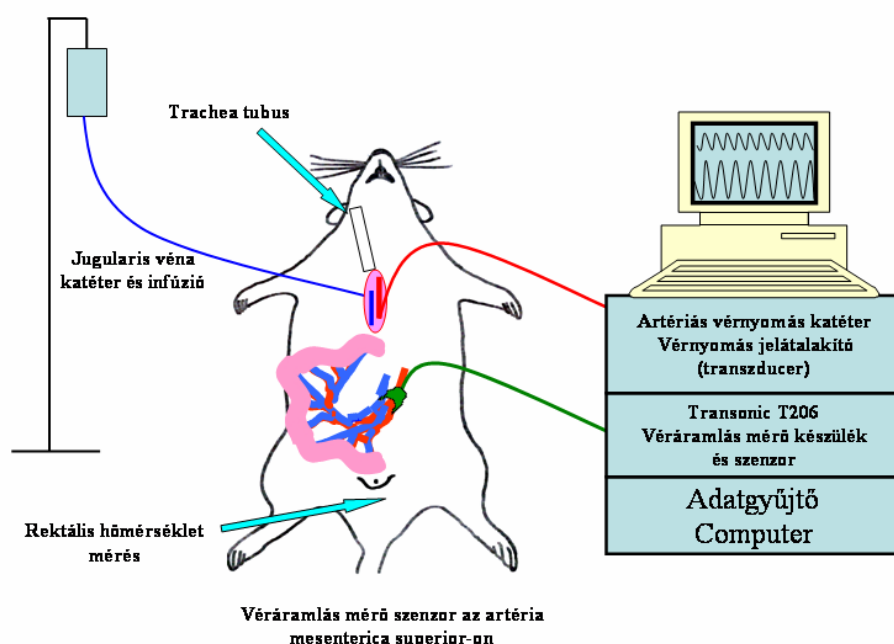
- a sejtes komponensek számát (vörösvértest, leukocytá, vérlemezke),
- plazma összetevőket, metabolitokat (vércukor, laktát, piruvát szintek, ion összetétel, stb.),
- rheológiai (áramlástan) paramétereket (süllyedés, hematokrit, viszkozitás),
- vérgáz analízis (vér pH; pCO₂, pO₂, oxigén szaturáció, stb.),

Szöveti mintavételből (biopsziákból):

- biokémiai, molekuláris biológiai meghatározások;
- szövettani módszerek alkalmazása (hisztokémia, stb.).

3.4. A kísérleti elrendezés (setup)

A szükséges mérőműszerek és metodikák használatának elsajátítását követően állíthatjuk össze kísérleti elrendezésünket. A kísérleti elrendezés (*setup*) az alkalmazott módszerek és a méréseket végző műszerek összerendezett gyűjteménye. Magában foglalja a szükséges sebészi instrumentációt, a kísérleti állapot fenntartásához szükséges eszközöket (altatógép, respirátor, infúziós pumpa), a vitális jelek monitorozásához szükséges eszközöket, valamint a mintavételekből történő biokémiai, szövettani módszereket. Az 6. ábra egy altatott patkányon történő vérkeringés monitorozás elrendezését szemlélteti.



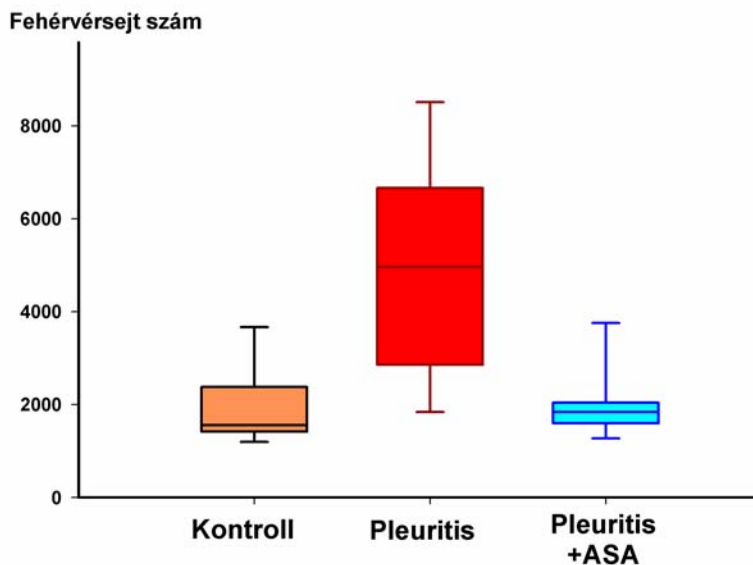
6. ábra Mesenterialis keringési vizsgálat kísérleti elrendezése patkány modellben

3.5. A kontroll és a kísérleti csoportok

A kísérlet egyik legfontosabb pontja a megfelelő kontroll megtervezése. Lényeges kérdés, hogy mit tekintünk kontrollnak, illetve mit viszonyítunk mihez. A kontrollnak alapvetően azt az állapotot kell tükröznie, amelyhez képest egy beavatkozás következtében fellépő változás mértéke meghatározható. A kontroll lehet egy folyamat kiindulási kezdeti szakasza, azaz normál körülmények között, a tervezett beavatkozás előtt mért érték, vagyis alapvonal (*baseline*). Ez esetben *önkontrollos* kísérletről beszélünk. Az önkontroll azonban számos esetben nem elegendő, főleg akkor, ha a vizsgált folyamat hosszú és számos tényező (pl. altatás) befolyásolhatja a hosszasan vizsgálandó állapotot. Ezért a hosszabb időtartamú vizsgálatok esetében önálló *kontroll csoportra* van szükség. Ekkor a korrekt összehasonlítás céljából

pontosan ugyanolyan ideig és módon kell a beavatkozás nélküli (kontroll) folyamatot vizsgálnunk, mint azt, amelyben a vizsgálandó folyamatot (pl. kóros állapotot) létrehoztuk.

Nemcsak egy kórállapotban bekövetkező változásokat, hanem a kórállapotot befolyásoló kezelés hatását, hatékonyságát is vizsgálhatjuk. Ez esetben célszerű a kezelés hatását egy *negatív* és egy *pozitív kontroll* csoport adataihoz hasonlítani. A negatív kontroll fogalma megegyezik a fentiekben vázolt kontroll csoport jellemzőivel. Olyan állapot, amelyben a vizsgált paraméterek változása minimális. A pozitív kontrollal az a célunk, hogy olyan állapotot hozzunk létre, amelyben a vizsgált paraméterek maximális mértékű változását idézzük elő. Tulajdonképpen az a csoport, amelyben magát a beavatkozást létrehozzuk, egyúttal pozitív kontrollként is funkcionálhat a beavatkozás hatását befolyásoló kezeléssel szemben. A **7. ábra** ezt az állapotot szemlélteti. Egy kísérletben mesterséges mellhártyagyulladás (*pleuritist*) hoztunk létre, és a kórállapot jellemzésére meghatároztuk a mellüregből kimosható, a gyulladás folyamatában fontos szerepet játszó fehérvérsejtek számát. A kontroll csoportban is elvégeztük a sebészi beavatkozást, de a gyulladáskeltő anyag helyett annak oldószerével (fiziológiás só oldattal) kezeltük őket. Ezt a csoportot tekintjük negatív kontrollnak. Pozitív kontrollnak tekintjük a kórállapotban szenvedő egerek csoportját, amelyben gyulladáskeltő anyag beadásával kísérletes pleuritist okozunk. A harmadik csoportunk gyógyszeres (pl. acetilszalicilsav; ASA) kezelést kapott, amely csoport adatait az előző két kontroll csoport adataival vetjük össze, a kezelés hatékonyságának megállapítása céljából.



7. ábra Negatív és pozitív kontroll, valamint kezelt csoport adatainak szemléltetése 'box-whisker' diagramon (magyarázatot lásd a szövegben).

Az előző példa alapján összegezhethetjük, hogy egy kísérlet tervezésénél (annak időtartamától függetlenül) milyen kísérleti csoportokra lehet szükség. Az ún. álműtött, vagyis intervenciómentes, negatív kontroll csoport mellett az intervenciónak kitett csoport egyúttal a pozitív kontroll szerepét is betölti. A kísérletesen létrehozott kórfolyamatot befolyásolhatjuk előkezeléssel (befolyásoló hatás indítása az intervenció előtt), illetve kezeléssel, azaz a beavatkozás alatt elkezdett terápiával. Ennek megfelelően 'előkezelt' és 'kezelt' kísérleti csoportokról beszélhetünk.

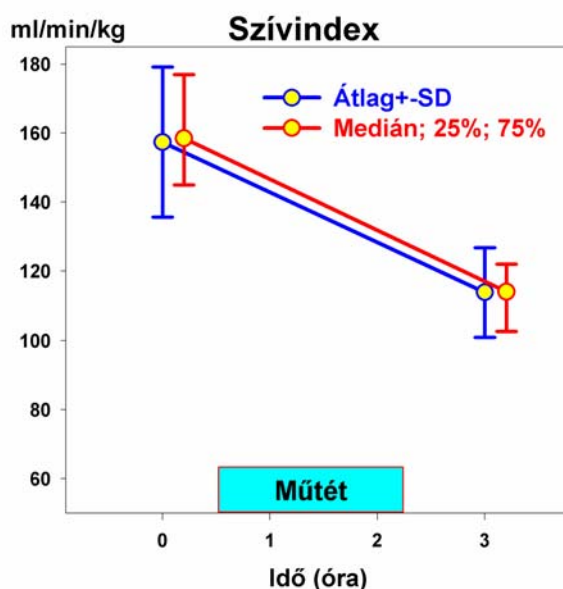
3.6. A kísérleti protokoll

A kísérleti protokoll alapja, hogy a kísérlet egymást követő szakaszai előre meghatározott időrendben követik egymást. A kísérleti periódusok általában a kontroll, az intervenció (sebészi, kórélettani, farmakológiai) és az intervenció következményeinek a megfigyelése, amely kiegészülhet egy előkezelési, illetve egy beavatkozás alatt/után végzett kezelési periódussal. Fontos, hogy a kísérlet valamennyi csoportjában ugyanazokat az előre eltervezett, szigorú időrendnek megfelelő méréseket, illetve mintavételezést kell elvégezni a pontos összehasonlíthatóság érdekében.

A kísérleti protokoll tervezésénél két (részben ellentétes) szempontot érdemes figyelembe venni a mérések/mintavételezés számát illetően. Az egyik szempont, hogy elegendő számú mérést végezzünk ahhoz, hogy a vizsgált folyamatot megfelelően feltérképezzük. Ez különösen hosszú kísérlet esetében lényeges. A másik szempont a mintavételezések számát illetően az, hogy már a tervezéskor vegyük figyelembe a kísérlet értékelését jelentő statisztikai analízis igényeit. Ugyanis ha lényegtelen mérési adatokkal sűrítjük a kísérleti protokollt, az megnehezítheti a statisztikai kiértékelést, mivel a megfigyelt változás elveszhet a lényegtelen adatok tengerében. Ennek elkerülése céljából érdemes áttekintenünk, hogy milyen kísérleti protokoll típusokat alkalmazhatunk, amelyek egyúttal alapját képezik a későbbi statisztikai analízisnek is.

3.6.1. Két mérés összehasonlítása ("előtt – után" típus)

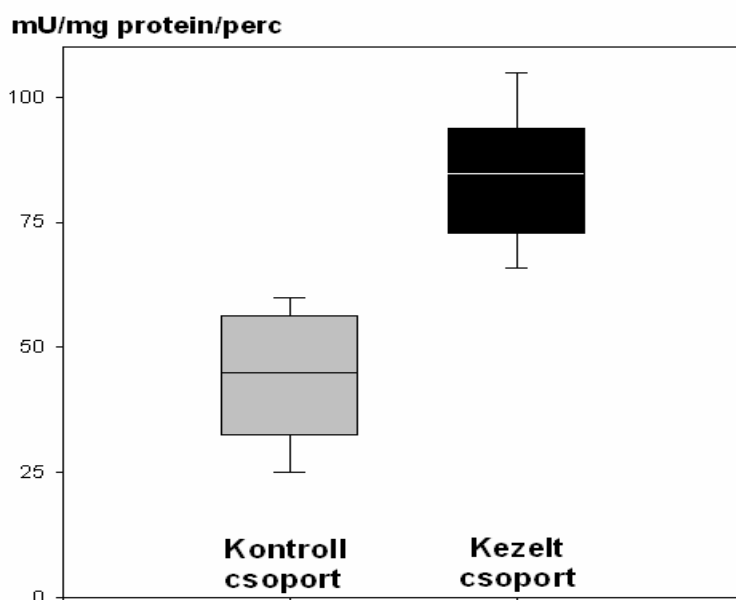
A legegyszerűbb eset, amikor mindössze két mérést végünk ugyanazon az egyeden, a beavatkozás előtt és után (**8. ábra**). A statisztika analízis szempontjából a két mérés *egymástól függő* mérésnek tekinthető, mivel a mérések ugyanazon az egyeden történtek.



8. ábra Két, egymástól függő mérés összehasonlítása egy beavatkozás előtt és után

3.6.2. Két csoport összehasonlítása egy mintavétel alapján

Két kísérleti csoportunk van, amelyekben csak egy-egy mérés/mintavétel történik, ugyanabban az időpontban. Így a két csoport egy-egy, azonos időpillanatbeli eltérését hasonlíthatjuk össze (kontroll – kezelt csoportok esete; **9. ábra**). A statisztika szempontjából a mérések *egymástól függetlenek*, mivel két különböző populáció adatait hasonlítjuk össze.



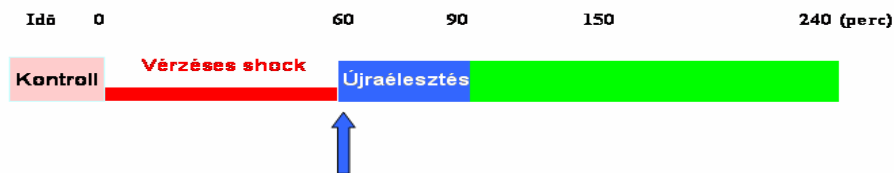
9. ábra Két, egymástól független csoport összehasonlítása

3.6.3. Kettőnél több csoport összehasonlítása egy mintavétel alapján

Az előbb említett (3.5. pont) pleuritis kísérlet tipikus példája a kettőnél több csoport összehasonlításának, ahol negatív kontroll, pozitív kontroll (indukált kórállapot) és a kezeléssel befolyásolt kórállapotú csoportokat hasonlítottuk össze (**7. ábra**). A statisztika szempontjából a mérések *egymástól függetlenek*, mivel több, különböző populáció adatait hasonlítjuk össze.

3.6.4. Többször ismételt mérések a populáció egy csoportjában

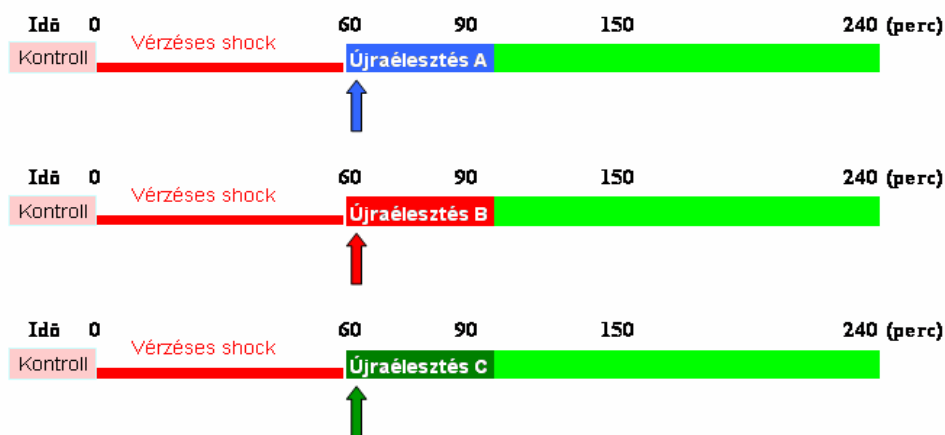
Ezt a kísérleti protokoll típust akkor alkalmazzuk, ha egy folyamat időfüggését vizsgáljuk. Minimum 3 mérés/mintavétel esetén érvényes, ahol a vizsgált paraméter változását a kezdeti kontroll alapvonal (*baseline*) értékéhez hasonlítjuk (**10. ábra**). A statisztikai analízis szempontjából a mérések *egymástól függő* mérésnek tekinthető, mivel a mérések ugyanazon az egyeden történtek.



10. ábra Többször ismételt, egymástól függő mérések protokoll típusa egy csoporton belül

3.6.5. Többször ismételt mérések kettőnél több csoport esetén

Az előzőhöz hasonló, de kettőnél több csoport esetére érvényes protokoll típus, ahol szintén egy folyamat időfüggését vizsgáljuk, természetesen kettőnél több, ismételt mérést/mintavételezést végezve (**11. ábra**). Ez esetben az adatok összehasonlítása két szempont szerint történhet. A statisztika analízis szempontjából a mérések *egymástól függő* mérésnek tekinthetők egy csoporton belül, ahol a vizsgált paraméterek változását a kontroll alapvonal (*baseline*) értékéhez hasonlítjuk. A másik szempont a csoportok közötti összehasonlítás, amely esetben minden egyes vizsgált időpontban a kapott adatokat *egymástól függetlennek tekintjük*.



11. ábra Többször ismételt mérések összehasonlítása kettőnél több csoport esetén

4. A kísérlet kivitelezése

Egy *in vivo* kísérlet igen sok türelmet és kitartást igényel, mivel számos dologra kell egyszerre figyelmet fordítanunk. Nemcsak a mérések pontos kivitelezésére, hanem a körülmények standardizálására, ezek fenntartására is ügyelnünk kell. Két kérdés merül fel a kísérleti kivitelezés kapcsán: 1. mit és mennyit mérjünk, és 2. mire figyeljünk kísérlet közben?

1. A lehetőségeinkhez képest minél több paramétert, minél többször meg kell mérni, különösen az elő-kísérletek időszakában, amikor még pontosan nem ismerjük a vizsgált folyamat változását, vagy a kísérleti alanyunk reakcióit. A sikeres kísérletek számának növekedésével (optimális esetben) kezd körvonalazódni a változás iránya, tendenciája, amely lehetővé teszi a mérési időpontok, illetve a vizsgálható paraméterek számának optimalizálását. Az elő-kísérletek fölösleges adatait később szelektálni lehet, de a hiányzó adatokat csak újabb, költséges mérésekkel lehet pótolni.

A kísérleti kivitelezés fontos eszköze a jegyzőkönyv. Lényeges, hogy a kivitelezés minden lépését, a mérések/mintavételek pontos időpontját, a gyógyszeres kezelések paramétereit (beadás módja, dózis, volumen, kezelés időtartama) és minden egyéb megfigyelésünket a jegyzőkönyvben rögzítsük. A jegyzőkönyv esetében fokozottan érvényes „a szó elszáll, az írás megmarad” elve: tömören, lényegre törő módon írjunk, úgy, hogy akár évek múlva is érthető legyen mindenki számára.

2. Néhány példa arra, hogy mire figyeljünk kísérlet közben:

- Fenntartó altatás: figyeljük az ébredés jeleit (pislogás, izomfeszítés; szívfrekvencia emelkedés) és meghatározott időpontokban, vagy amikor szükséges, adjunk fenntartó dózisú anesztetikumot.
- Testhő: altatott állatkísérletben nem elhanyagolható paraméter, amelynek ellenőrzése minimális odafigyeléssel és technikai eszközgénnyel megoldható. A rektális (végbélben történő) hőmérséklet monitorozása egyszerű és megfelelő pontosságú megoldás. Bizonyos anesztetikumok, műtétek és kórállapotok befolyásolhatják a testhő regulációját, amelyet fűtőpárna alkalmazásával tudunk kompenzálni.
- Infúzió: a folyamatos, kontrolált folyadék pótlás rendkívül fontos az altatott és sebészi beavatkozáson átesett állatok esetében. Csak így kompenzálható a hosszú távú altatás és a sebészi beavatkozás negatív hatása.
- Végáz: ha lehetőségünk van rá, ne hanyagoljuk el a végázok monitorozását. Azonnal jelzi a légzés és a homeosztázis zavarát, amelyet mesterséges lélegeztetéssel korrigálhatunk.

5. A mérési adatok értékelése, statisztikai analízis

5.1. Az adatbázis elkészítése

A mérési adatok összegzéséhez és értékeléséhez használjunk adatbázis kezelésére alkalmas szoftvereket (pl. MS Excel). Egy-egy kísérlet adatait ún. adat-blokkokba (rekord) rendezzük, amelynek első oszlopai a kísérlet dátumát, kódját, a csoport megnevezését és esetleg az adat forrás file nevét tartalmazzák (az adott rekordon belül állandó cellatartalom oszloponként). A mérések időpontja, illetve a mért paraméterek további oszlopokba kerülnek (az adott időponthoz tartozó sorokban, az idő függvénye szerint változó cellatartalommal). A 10. táblázat a fentieknek megfelelő adatbázis részletét szemlélteti.

10. Táblázat Az adatbázis felépítése (jelölések: Sham-op = álműtött, kontroll csoport; MBP = artériás középnyomás; HR = szívfrekvencia; BTemp = testhőmérséklet; CO = perctérfogat)

Dátum	Kód	Csoport	Forrás	Idő	MBP	HR	BTemp	CO
2006.10.13	Col1	Sham-op	CO ID1	0	76,42	389,61	37,55	73,6
2006.10.13	Col1	Sham-op	CO ID2	30	96,56	489,8	38,28	60,1
2006.10.13	Col1	Sham-op	CO ID3	60	92,63	454,55	37,85	61,3
2006.10.13	Col1	Sham-op	CO ID4	90	98,86	478,09	37,75	71,2

2006.10.13	Col1	Sham-op	CO ID5	120	85,95	585,37	37,43	87,7
2006.10.13	Col1	Sham-op	CO ID6	150	79,02	444,44	38,03	68,6
2006.10.13	Col1	Sham-op	CO ID7	180	83,46	463,32	37,5	74,8
2007.01.31	Col32	Colitis	CO_ID1	0	154,1	421,1	37,9	75,0
2007.01.31	Col32	Colitis	CO_ID2	30	152	412	37,2	83,1
2007.01.31	Col32	Colitis	CO_ID3	60	151,5	408,6	36,7	68,9
2007.01.31	Col32	Colitis	CO_ID4	90	155,3	375,1	35,4	74,5
2007.01.31	Col32	Colitis	CO_ID5	120	147	409	37,5	87,2
2007.01.31	Col32	Colitis	CO_ID6	150	138,5	454,1	38,6	94,3
2007.01.31	Col32	Colitis	CO_ID7	180	136,2	447	37,0	103,1

5.2. Az adatok grafikus ábrázolása

Diszkrét (kategórikus) adatokat (pl. férfi/nő; él/meghalt), amelyek csak egyetlen értéket vehetnek fel, általában oszlop, vagy kör diagramon ábrázoljuk.

Adataink többsége inkább *folytonos típusú*, azaz bármely értéket felvehet, így ábrázolhatók maguk a mérési pontok (*pontdiagram*), vagy a mérésekből számolt statisztikák. Ez utóbbi alapján lehet *hisztogramot*, *box-whisker* diagramot, *átlag-szórás* diagramot készíteni egy változó esetén.

A pontdiagram alkalmazásának egyik példája a korreláció vizsgálat, amikor két paraméter kapcsolatát ponthalmaz szemlélteti.

A *box-whisker* ábrázolási mód feltünteti az adatok 5-95 %-os terjedelmét, alsó és felső szórását, valamint a középtértéket (ld. **7. ábra**).

Az *átlag-szórás* diagram lehet oszlop vagy vonal grafikon.

5.3. A statisztikai analízis

Elöljáróban szükséges megjegyezni, hogy e jegyzet terjedelme nem teszi lehetővé, hogy a statisztikai analízis témakörrel részletesen foglalkozzunk. Célunk az alapfogalmak érthetővé tétele, és hogy rövid áttekintést adjunk a gyakorlatban alkalmazható statisztika módszerekről.⁴¹

5.3.1. Alapfogalmak

Sokaság (populáció): a vizsgálni kívánt egyedek, tárgyak, stb. összessége, amelynek minden elemre kiterjedő, teljeskörű vizsgálatát nem lehet, vagy nem gazdaságos elvégezni.

Statisztikai minta: a sokaságból kiválasztott egyedekhez tartozó megfigyelési adatok. A minta elemszáma a benne szereplő egyedek száma. Minél többet mérünk, annál jobban megközelíthetjük a minta alapján a populáció tulajdonságait. Ugyanakkor a mérésnek anyagi, térbeli és időbeli korlátai lehetnek. A minta optimális elemszámának meghatározása fontos feladat, és függ a problémától, előzetes ismereteinktől, az alkalmazandó módszertől.

Mintavételnél fontos szempont a *reprezentativitás* (azaz a kiválasztott minta jól reprezentálja a vizsgálni kívánt sokaságot), és a *függetlenség* (pl. ha ugyanazt az egyedet többször megmérjük, az így keletkezett adatok nem függetlenek - a minta elemszámát így nem lehet növelni).

A minta *eloszlása (hisztogram)*: a legkisebb és a legnagyobb mintaelem közti különbséget valahány (általában 5-nél több) intervallumra osztjuk. Ábrát készítünk úgy, hogy az intervallumokra olyan magas téglalapokat rajzolunk, mint ahány megfigyelés abba az intervallumba esik. Minél több a mintaelem, és minél több az intervallumok száma, a hisztogram annál jobban megközelíti az elméleti eloszlást. Ha ez az elméleti eloszlás formája harang-görbe (Gauss-görbe), akkor azt mondjuk, hogy a minta *normális eloszlású* populációból származik (**12. ábra**). Ha az eloszlás formája eltér a szabályos harang-görbétől (ferdeség jellemzi), akkor a minta *nem-normális eloszlású* populációból származik (**13. ábra**).

Elemszám: a mérések száma

Átlag: középérték. Ha $x_1, x_2, \dots, x_n$ jelöli a mintát, az átlag a mintaelemek számtani közepe, azaz:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

Standard deviáció (SD): a minta szórása, azaz a minta elemeinek az átlagtól való átlagos eltérése. Normális eloszlás esetén $\text{átlag} \pm 2 \cdot \text{SD}$ intervallumban található a mintaelemek 95%-a. Képlete:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

Standard error (SE v. SEM): az átlag szórása $SE = SD / \sqrt{n}$. Azt fejezi ki, hogy ha új mintát vennénk ugyanebből a populációból, akkor ennek az átlaga mennyire térne el a most kiszámolttól. Normális eloszlás esetén $\text{Átlag} \pm 2 \cdot SE$ jelenti azt az intervallumot, amelyben az átlag mozoghat az esetek 95%-ában.

Percentilis: 10%-os percentilis: az a szám, aminél a mintaelemek 10%-a kisebb.

Kvartilisek: 25%-os és 75%-os percentilisek (a minta "negyedelő" pontjai).

Medián: a minta közepe, az a szám, aminél a mintaelemek 50%-a kisebb vagy egyenlő. Számítása: a mintaelemeket nagyság szerint rendezve a medián középső elem, vagy a két középső átlaga.

Terjedelem: a legnagyobb és a legkisebb érték (mintaelem) közötti különbség.

Ferdeségi együttható: mérőszám arra, hogy az eloszlás szimmetrikus-e vagy ferde. Negatív ferdeségi együttható esetén baloldali (negatív) ferdeségről van szó, azaz az átlagnál nagyobb értékek a gyakoribbak.

Statisztikai becslés: a populáció eloszlásának valamely ismeretlen paraméterét a minta alapján becsüljük. A minta elemeit egy formulába helyettesítve közelíthetjük a paraméter igazi értékét (pl. a populáció "elméleti" átlagát a minta elemekből szokásos módon számolt átlaggal közelítjük). A *megbízhatósági intervallum (konfidencia intervallum)*: olyan intervallum, amely (általában) nagy valószínűséggel tartalmazza a becsült paraméter valódi értékét.

Hipotézisvizsgálat: Azt az eljárást, amellyel a statisztikusok az adatokat elemzik annak eldöntésére, hogy van-e elegendő bizonyíték a megsejtett (alternatív) hipotézis alátámasztására, hipotézisvizsgálatnak nevezzük. Két ellentétes állítást kell kialakítani, melyeket null-hipotézisnek és alternatív hipotézisnek nevezünk. A kísérletet azért végezzük, hogy az alternatív hipotézist bebizonyítsuk azzal, hogy lehetőleg kevés kétségünk maradjon afelől, hogy az alternatív hipotézis igaz, megmutatva, hogy a null-hipotézis nagy valószínűséggel hamis.

p-érték: annak valószínűsége, hogy a null-hipotézis fennállása esetén éppen az adott próbastatisztikát kapjuk. A számítógépes programrendszerek ezt a p értéket közelítőleg ki tudják számítani. Ma már többen ajánlják ennek a p-értéknek a közlését a $p > 0.05$ vagy $p < 0.05$ használata helyett. Ugyanis, a $p > 0.05$ alapján csak annyit tudunk, hogy nincs szignifikáns különbség 95%-os szinten. De ha pl. $p = 0.078$, akkor látható, hogy ez már "majdnem" szignifikáns, illetve az is 90%-os szinten. Ha pl. $p = 0.975$, akkor "messze" vagyunk a szignifikanciától, és elég biztosak lehetünk abban, hogy valóban nincs különbség.

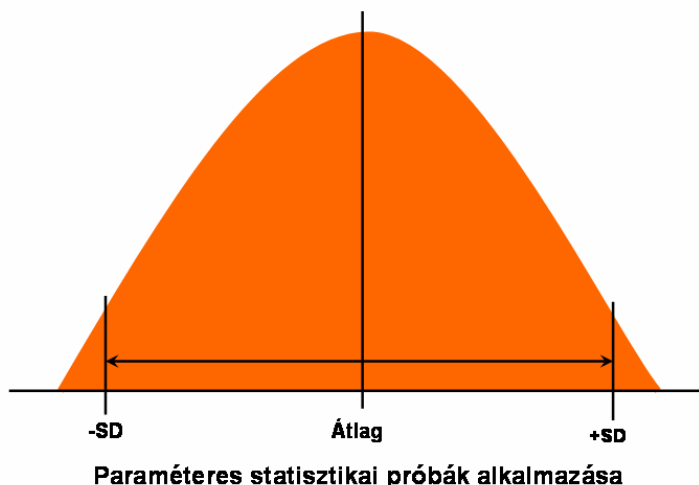
A szignifikancia, szignifikáns eltérés: a null-hipotézistől való, adott szintet meghaladó eltérés. A szignifikancia nem jelenti azt, hogy az összehasonlított várható értékek biztosan különböznek, csak azt, hogy a megegyezés valószínűsége kicsi (5%).

Nem szignifikáns: $p > 0.05$, 95%-os szinten nem szignifikáns különbség azt jelenti, hogy nem sikerült különbséget kimutatni.⁴¹

5.3.2. A statisztikai analízis gyakorlati alkalmazása

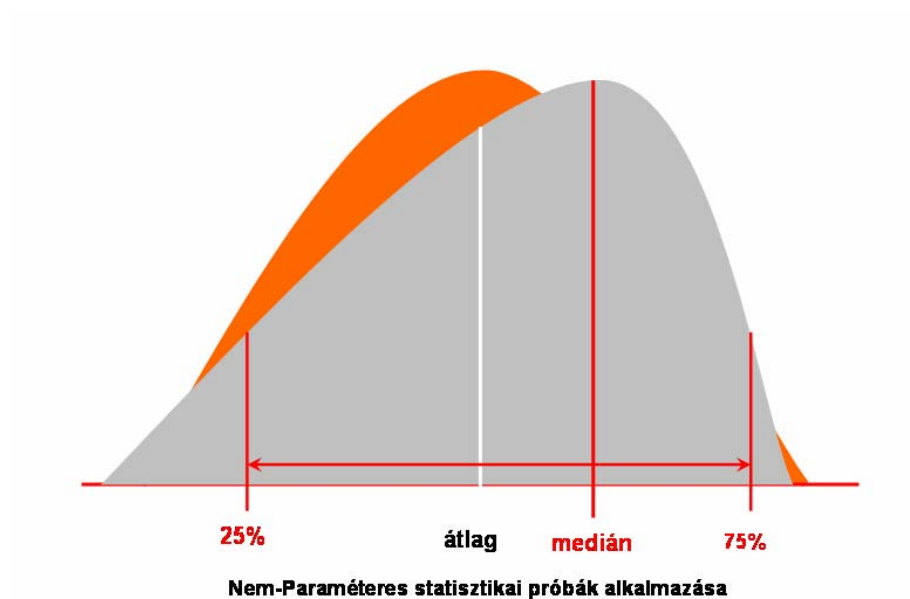
Adataink statisztikai analízisét célszerű eloszlás vizsgálattal kezdeni. Ha elég nagy elemszámú mintánk van (több száz), akkor az eloszlás típusa nagy pontossággal megállapítható a

ferdeségi együttható, vagy a szórás azonosság tétele alapján (a statisztikai programok általában automatikusan elvégzik az eloszlás vizsgálatot). Azonban igen ritkán fordul elő, hogy több száz adatunk van, a mintánk elemszáma legtöbbször 5-20 közé esik. Ilyen, relatíve kis elemszám esetén az eloszlás típusa pontosan nem állapítható meg, így kisebb hibát követünk el, ha feltételezzük a nem-normális eloszlást.

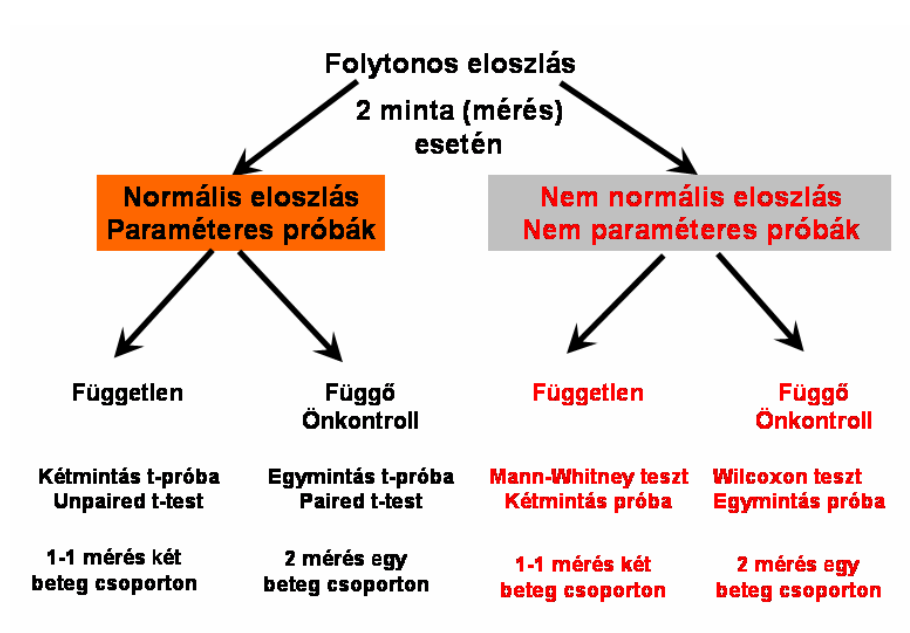


12. ábra Harang formájú normális eloszlás (Gauss-görbe), amelyet az adatok átlagával és szórásként a standard deviációval jellemezhetünk

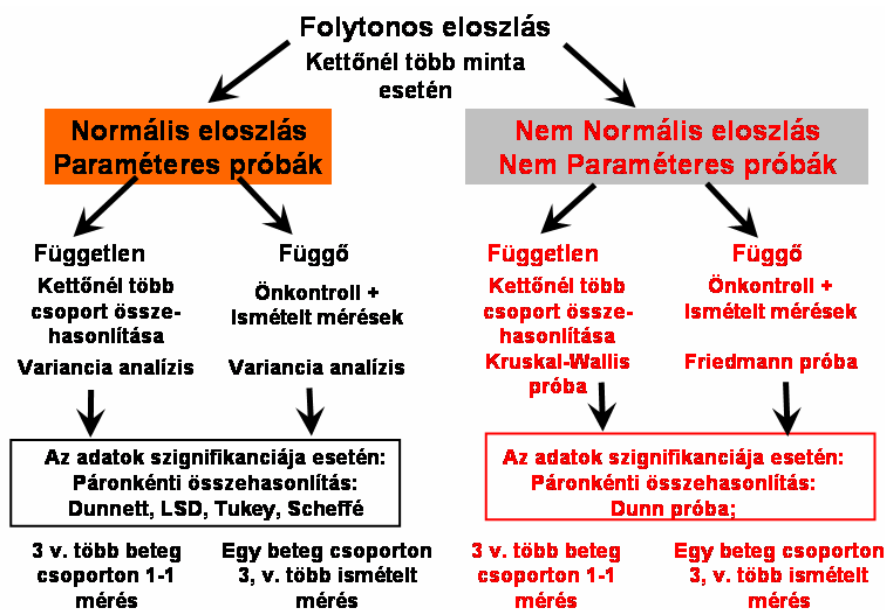
A statisztikai vizsgáló módszereket (próbákat) az eloszlás típusának megfelelően alkalmazhatjuk. Paraméteres eloszlás (Gauss görbe; **12. ábra**) esetén paraméteres statisztikai próbákat, míg nem-paraméteres eloszlás (torzult Gauss görbe; **13. ábra**) esetén nem-paraméteres statisztikai próbákat alkalmazhatunk. A továbbiakban használandó statisztikai próbák kiválasztását már a kísérleti protokoll típusa határozza meg. Két minta esetén egy mintás, vagy két mintás próbákat végezhetünk, attól függően, hogy adataink egymástól függő, vagy függetlenek. Két minta esetén választható próbák áttekintéséhez a **14. ábra** nyújt segítséget. A kettőnél több minta, illetve ismételt mérések esetére az alkalmazható statisztikai próbákról a **15. ábra** nyújt áttekintést.⁴¹



13. ábra Torzult harang-görbe formájú, nem-normális eloszlás, amelyet az adatok medián értékével és szórásként a kvartilisekkel jellemezhetünk



14. ábra Két minta esetén választható statisztikai próbák áttekintése



15. ábra Kettőnél több minta, illetve ismételt mérések esetén alkalmazható statisztikai próbák összegzése

Dr. Érces Dániel, SZTE ÁOK Sebészeti Műtéttani Intézet

Injekciózás, perifériás vénabiztosítás

Injekciózás

Gyógyszeres kezelést injekció formájában akkor alkalmazunk, ha 1/ a gyógyszert szájon át nem lehet beadni, 2/ a hatóanyag a bélben elbomlik, vagy onnan nem szívódik fel, és 3/ gyors hatást akarunk elérni.

Az injekció beadása fertőzésveszéllyel járhat, ezért a sterilitás szabályainak betartása mellett kell végezni.

Injekciózás kellékei: fecskendők, tűk.

Fecskendők

Részei: henger (alsó beszűkülő része a kónusz, ide csatlakozik a tű), dugattyú.

Típusai: **Rekord** üveg+fém (nehezen tisztítható), üveg (könnyen tisztítható, magas hőn is sterilizálható, törékeny). Mindkettőt már csak ritkán használják.

Műanyag (Luer): ma már többnyire ezt használják, egyszerhasználatos, gyárilag sterilizált.

Köbtartalom alapján: 1 (Tuberkulin, 0,01 ml-s beosztással), 2, 5, 10, 20, 25, 50, 60 ml-es.

Injekciós tűk

Rozsdamentes acélból készülnek.

Rekord tű: fém dróttal (mandrin). Szérumtű: hosszú (5 cm), vastagsága számozással: 1-6, 1 a legvastagabb. A Rekord tű csak a Rekord fecskendőhöz csatlakoztatható.

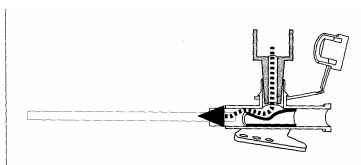
Ic., sc., im. tű vékonyabb, rövidebb. Számozásuk 1-30, 30 a legvékonyabb.

Egyszerhasználatos (Luer) tű: fém+műanyag kónusz, steril, nemzetközileg elfogadott színek jelzik a méretet (G=gauge, a tű külső átmérőjét jelzi). A műanyag (Luer) fecskendőhöz csatlakoztatható.

Szárnyas tű (+kanül): flexibilis, jól rögzíthető műanyag szárnyakkal.



Branül: tű+katéter kombináció. Részei: műanyag katéter rögzítő szárnyakkal, a katéternél hosszabb fémtű, szelepes injekciós port zárható fedőkupakkal, vérgyűjtő kamra. Az injekciós port szelepe lehetővé teszi az iv. injekciók beadását, ugyanakkor meggátolja a folyadék visszaszivárgását ill. beszívódását. Használat után a szelep automatikusan záródik.



Az injekció típusai, felszívása

Injekciós gyógyszer típusai: oldat, por.

Injekciós oldat

Az ampulla felnyitása után a gyógyszer rövid időn belül be kell adni a sterilitás csökkenése, és a gyógyszer bomlása miatt. Az ampulla nyakát ampullareszelővel átreszeljük, majd az ampulla nyakát letörjük. A gyógyszer felszívásakor a tű nem érintheti az ampulla külsejét. Gumidugós üvegnél először az oldatnak megfelelő mennyiségű levegőt nyomunk az üvegbe a fecskendőből, majd az üveget felfelé fordítva kiszívjuk a gyógyszert.

Porampulla

Por alakban azokat a gyógyszereket hozzák forgalomba, melyek oldott állapotban könnyen elbomlanak. Üvegampulla: az oldószer desztillált víz, vagy fiziológiás sóoldat. Gumidugós üveg: befecskendezzük az oldószert az üveg oldalára (egyenletesebb oldódás, csomómentesség), majd az oldatot összerázzuk és felszívjuk.

Légtelenítés

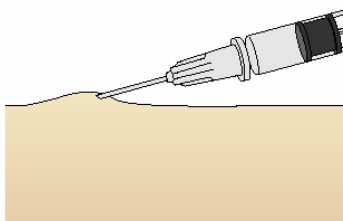
Az injekció beadása előtt a fecskendőbe került levegőt eltávolítjuk: a fecskendőt felfelé tartjuk és a tűn keresztül a levegőt kinyomjuk.

Az injekciózás formái

Intrakután

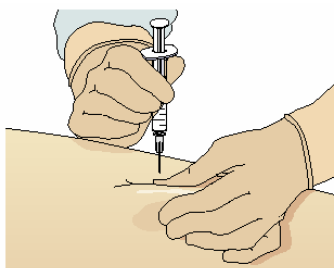
A bőr rétegei közé adjuk (többnyire bőrpróbák allergia kimutatására, pl. tuberkulin próba, gyógyszerallergiák).

Tuberkulin fecskendő (1 ml-es), vékony (25-27G), 1 cm hosszú tű, kis mennyiségű anyag (max. 0,5 ml). A bőrt zsírtalanítjuk, fertőtlenítjük (benzin, jód). Megfeszítjük és a fecskendőt kis szögben (10-20°) tartva a tűt a bőrbe szúrjuk. A szúrás helyét száraz vattával enyhén letöröljük.



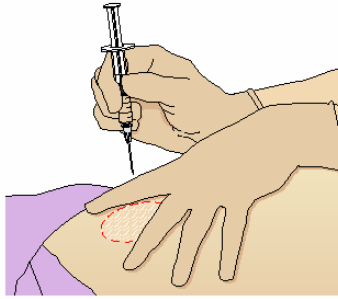
Szubkután

Kis mennyiségű (1-2 ml) gyógyszer bőr alá juttatása. Zsírtalanítás és fertőtlenítés után a bőrt hüvelyk- és mutatóujjunkkal összenyomva megemeljük és a tűt (25-27G, 1-1,5 cm hosszú tű) 45-60°-os szögben beszúrjuk a bőr alatti kötőszövetbe. Ha a fecskendő visszaszívása után nincs vér a fecskendőbe, befecskendezzük a gyógyszert. A szúrás helyét száraz vattával fedjük.



Intramuszkuláris

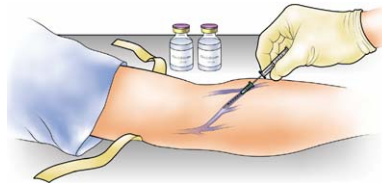
Nagyobb mennyiségű (max. 5 ml) oldat/olajos injekció beadására, és a gyors hatás elérésére alkalmazzuk. Zsírtalanítás/fertőtlenítés után a bőrt kissé megemeljük, megfeszítjük, és a fecskendőt merőlegesen tartva, a tűt (20-25G, 1,5-2,5 cm hosszú tű) derékszögben gyors mozdulattal az izomba szúrjuk. A szúrás helyét masszírozzuk meg, ezzel segítve a gyógyszer felszívódását.



Intravénás

Iv. injekciót akkor adunk, ha gyors hatást akarunk elérni, vagy a gyógyszer másképp nem adható be (pl. izgatja a szöveteket). Közvetlenül a keringésbe csak vizes oldatot adhatunk, olajos gyógyszert nem. Az iv. injekciózás és a perifériás vénák biztosítására korábban szérumtűt használtak, ma már használhatunk szárnyas tűt és Branült is.

A vénától centrálisan lévő részt gumiszalaggal leszorítjuk, hogy a visszafolyást megakadályozzuk. A véna telődéséhez a beteg a kezét néhányszor ökölbe szorítja, vagy gyengén ütögetjük a véna területét. A bőrt zsírtalanítjuk, fertőtlenítjük. A tűt (18-23 G) a véna lefutásának megfelelően, hegyével felfelé, 30-45°-os szögben beszúrjuk. Ha a dugattyú visszahúzásakor vér jön, lassan beadjuk a gyógyszert. Megszüntetjük a leszorítást, a beteg lazítja a kezét. A szúrás helyére steril száraz vattát szorítunk, kihúzzuk a tűt, és a beteg a könyökét behajlítja.



Az injekciózás veszélyei, szövődményei

Az injekció beadási technikájának hibájából a szövetekbe jutott gyógyszer azokat károsítja, vagy idegsérülést okozhat. A bőr ép legyen, sérült, fertőzött bőrbe nem lehet injekciót adni. Nem steril eszközök (tű, fecskendő, oldat), nem kellően fertőtlenített bőrfertőzést okozhat.

Iv. injekció szövődményei. Vérömleny: a szúrás nyílásán át a vénából a környező szövetekbe kerül a vér. Paravénás injekció: beadás közben a tű kicsúszik az érből, és a gyógyszer a szövetekbe kerül (fájdalom, szöveti nekrosis, fertőzés). Vizes borogatással, vagy érzéstelenítéssel (Novocain) csillapítható.

Allergia esetén (pl. patkányok esetében dextrán beadásakor) toxikus reakció, kiütés, ödéma, láz alakulhat ki. Ilyenkor azonnal beszüntetjük a gyógyszer további adását.

Sebészi csomózás

A sebészetben a varratokhoz vagy lekötésekhez használt fonalak végeit sebészi csomókkal egyesítjük.

Alapok, követelmények

Alapvető követelmény a sebészi csomóval szemben: gyors, szilárdan tartó, és megbízható legyen. A nem szabályosan megkötött csomó súlyos posztoperatív komplikációkat okozhat; a laza csomó nagyobb heg képződéséhez vezet, a szorosan megkötött csomó a vérkeringés csökkenése miatt lassítja a sebgyógyulást. A csomó lehetőleg olyan kicsi legyen, mely felszívódó fonál esetén nem okoz szöveti reakciót, nem felszívódónál, mint idegentest minimális szöveti választ idéz elő. A csomózás végén a fonalakat közvetlenül a csomó felett kell levágni (kivéve a bőrvarratoknál, ahol a varratkiszedés megkönnyítésére hosszabb fonalat hagyunk).

Sebészi csomózási típusok

A csomók elkészítésének többféle módja, technikája van. A női csomó vagy kofa csomóban, a mindennapi életben használt két egyszerű csomót kötünk egymás fölé: a második csomóban a fonalak végének iránya azonos az alapcsomóéval. Mivel ez a csomó könnyen kibomlik, a *sebészi gyakorlatban nem szabad használni.*

A sebészetben legalább két egymás fölött elhelyezett csomót („félcsomó”) tekintünk egy csomónak: az első az alapcsomó, a második, a befejező csomó, mely ellentétes irányú az előzővel, ez rögzíti a helyzetet. A csomózás előtt a fonalvégeket mindig keresztezni kell. A csomók száma a sebészi varrófonal típusától függ, szintetikus monofil fonalakból 5-6 csomót kell kötni a biztonságos rögzítéshez.

A sebészetben használatos csomózási technikák: kétkezes csomózás, egykezes csomózás (az egyik kéz csomóz, a másik a fonalvéget tartja, de a csomó meghúzásában mindkét kéz részt vesz), műszeres csomózás.

Kétkezes csomózás

A kétkezes csomózási technika kivitelezése könnyű, a csomózásban mindkét kéz egyformán aktívan vesz részt. Főleg feszülés alatt álló szöveteken alkalmazzuk.

Tengerész vagy hajóscsomó.

Sebészcsomó. A csomózás technikája azonos a tengerészcsomóéval, de az első csomó végén kétszer vezetjük be a fonalat a hurokba, majd ezt a helyzetet egy másik, ellenkező irányú csomó rögzíti (a tengerészcsomóhoz hasonlóan). Elsősorban feszülő szöveteknél (bőr, fascia) használják.

Bécsi csomó. Hasonló csomót ad, de más technikával. Gyorsabb, elegánsabb, jól alkalmazható kevésbé feszülő szöveteknél (bőr).

Műszeres csomózás

Akkor használjuk, ha mélyen fekvő szövetben kell csomózni, vagy ha a fonalak egyik vége rövid (ezzel a technikával fonalat takarítunk meg), vagy ha atraumatikus varróanyaggal dolgozunk. Végezhetjük tűfogóval (leggyakoribb), érfogóval (Péannel), vagy egyéb fogó eszközzel.

Szövetegyesítő lehetőségek, varrás, kapsok

A műtét befejezésekor a szöveteket varratokkal vagy kapsokkal egyesítjük. A varratokban a szöveteket öltésekkel egyesítjük, majd a fonalakat megcsomózzuk. A sebgyógyulás alapvető feltételei: a szövetegyesítés pontos és feszülésmentes legyen, holtter ne keletkezzen, és biztosítsuk a seb optimális vérellátását. Olyan kevés öltést alkalmazzunk, amennyire lehetséges, és csak annyit, amennyi szükséges. Sutura használhatunk vérzéscsillapítás céljából is.

Varrattípusok

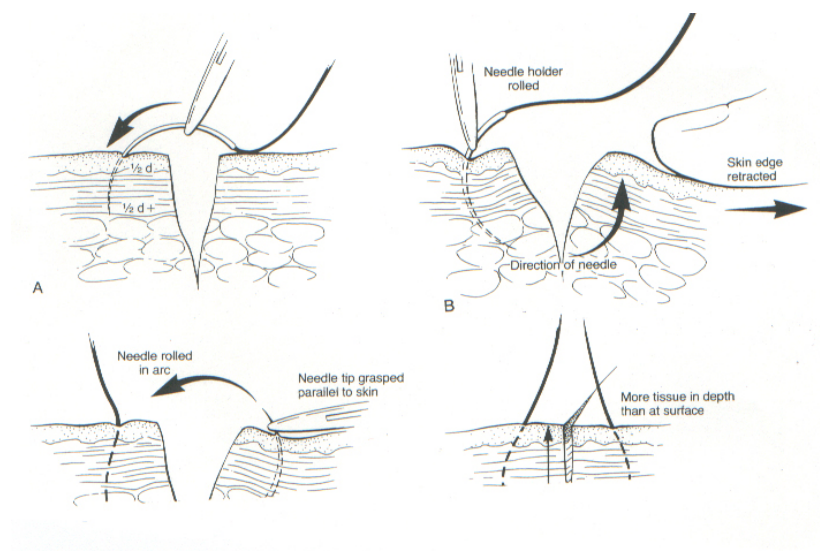
Rétegszám szerint: egyrétegű (csak egyfajta réteget öltünk), két- vagy többrétegű (mindent átöltő).

Mélység alapján: egy- és kétsoros (ritkán többsoros).

Hosszanti sorrend alapján: egyes (csomós vagy megszakított) és tova futó.

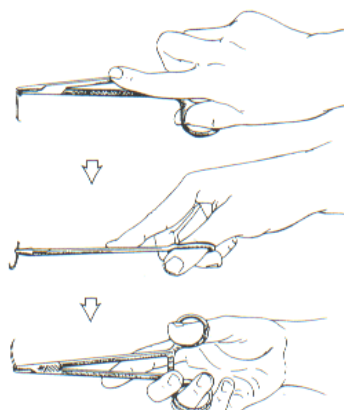
A réteges szövetegyesítés szempontjai:

- ne helyezzük túl közel a sebszélhez, hogy a fonal a szöveteket ne szakítsa át.
- a sebszéltől kb. $\frac{1}{2}$ -1 cm-re öltünk be és a másik bőrszálon ugyanilyen távolságra öltünk ki (általában magunk felé öltünk).
- öltések egymástól egyenlő távolságra legyenek (kb. 1 cm-re).
- a csomók ne a sebszélek fölé, hanem a sebvonalra kerüljenek.
- egymással szembe öltünk, így nem keletkeznek ráncok, ill. rések.
- öltés során csuklónkkal kövessük a tú görbületét.
- a sebszélek everzióban legyenek (invertált sebszél vastag heggel gyógyul).
- felületen sebként a seb alapjáig öltünk le, így nem marad holtter, melyben a vér, sebváladék könnyen összegyűlhet (sebfertőzés, szövődmények).
- a fonalat ne húzzuk meg túl erősen, hogy elkerüljük a szövetek ischaemiáját.
- mély sebet több rétegben zárunk.
- bőröltésnél több szövetet öltünk át a seb mélyén, mint a felszíni rétegben:



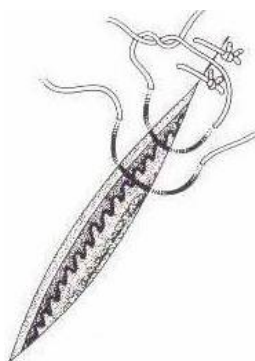
Varratok elkészítéséhez szükséges eszközök: sebészi varrótű, sebészi varróanyag, tűfogó, horgas csipesz, kapcsok, kapocsrakó/szedő műszer, illetve különböző varrógépek, szövetragasztók.

Tűfogó helyes tartása:



Csomós varrat: egyszerű (bőr, fascia, izom)

Minden öltés után csomózunk. Vigyázni kell, hogy minden varrat azonos feszülés alatt álljon.



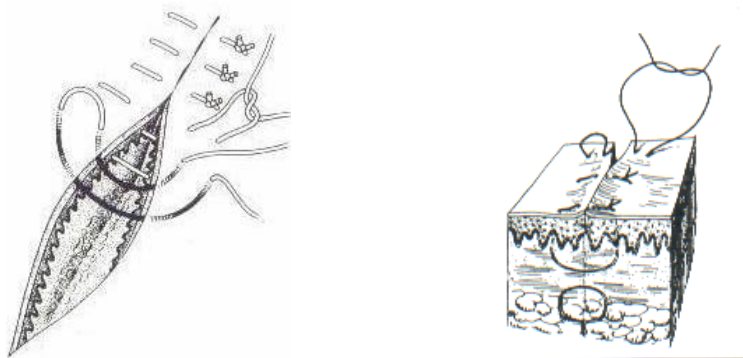
Előnye: ha a sutura kilbomlik, a többi varrat még megfelelő tartást biztosít; eltávolítható anélkül, hogy az egész seb szétnyílna. Hátránya: hosszadalmas, mert minden öltést csomóval kell befejezni.

Subcutan réteg egyesítése egyszerű csomós öltésekkel

Az egyszerű csomós öltéshez kb. 15 cm-s lenfonal, tű és tűfogó szükséges. A subcutist kb. 1/2 cm mélyen horgas csipesszel megfogjuk. A kifeszített bőrterületre ráhúzzuk a tűt, a tű hegyével ferdén és lefelé kb. 1-2 cm mélyen öltünk be. A hozzánk közelebbi szöveteket felvéve gördítve toljuk magunk felé, csuklónkkal követve a tű görbületét. Csuklónkat egészen addig gördítjük, amíg a tű hegye elő nem bukkan (mély öltéseknél előfordulhat, hogy a tűfogóval fogást váltva toljuk tovább a tűt). Az operatőrnek mindig látnia kell a tű hegyét. A szövetekből előbukkant tűt a hegye alatt horgas csipesszel megtartjuk, majd a tűfogóval a csipeszünk alatt megragadva, csuklóból gördítve teljesen kihúzzuk a bőrből. A tű hegyét soha ne fogjuk meg. Az öltés végén a tűt mindig a tűfogóba befogva adjuk vissza a műtősnőnek (a nyitott seb felett elvesztett tű számos szövődményt okozhat). A fonal másik, szabad végét az asszisztens tartja, így a fonal a tűből már kihúzható. Az öltések között kb. 1,5 cm-s távolságot tartunk. A csomókat megkötjük, de nem vágjuk le felettük a fonalat. A feszesen, az asszisztens által megemelve tartott, megcsomózott fonalak a következő öltés behelyezéséhez nyújtanak segítséget. A fonalakat csak a réteg tökéletes egyesítése után vágjuk le közvetlenül a csomók felett.

Csomós varrat: vertikális matracöltés (Donáti) (bőr)

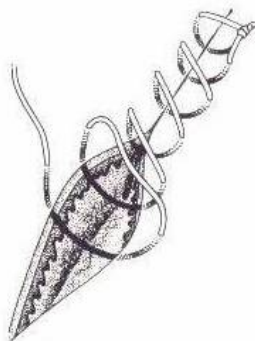
Dupla öltés: oda (mélyen) – vissza (felületesen a bőrszélbe).



Donati-típusú bőrvarrat készítése

A bőrt legtöbbször Donati típusú csomós varrattal egyesítjük. A suturához 40-es lenfonalat v. nylon fonalat és bőrtűt (háromélű vágótű, görbülete kisebb, mint az izomtűé) használunk. A varrat készítése során a seb mélyebb és felületesebb rétegébe külön-külön öltünk be, ezáltal a sebszélek pontosan illeszkednek. A tőlünk távolabbi bőrszél horgas csipesszel megfogjuk és a sebszáltól kb. 1 cm-re öltünk a bőrbe, mintegy ráhúzva a tűre a sebszált. Majd a közelebbi sebszélbe öltünk, bentől kifelé haladva. A tűt kihúzzuk a bőrből és megfordítjuk, a tűfogónk helyzete közben nem változik. Újra befogjuk a tűt a tűfogóba. A bőrszált megfogjuk horgas csipesszel és beöltünk a bőrszélbe, kb. 1 mm mélyen, a cutis-subcutis határán. A felületes visszaöltéssel pontosan egyesítjük a sebszéleket és megakadályozzuk, hogy a bőrszélek ki, illetve beforduljanak. A tőlünk távolabbi sebszálon belülről öltünk kifelé, ismét a cutis-subcutis határán, kb 1 mm mélyen. Kihúzzuk a tűt, a fonalat megcsomózzuk, nem túl erősen, hogy elkerüljük a csomó alatti terület ischaemiáját. A varrat elkészítése után 0,5-1 cm-s fonalat hagyva a csomók felett. A sebkörnyéket jóddal kezeljük, fedőkötéssel látjuk el.

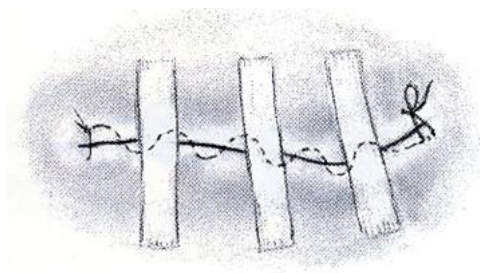
Tovafutó varrat (nem feszülő szövetek, belső szervek fala, gyomor, bélrendszer, nyálkahártya)



Előnye: gyorsan kivitelezhető, csak a varratsor elején és végén csomózzunk (nem húzzuk át a fonalat teljesen, hanem önmagával csomózzuk), a feszülés egyenletesen oszlik el a seb teljes hosszában. Az öltés során az asszisztens feladata a fonal folyamatos tartása és vezetése (kézzel vagy csipesszel), hogy megakadályozzuk a fonal kilazulását.

A szövetegyesítés egyéb módjai

Ragasztó csíkok (Steristrip): ha a sebszélek jól összeilleszthetők, vagy kisebb, nem varrást igénylő sebeknél is használják, vagy varratok behelyezése után:



Szövetragasztók: fibrinbázisból állnak (fibrin, kollagén, trombin), a véralvadás utolsó szakaszát idézik elő, így szilárd fibrinháló keletkezik (anasztomózis, ér- és idegvarratok biztosítása, bőrtranszplantátumok rögzítése, vérzéscsillapítás).

Szövetegyesítés mechanikus eszközökkel

Bőr egyesítése kapcsokkal

Először Cushing használt ezüst drótokat kisebb erek lefogására. A ma használt kapcsok acélból vagy titánból készülnek. Kapcsokat olyan területen használunk, ahol a bőr nem feszül, és jó a gyógyhajlam, pl. appendectomia, strumectomia vagy sérvműtét után, illetve minden lumennel rendelkező képletben (erek, járatok). A kapcsok a használatukra alkalmas speciális fogóműszer, a Michel-féle kapocsrakó/szedő műszer pofájába (applikátor) illenek. A kapocsrakó széles, lapos, csipeszszerű részével fogjuk meg a kapcsot. Az asszisztens két horgas csipesz segítségével egyezteteti és megemeli a bőrszéleket. Az operatőr a kapocsrakóval - a bőrfelszínre merőlegesen - egy határozott mozdulattal behelyezi a kapcsot a két horgas csipesz közötti területbe. A műszer összenyomásakor a kapocs végei záródnak. A műszer másik végével történik a kapocs kiszedése.

Varratok a különböző szövetekben

- **Bőr:** általában nem felszívódó fonal (selyem, szintetikus anyag); egyszerű csomós öltés, vertikális matrac (Donáti) öltés, fémkapcsok, gépi kapocsrakás, ragasztócsík, drótvarrat (nehéz sebgyógyulás esetén) is alkalmazható.
- **Nyálkahártya:** vékony, felszívódó varrat, régebben catgut.
- **Gyomor-bél:** nagy a varrat insufficiencia veszélye.
- **Izom:** többnyire catgut öltésekkel zárjuk az izmot a fasciával együtt.
- **Fascia:** csomós öltések selyem vagy szintetikus varróanyaggal.
- **Ín:** nem felszívódó monofil vagy drótfonal.

- **Ér:** nem felszívódó szintetikus fonal (Prolene).
- **Ideg:** mikrosebészeti technikával nem felszívódó monofil fonalakkal.
- **Parenchymális szervek** (máj, lép, vese): felszívódó matracöltés.

Varrat eltávolítása

A varrat eltávolítás ideje (ált. 3-14 napon belül) függ a varrat helyétől (feszülés alatt lévő területről később távolítjuk el a varratot), a műtéti terület vérellátásától (jobb vérellátású területről hamarabb távolítható el a varrat) és a kísérleti állat általános állapotától. A pofán 3-5 nap, a fejbőrön, és hasfalon 7-10 nap, a törzsön, végtagokon 10-14 nap múlva történik varratkiszedés.

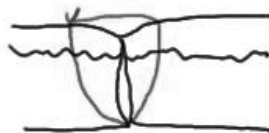
Egyszerű csomós öltés eltávolításakor a bőr dezinficiálása után a fonalat anatómiás csipesszel megfogjuk, kissé megemeljük, és úgy vágjuk át a fonalat a bőr felett, hogy a bőr felszínén lévő részt ne húzzuk át a seben, így elkerüljük a fertőzés kialakulását. Kapcsok eltávolítása a Michel-féle kapocsrakó/szedő műszerrel történik. A kapocs eltávolításakor horgas csipesszel megfogjuk a kapocs száránál lévő gyűrűt. A kapocsszedő élét a sebvonallal és a kapocs közé a kapocs hajlatába csúsztatjuk, a műszert összezárjuk, így a kapocs szétnyílik, és a tartóhorgok kicsúsznak a bőrből.

Varrattechnikai hibák:

holttér:

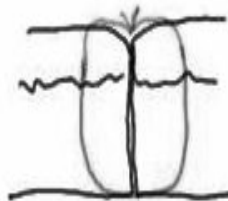


elégtelen mélység:



egyenlőtlen sebszélek:

csomó a sebvonalban:



ANESZTÉZIAI LEHETŐSÉGEK KISÁLLAT MODELLEKBEN

Varga Gabriella, SZTE ÁOK Sebészeti Műtéttani Intézet

A gyakorlat célja: Megismerni és összehasonlítani a különböző aneszteziológiai lehetőségeket.

Altatás módjai:

Inhalációs altatás

Intra peritoneális altatás, 2 altatószer hatásának összehasonlítása

Szükséges anyagok:

Fecskendő

Tű

kesztyű

zárható üveg

altatószer: éter, ketamin-xylazin, Na-pentobarbital

Állat: patkány

A gyakorlat menete:

Számolási feladat:

Altató mennyiségének kiszámítása 300 g-os állat esetében

Na-pentobarbital ip. dózisa: 45 mg/kg

Ketamin-xylazin ip. dózisa:

1. Inhalációs altatás éterrel:

Egy zárható üvegbe öntsünk étert, majd helyezzük bele az állatot,
Várjuk meg, amíg hat az éter, majd az állatot vegyük ki az üvegből

2. Ip. altatás Na-pentobarbitállal és Ketamin-xylazin keverékkel

- A megfelelő mennyiségű altatószer előkészítése (oldása, kihígítása),
majd felszívása fecskendőbe.

- Az egyik ember megfogja az állatot, míg a másik ember a has bőrét
elhúzva megfeszíti azt, és a tűt a has alsó harmadába beszúrva
befecskendezi az altatószert a hasüregbe.

Feladat:

Hasonlítsd össze a három altatószer hatását

a./ Mérd az elalvás idejét!

b./ Mérd az alvási periódus hosszúságát!

ANESZTÉZIA ÉS ALAPVETŐ BEAVATKOZÁSOK KUTYÁN

Dr. Kaszaki József, SZTE ÁOK Sebészeti Műtéttani Intézet

Prof. Dr. Végh Ágnes, SZTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

1. Az állat előkészítése az altatáshoz:

Minimum 12 órás éhezés javasolt szabad vízfogyasztás mellett (a táplálékot előző nap délutánjától célszerű elvenni a kísérletre szánt állattól).

Fontos hogy az altatás előkészítése (vezető póráz felhelyezés, az altató ketrecbe helyezés) csak minimális kényszer és stressz alkalmazásával történjen (kiemelt jelentőségű az állatgondozó kapcsolata a kísérleti állatokkal).

Vezető póráz alkalmazásával az altató ketrecbe helyezzük az állatot. Az altató ketrec oldalfalai mobilisek, így mozgatusukkal az állat az altatáshoz megfelelő pozícióba kényszeríthető. A rácsok közötti távolság annyira tág, hogy az állat mellső lábát kényelmesen ki lehessen húzni a rácsok között az iv injekció beadásához.

2. Az intravénás (iv) injekció:

Kutya esetében leggyakoribb használható perifériás vénák (amelyekből vérvétel is történhet), a hátsó lábon a v. saphena parva r. dorsalis (csánk /külboka felett), illetve az első lábon a v. cephalica antebrachii (alkaron). Ezek felületes, bőr alatt futó nagyobb vénák, amelyek jól láthatók és tapinthatók, ha a szúrás helyétől proximálisan leszorítjuk a végtagot.

A véna feletti szőrt eltávolítjuk nyírógéppel. Az iv injekció beadásának lépései:

- A tervezett szúrás helyétől proximálisan leszorítjuk a végtagot;
- A vénát kitapintjuk;
- Antiszeptikus törlést alkalmazunk;
- A perifériás véna lokalizációját követően, a 16 G-s injekciós tűt, vagy Braunül-t (kanül+tű) a bőrfelszínhez képest 30-45°-os szögben tartva, megsúrnjuk a vénát, közben megszüntetjük a proximális leszorítást.
- A punkció után lassan visszahúzzuk a tűt, így a vér megjelenését észleljük (a Braunül esetében a kanülben, illetve a Braunül injekciós portjának kamrájában).
- A kanült tovább toljuk a vénába és ezzel párhuzamosan eltávolítjuk a tűt.
- Csatlakoztatjuk az altatószert tartalmazó fecskendőt az injekciós tűhöz, vagy Braunül-höz.

3. Altatás:

Na-pentobarbitál hatóanyagot tartalmazó Euthanyl (30 mg/kg) adunk be lassú bólusban. Amikor az állat összezsugorodik, a fecskendő eltávolítjuk, a Braunül csapot zárjuk. Injekciós tű esetében a tűt eltávolítjuk és tamponos leszorítást alkalmazunk. Az iv adott Na-pentobarbitál hatása kb. 45-60 percig tart. A további fenntartó altatást végezhetjük továbbra is iv adott Na-pentobarbitállal (3-5 mg/kg/óra). Azonban kardiális irányú kísérletek esetében célszerű kloralóz-uretán (2 %-os kloralóz – 15%-os uretán) keveréket alkalmazni, amely nem befolyásolja a kardiális reflex folyamatokat. A kloralóz-uretán keveréket 100 ml fiziológiás só oldatban 90 °C-on oldjuk, amíg a kristályok fel nem oldódnak. A testhőfokra visszahűtött oldatból szükség szerint adunk 3-5 ml fenntartó dózist (kloralóz: 15 mg/kg/óra; uretán: 90 mg/kg/óra).

4. A kutya intubálása, légút biztosítása

Az altatott állatok esetében a légutak folyamatos biztosítása alapvető feladat a kísérlet során. Elvileg ez elérhető extratrachealis módszerekkel oldalt fekvő helyzetben, az állat fejének hátraszegésével és a nyelv előrehúzásával, azaz hátraesésének megakadályozásával. A légutak szabadon tartásához különböző méretű endotracheális tubusokat alkalmazunk. Az intubálás kutyán általában laringoszkóp nélkül is elvégezhető: hanyatt fekvő helyzetben, az alsó-felső álkapsok szétfeszítése és a nyelv előrehúzása mellett jól látható a gégefedő, amelyet egy hosszú csipesz segítségével megemelünk (vagy az állat fejének megfelelő hátraszegése esetén), így láthatóvá válik a trachea és az endotrachealis tubus szájon át a gégébe vezethető.

Az endotrachealis tubus gumiból vagy műanyagból készült, kb. 30 cm hosszú, enyhén hajlított cső. Disztális végén felfújható mandzsetta van, amelynek felfújására szolgáló vékony csövecske kis kontroll ballonnal van ellátva. Az intubálás mélységét a tubus jelzésén leolvashatjuk. A tubus distalis végének a tracheában a bifurkáció felett 1–3 cm-nyire kell lennie ahhoz, hogy mindkét tüdő egyenletesen vegyen részt a légzésben. A tubus disztális végén található mandzsetta felfújásával rögzíthetjük a tubust a tracheában. A mandzsetta kontroll ballonja automata szeleppel van ellátva, amely a felfújó fecskendő eltávolításakor önmagától záródik. A mandzsetta megakadályozza a nyál, vér, gyomortartalom stb. lecsorgását a tubus mellett a tüdőbe, lehetővé teszi a mélyebb légutak rendszeres leszívását és biztosítja a levegővesztés nélküli lélegeztetést. A mandzsetta légtartó állapotáról a kontroll ballon feszessége tájékoztat bennünket.

5. A vena femoralis preparálásának műtéti technikája

A feladat elvégzéséhez szükséges eszközök: buci, a magfogó, steril gumikesztyű, szike, horgas és anatómiai csipesz, Mayo-olló (gömbített pengéjű tompa hegyű olló), Pean-érfogó - melyet gyakran moszkitónak is nevezzünk -, varróanyag, fonalak, a varrathoz tűk és a tűfogó.

A pulzáló artéria femoralis általában jól látható-tapintható a bőrön át is az inguinális árokban, esetenként a tőle mediálisan húrként feszülő vena femoralis is kitapintható.

- A beavatkozás során aszeptikus technikát alkalmazunk. A műtéti területet szőrtelenítés után lemossuk és steril lepedővel izoláljuk.
- Az operatőr kezének mutató és hüvelyk ujjával rögzíti és kifeszíti a bőrfelszínt.
- Hosszanti bőrmetszést hajtunk végre, amely követi az ér vonalának lefutását. A bőrt egyenes vonalban, egyetlen, egyenletes mélységű metszést alkalmazva kell átvágni.
- Alkalmazzuk a vérzéscsillapítás megfelelő gyakorlatát.
- Véna diszekció: Miközben az operatőr és az első asszisztens egy-egy horgas csipesszel megragadja és felemeli, széthúzza a szubkutis felszíni rétegét (a sebszéleket), a szubkután kötőszöveteket tompa és éles diszekciót/preparálást alkalmazva Mayo ollóval szétválasztjuk.
- Ollóval kis bemetszést ejtünk a kötőszövetben a két csipesz között. A zárt pengéjű ollót bevezetjük a seb nyílásába majd óvatosan szétnyitjuk. A pengék tompa külső szélei szétválasztják a szövet rétegeit (tompá szövet szétválasztás, preparálás). A nyitott ollót kivesszük a sebből, majd követve a diszekció vonalát, átvágjuk a szövetet az ollóval mindkét irányba a sebzugok eléréséig.
- A folyamat ismétlésével, lépésről lépésre szeparáljuk a mélyebb szövetrétegeket. A preparálást mindig az ér lefutásával paralel végezzük. A főleges sérülés elkerülése érdekében a horgas csipeszt anatómiai csipeszre cseréljük az érfal közelében és csak tompa diszekciót alkalmazunk a véna szeparálására a környező kötőszövetektől.
- Egy hosszú, #40 len fonalat a közepén mosquito pean-nal megfogunk (dupla fonal) és a véna alá helyezve mindkét szárát áthúzzuk.
- A fonalat elengedjük, majd kettévágjuk, az egyik szálat disztális, a másikat proximális irányba húzzuk. A disztális fonallal az éret az operatőr határozottan leköti.
- A proximális fonatra laza lengőcsomó kerül az asszisztens révén, majd a két ligatura között a vénát kifeszítjük.
- Az asszisztens fogász csipesszel megragadja, összezárja az érfalat a disztális lekötéshez közel (kb. 5 mm-re).

- Éles érollót alkalmazva az operatőr V-formájú bemetszést ejt a véna falába. A bemetszés a lumen egyharmadára terjed ki.
- A fogász csipeszt az asszisztens a bevezeti a lumen nyílásába, ezáltal feltárja a véna lumenét.
- A fogász csipesz két pofája között az operatőr bevezeti a kanült az ér lumenébe, miközben eltávolítja a fogász csipeszt.
- A kanült a laza proximális lengőcsomó mögé vezetjük, majd a lengőcsomót óvatosan meghúzzuk. Ezután a katétert óvatosan tovább toljuk az érlumenbe. Ha ellenállást érzékelünk, akkor vissza kell húzni, majd ismét előre vezetni, mialatt oldalirányban mozgatva próbáljuk megtalálni a megfelelő átjárhatóságot.
- A kanül bevezetését követően a laza lengőcsomót megkötjük és egy második fél csomóval rögzítjük. A folyamatot úgy kell elvégeznünk, hogy ne zárjuk el az ér lumenét.
- Végezetül a kanült a disztális ligatura fonalával is rögzítjük, majd a fonalakat rövidre vágjuk.
- A beavatkozás végeztével ellenőrizni kell, hogy a kanül funkcionál-e, azaz a vérvétel és folyadék injektálása akadály nélkül kivitelezhető-e. Ennek megfelelően, először fecskendővel néhány ml vért leszívunk, majd fiziológiás só oldattal öblítjük a kanült. Levegő vénás rendszerbe jutásának elkerülése érdekében ez utóbbi két lépés *nem cserélhető fel*.
- Sebzés: Standard sebzárást alkalmazunk két rétegben. Először a szubkután réteget öltjük össze egyszerű megszakított öltésekkel, #60 vagy #80-as lencérnát és félköríves vágótűt használva. A bőrt Donati típusú öltésekkel zárjuk #40-es lenfonal és 3/8-os vágó tű alkalmazásával. Végezetül a sebet dezinficiáljuk és kötéssel fedjük.

6. A vena jugularis externa kanülálása

A vena jugularis kanülálásához a szőrzetet eltávolítjuk, a bőrt dezinficiáljuk. Ezután enyhén leszorítjuk a nyakat a tervezett metszés területe felett. Már kis pangás hatására is jól látható a telt jugularis véna, de az ér műfogás nélkül is jól tapintható a fossza jugularisban. Balkezünk hüvelyk és mutatóujja között fixáljuk a bőrt, amely ezen a területen könnyen elmozdulhat. A kanülálás technikája teljesen azonos az előzőekben mondottakkal, de itt a vénát nem kíséri artéria. Nagyon fontos szabály: különös figyelmet kell fordítani a légembólia veszélyére. Erre különösen a szubkután réteg preparálása során kell vigyáznunk. A vénásan

bejutó kis mennyiségű levegő általában nem okoz súlyos tüneteket, de ezen a területen - rövid idő alatt is - olyan nagymennyiségű levegő kerülhet a keringésbe, amely már halálos is lehet.

7. Az invazív vérnyomás mérés alapelvei

Alapeszköze az ér lumenébe vezetett cső (intra-vaszkuláris kanül, ill. katéter), amely a vénás vagy artériás nyomást, mint mechanikus energiát, egy hajlékony, de viszonylag merev falú csövön át az energia átalakítóhoz (transducer) közvetíti. A kanül végén a csőben levő folyadékoszlop (sóoldat) közvetlenül érintkezik az érben áramló véroszloppal (a Pascal törvény alapján a nyomás gyengítetlenül terjed tovább a folyadékban). Ily módon a vérnyomás jel a kanül belsejében lévő folyadékoszlop közvetítésével érintkezik a testen kívül elhelyezett szenzor membránjával, ami nyomás jelet elektromos jellé alakítja.

A vérkeringés egyes szakaszaiba invazív úton vezetett kanüloket folyamatosan kell heparinizált sóoldattal öblíteni. A katéterbe bejutott vért, ill. a katéterben keletkező buborékokat el kell távolítani, ez utóbbiak jelentősen befolyásolják az eszközök működését. A pontos nyomásmérés feltétele a légtelen, minél merevebb és rövidebb kanül. A rendszer „0” pontját minden összeállítás elején, és a későbbiekben is ismételten meg kell határozni.

7.1. Vénás nyomásmérés

Vénás katéter bevezetésére általában a v. jugularis externa, vagy a v. femoralis a legalkalmasabb terület. A vénás kanül lehetővé teszi a fenntartó anesztetikum, vizsgálandó drogok és az infúzió beadását, valamint vérminta vételt. A megfelelően pozicionált v. juguláris katéter a centrális vénás nyomás, a jobb szívfél töltő nyomásának mérését teszi lehetővé, amelyből a keringő vérvolumenre lehet következtetni.

7.1 Artériás nyomás mérés

Az *in vivo* állatkísérletekben közvetlen artériás nyomásmérésre általában a femoralis vagy a carotis artériák kanülálása révén kerül sor. Az artériás katéter a vérnyomás közvetlen mérését, vérgáz méréseket, folyamatos hemodinamikai információt szolgáltat. Az adekvát szervperfúzió fenntartása szempontjából kiemelkedő jelentőségű az átlagos artériás vérnyomás megfelelő szinten való tartása. A pulzáló nyomás jelből annak szisztolés és diasztolés értéke, középnyomása és a percenkénti pulzushullám számából pedig a szívfrekvencia határozható meg. A pulzusnyomás (szisztolés-diasztolés nyomás különbség) jelzi a volumen státuszt. Magas pulzusnyomás: vazodilatációra, hipervolémiára, az alacsony pulzusnyomás vazokonstrikcióra, hipovolémiára utalhat. Az artériás nyomás mérés lépései:

1. Artéria kanülálása
2. Csatlakozás a mérőrendszerhez, buborékmentesség biztosítása;
3. A kanül biztonságos rögzítése
4. A transducer nulla pontjának beállítása és rögzítése a szív szintjében;
5. Heparin (1-2 egység /ml) alkalmazása a kanül öblítésére, véralvadásgátlás;
6. A mérés kezdete.

ANESZTÉZIA ÉS ALAPVETŐ BEAVATKOZÁSOK VIETNÁMI TÖRPESERTÉSEN

Dr. Kaszaki József, SZTE ÁOK Sebészeti Műtéttani Intézet

1. A sertés előkészítése az altatáshoz:

Minimum 12 órás éhezés javasolt szabad vízfogyasztás mellett (a táplálék megvonást előző nap délutánjától célszerű alkalmazni).

A sertést rácsos kereken guruló, mobilis ketrecbe helyezzük az altatáshoz. Nagyobb testű malacok esetében ez terelgetéssel történhet, míg kisebb malacokat a hátsó lábuknál megragadunk, majd felemelve, felülről helyezzük az állatot az altató ketrecbe.

A malac altatása nyugtató hatású premedikációval kezdődik, amelyet intramuscularis (im) injekció formájában adunk be a hátoldalon, a lapocka-gerinc-felső nyakizom közötti mélyedésbe. Itt a bőralatti zsírréteg (szalonna) viszonylag vékony, az izomzat jó vérellátású, a beadott szer gyorsan felszívódik. Premedikáció céljára acepromazin hatóanyagú Vetranquil és atropin keveréket használunk (acepromazin 1 mg/kg; atropin 0,05 mg/kg), amelyek hatása kb 15-20 perc alatt alakul ki. Az előbbi nyugtató hatású, míg az utóbbi a vegetatív funkciók, a nyálképződés, hányás csillapítására szolgál.

2. A sertés altatása

Az altatás a premedikációt követő 15-20 perc múlva kezdhető, im adott ketamin (20 mg/kg) - xylazin (2 mg/kg) injekcióval, amely beadása a fentebb említett régióba történik. A hatás 4-6 perc alatt alakul ki, azután kiemelhetjük az állatot a ketrecből és műtőasztalra helyezzük a további beavatkozásokhoz. A ketamin-xylazin kombináció hatása maximum 20-30 perc, ez idő alatt szükséges, hogy perifériás vénát biztosítsunk az altatás további fenntartásához. Ennek legegyszerűbb módja a fül véna szúrása 12 G Braunül (kanül+tű) alkalmazásával. Bonyolultabb esetben, ha nincs megfelelő fül véna, vagy a fül felszíni véna szúrása sikertelen, sebészi úton kell vénát biztosítanunk a *v. jugularis externa* preparálásával (lásd később).

A fül felszínét óvatosan leborotváljuk, antiszeptikus törlést alkalmazunk. A tervezett szúrás helyétől proximálisan leszorítást alkalmazunk. A fül véna lokalizációját követően, a 12 G-s Braunül-t a bőrfelszínhez képest 30-45°-os szögben tartva, megsúrjuk a vénát, közben megszüntetjük a proximális leszorítást. A punkció után lassan visszahúzzuk a tűt, így a vér megjelenését észleljük a kanülben. A kanült tovább toljuk a vénába és ezzel párhuzamosan eltávolítjuk a tűt. Csatlakoztatjuk a fenntartó altatószert tartalmazó csővezetékét és fecskendőt a Braunül-höz. A további altatás infúziós pumpával iv adagolt propofollal (8-12 mg/kg/óra)

történik. A propofol túladagolása légzés depressziót és bradikardiát okoz, ezért a további szükséges lépés a légút biztosítás.

3. Légút biztosítása sertésen

A légutak szabadon tartásához különböző méretű endotracheális tubusokat alkalmazunk. Az endotracheális intubálás sertésen kizárólag laringoszkóp (lehetőleg hosszú, egyenes, ún. Miller-féle lapoccal) segítségével végezhető el: hanyatt fekvő helyzetben, az alsó-felső álkapcsok szétfeszítése és a nyelv előrehúzása mellett vezetjük be a lapocot, amely végével megemelhetjük a gégefödőt. Ekkor jól láthatóvá válik a trachea bemenet és a hangrés. Az endotracheális tubus végét lidocain spray-vel lefűjjük, ezáltal a laringospazmust gátolhatjuk. A tubust bevezetjük a hangrésig, majd kilégzéskor, a hangrés nyitásakor előre toljuk a tracheába. Ezután fokozatos 180 fokos elfordítást alkalmazva toljuk tovább (a sertés gégéjének speciális anatómiai viszonyai miatt van erre szükség). Az intubálás mélységét a tubus jelzésén leolvashatjuk. A tubus distalis végének a tracheában a bifurkáció felett 1–3 cm-nyire kell lennie ahhoz, hogy mindkét tüdő egyenletesen vegyen részt a légzésben. A tubus megfelelő helyzetét ellenőrizhetjük (a mandzsetta felfújása után) fonendoszkóppal: a mellkas mindkét oldala felett egyforma légzéshangokat kell hallanunk. Amennyiben az egyik oldalon (leggyakrabban ez a jobb oldal) hiányzik, akkor a tubus visszahúzásával korrigálhatjuk a helyzetét. A tubus disztális végén található mandzsetta felfújásával rögzíthetjük a tubust a tracheában. A mandzsetta kontroll ballonja automata szeleppel van ellátva, amely a felfújó fecskendő eltávolításakor önmagától záródik. A mandzsetta megakadályozza a nyál, vér, gyomortartalom stb. lecsorgását a tubus mellett a tüdőbe, lehetővé teszi a mélyebb légutak rendszeres leszívását és biztosítja a levegővesztés nélküli lélegeztetést. A mandzsetta légtartó állapotáról a kontroll ballon feszessége tájékoztat bennünket. Az intubálás végén a tubust a felső állkapocs köré kötött szalag segítségével rögzítjük.

4. Mesterséges lélegeztetés

Az altatott sertés normál légzését, testalkatánál fogva, jelentős mértékben befolyásolja a test helyzete. Hasi vagy bal oldali fektetés akadályozza legkevésbé a légzést, a háton fekvés kedvezőtlen. Ezért ajánlatos az altatott, intubált sertést mesterségesen lélegeztetni, különösen 1 óránál hosszabb időtartamú vizsgálatok esetén.

5. A légzés-keringés nem-invazív monitorozása kapnográfia és pulzoximetria alkalmazásával

A sertés biztonságos hosszabb távú altatásához szükséges lehet a légzési gázok, a kilégzett CO₂ és az oxigén szaturáció nem invazív monitorozása kapnográfia és pulzus oximetria alkalmazásával. Mindkét módszer a Beer-Lambert törvényen alapul, ami lineáris összefüggést bizonyít a fényelnyelés és az elnyelő anyag között. *Kapnográfia* esetén minél magasabb a közeg CO₂ koncentrációja, annál nagyobb lesz a fényelnyelés. A CO₂ abszorpció maximuma 425 nm hullámhosszon van. Kapnográfiaival a kilégzett endotracheális CO₂ (ETCO₂) értékének mérése és a változás kijelzése (CO₂ koncentráció hullámforma megjelenítése) történik, a módszert alkalmazó eszköz neve: *kapnográf*. A módszerrel egyértelműen igazolni lehet az endotrachealis tubus megfelelő pozícióját és alkalmas a légzés monitorozására, a légzés szám megállapítására. Az altatott sertés normál ETCO₂ értéke 30-40 Hgmm között van, természetes légzés száma normál (hason fekvő) testhelyzetben 30-40. Felszínes altatás hatására értéke csökken, a mély narkózis, légzési zavarok (pl. bronchospasmus) és keringési elégtelenség hatására fokozódik.

A *pulzus oximetria (pulzoximetria)* folyamatos, nem invazív módszer az artériás oxigén szaturáció és a szívfrekvencia mérésére. A vér oxigénnel való telítettsége (szaturációja) kiszámítható az oxigenizált hemoglobin és az össz-hemoglobin arányából. A vért adott hullámhosszúságú fénnel megvilágítva a visszavert (áthaladó) fény intenzitásából következtetni lehet az oxigénszintre. Az artériás pulzus által hozzáadott többlet – variábilis - fényelnyelést alkalmazzák az artériás oxigén szaturáció kiszámítására. Sertés esetén a szenzort az állat nyelvére, vagy felső ajkára helyezve mérhetjük az oxigén szaturációt és a szívfrekvenciát. A normál oxigén szaturáció értéke 95-100%, míg az altatott sertés szívfrekvenciája 70-100 ütés/perc.

6. Beavatkozások és invazív keringés monitorozás sertésen

1. Vena jugularis kanulálás
2. Centrális vénás nyomás (CVP) mérés
3. Az arteria femoralis kanulálása
4. Arteriás vérnyomás mérés
5. Az arteria carotis preparálása
6. Perctérfogat mérés termodilúciós módszerrel

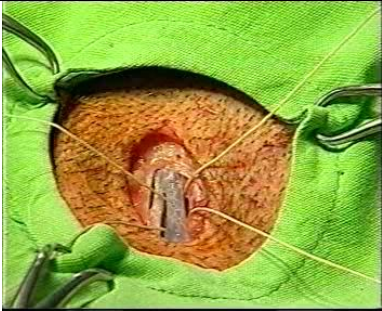
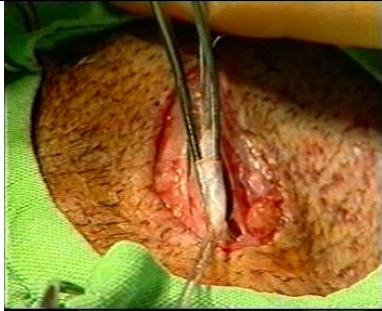
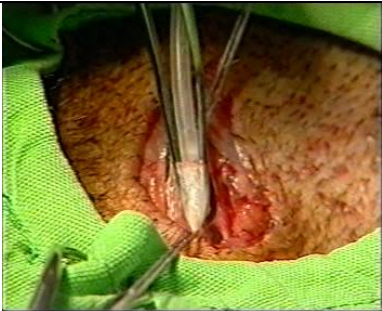
6.1. Vena jugularis preparálásának és kanulálásának műtéti technikája

A műtéti terület a háton fekvő sertés nyaki és a felső végtag izomkötegek közötti mélyedés. A beavatkozás során aszeptikus technikát alkalmazunk. A műtéti területet szőrtelenítés után lemossuk és steril lepedővel izoláljuk. A szükséges sebészi műszerek a

következők: szike, diatermiás kés, Mayo olló, Péan érfogó (mosquito), diszektor, fogász csipesz, fonalak, tűk és tűfogók.

- Feszítsük meg a bőr felszínét a tervezett metszés mindkét oldalán.
- Végezzünk 5-7 cm hosszú bőrmetszést a véna lefutásával párhuzamosan hasas szikével (1. ábra).
- A szubkután szöveteket görbített pengéjű Mayo ollóval tompán, vagy diatermiás késsel válasszuk szét.
- Ha szükséges, alkalmazzunk vérzéscsillapítást.
- A nyaki és a felső végtag izomkötegek tompa szétválasztása után, kb. 2 cm mélyen találjuk a jugularis vénát.
- A zárt pengéjű olló hegyét illesszük szorosan a véna mellé és szabadítsuk ki a környező kötőszövetből gondos tompa preparálással (2. ábra).
- Amikor a 2-3 cm-es érszakasz szabaddá válik, vezessünk dupla fonalat az ér alá érfogó vagy diszektor alkalmazásával, majd a fonalat két részre vágjuk (proximális, disztális fonal) (3-4. ábra).
- Lengőcsomót (laza fél hurkot) készítünk a véna proximális és disztális fonálára egyaránt.
- Megnyitjuk az ér lumenét érolló alkalmazásával (5. ábra).
- Feltárjuk a véna lumenét fogász csipesz bevezetésével (6. ábra).
- Vezessünk fiziológiás só oldattal feltöltött, zárt 3-ágú csappal ellátott centrális vénás katétert a véna lumenébe a fogász csipesz pengéi között, majd a fogász csipeszt eltávolítjuk, a kanült kb. 8-12 cm hosszan centrális irányba toljuk (7. ábra).
- Rögzítjük a katétert mindkét fél csomó (proximális, disztális) meghúzásával és a második csomóval is (8. ábra).
- Zárjuk a sebet két rétegben (ha szükséges).

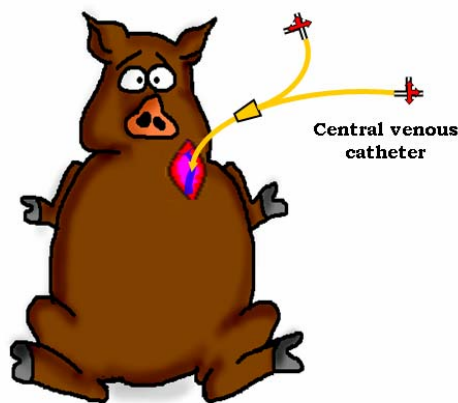
1. ábra Bőrmetszés	2. ábra Tompa preparálás	3. ábra Dupla fonalat vezetünk az ér alá

		
4. ábra A fonal ketté osztása	5. ábra Az érlumen megnyitása érollóval	6. ábra A lumen feltárása fogász csipesszel
		
7. ábra A katéter bevezetése	8. ábra A katéter rögzítése	

6.2. A centrális vénás nyomás (CVP) mérése

A következő eszközök-műszerek szükségesek: nyomás érzékelő jelátalakító (transducer), összekötő cső (a CVP katéter és a nyomás szenzor között), steril fiziológiás só oldat a katéter öblítéséhez (100 U heparin tartalommal), hemodinamikai monitor.

- Összekötjük a CVP katétert a nyomás szenzorral és feltöltjük sóoldattal buborék mentesen!
- Rögzítjük a transducer magasságát a szív alsó harmadának szintjében.
- A hemodinamikai mérőrendszer számára a transducer zero szintjét a 3-ágú csap "levegő" irányba nyitásával beállítjuk.
- A hemodinamikai mérőrendszert a nyomás méréséhez.
- A 3-ágú csapot a CVP katéter irányába nyitjuk (zárjuk a levegő felé) és a hemodinamikai monitoron megjelenítjük a nyomás görbét. A CVP normál értéke 4-8 Hgmm.



9. ábra A CVP kathéter pozíciója a bal oldali vena jugularisban.

6.3. Az arteria femoralis kanülálása

A műtési terület az ingvinális régió. A területet a korábban tanultak szerint lemoszuk és izoláljuk. A következő sebészeti műszerek szükségesek: szike, diatermiás kés, Mayo olló, Péan érfogó (mosquito), diszektor, sima kampó, fogász csipesz, fonalak, tűk és tűfogók, termisztoros nyomás érzékelő katéter.

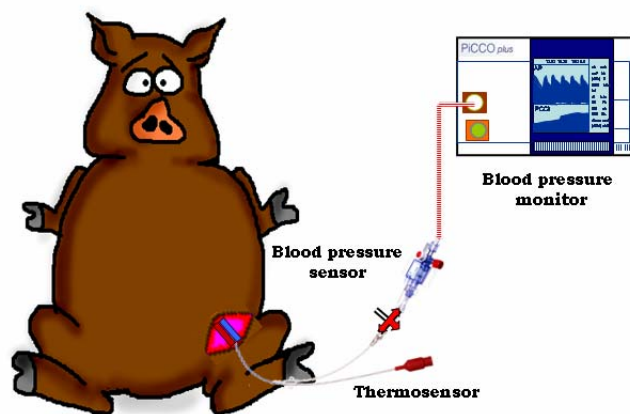
Megjegyzés: Ez a beavatkozás csak akut kísérletben alkalmazható, túlélő állat esetében nem.

- Feszítsük meg a bőr felszínt a tervezett metszés mindkét oldalán.
- Végezzünk 8-12 cm hosszú bőrmetszést hasas szikével merőlegesen az artéria vonalára.
- A szubkután szöveteket görbített pengéjű Mayo ollóval tompán, vagy diatermiás késsel válasszuk szét.
- Ha szükséges, alkalmazzunk vérzéscsillapítást.
- Sima kampót használva tartsuk el a hasfalat, amely részben fedi az artéria területét.
- Lokalizáljuk a femoralis artériát (szorosan fut együtt a femoralis vénával), amely mélyen helyezkedik el az ingvinális régióban.
- A zárt pengéjű olló hegyét illesszük az artéria közelébe és szabadítsuk ki a környező kötőszövetből gondos tompa preparálással.
- Anatómiai csipeszt használjunk a szövetek megragadására.
- Amikor a 1,5-2 cm-es érszakasz szabadabbá válik, vezessünk dupla fonalat az ér alá érfogó vagy diszektor alkalmazásával, majd a fonalat vágjuk két részre (proximális, disztális fonal).
- Kössünk lengőcsomót a proximális fonalra, míg a disztális fonallal lekötjük az artériát.

- Az ér lumenét éles érolló alkalmazásával megnyitjuk.
- Vezessünk fiziológiás só oldattal feltöltött, zárt 3-ágú csappal ellátott katétert az artéria lumenébe. Ha szükséges, tárjuk fel a lument fogász csipesz bevezetésével.
- Rögzítjük a katétert proximális fél csomó meghúzásával és második csomóval is.
- Zárjuk a sebet két rétegben, ha szükséges.

6.4. Artériás nyomásmérés

A következő eszközök-műszerek szükségesek: termisztoros nyomás érzékelő katéter, nyomás érzékelő jelátalakító (transducer), összekötő cső (az artériás katéter és a nyomás szenzor között), steril fiziológiás só oldat a katéter öblítéséhez (100 U heparin tartalommal), hemodinamikai monitor. A mérés lépései megegyeznek a CVP mérésnél leírtakkal. A sertés normál artériás középnyomása 100-130 Hgmm.



10. ábra: A termisztoros nyomás érzékelő katéter pozíciója a bal femoralis artériában.

6.5. Az arteria carotis preparálása

A preparálást a vena juguláris feltárásából folytathatjuk: a már feltárt (kanulált) vena jugularis-tól mediálisan, a trachea – v. juguláris között, a m. sternocleidomastoideus alatt található az arteria carotis.

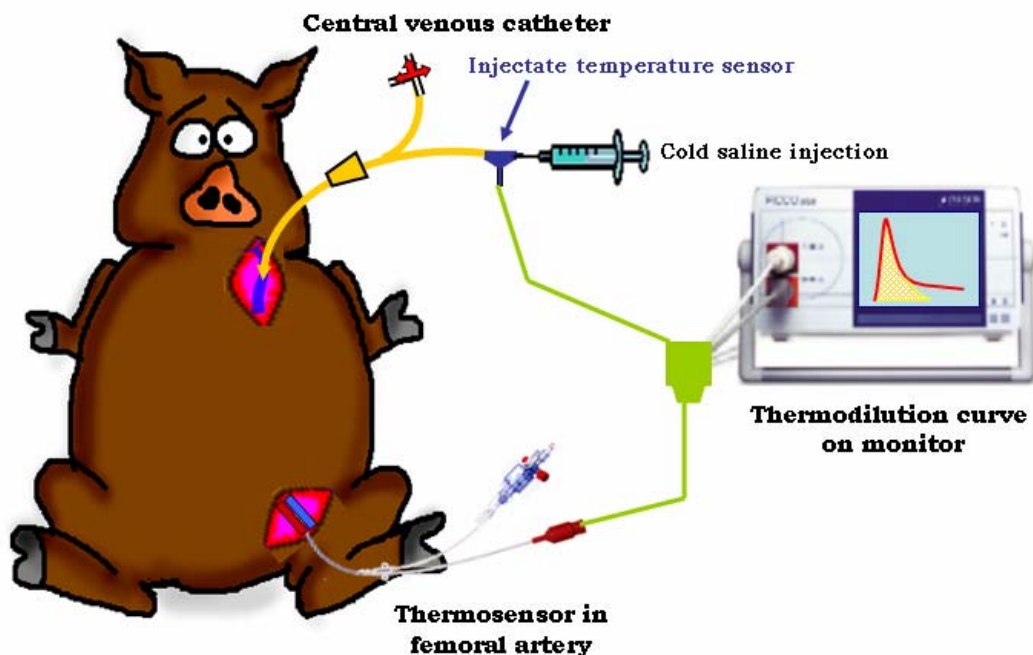
- Kampózzuk el a m. sternocleidomastoideus-t, amely fedi a carotis artéria területét.
- Lokalizáljuk a pulzáló carotis artériát (amely együtt fut a nervus vagus-sal).
- A zárt pengéjű olló hegyét illesszük az artéria közelébe és szabadítsuk ki a környező szövetből gondos tompa preparálással, illetve válasszuk le vagus idegtől.
- Használjunk anatómiai csipeszt a szövetek megragadására.

- Amikor az artéria 2-3 cm-es szakasza szabaddá válik, fonalat vezethetünk az artéria alá. Kanulálását a fentiek szerint végezhetjük.

6.6. Perctérfogat mérés transzpulmonális termodilúciós módszerrel

A következő eszközök-műszerek szükségesek: termisztoros nyomás érzékelő katéter az arteria femoralisban, nyomás érzékelő jelátalakító (transducer), CVP katéter a v. jugularisban, összekötő cső (az artériás katéter és a nyomás szenzor között), összekötő termisztor kábelek, steril fiziológiás só oldat a katéterek öblítéséhez (100 U heparin tartalommal), hideg (5-8 °C-os fiziológiás sóoldat a termodilúciós méréshez, 10 ml-es fecskendő, hemodinamikai monitor.

- Kapcsoljuk be a perctérfogat monitort és az összekötő kábelekkel kössük össze a vénás és artériás katétereket a monitorral.
- Injektáljunk ismert mennyiségű (10 ml) hideg sóoldatot egyenletes sebességgel a CVP katéterbe. Az oldat hőmérséklete legalább 10°C-al legyen alacsonyabb, mint a vér hőmérséklet.
- A centrális vénába injektált hőbólus áthaladását a femoralis artériában lévő termisztoros katéter fogja érzékelni.
- A monitor a vér hőmérséklet változásából termodilúciós görbét rajzol.
- A termodilúciós görbe területének integrálásával a komputer kiszámítja a perctérfogatot.



11. ábra A transzpulmonális perctérfogat mérés elrendezése

SEBÉSZETI BEAVATKOZÁSOK

Varga Gabriella SZTE ÁOK, Sebészeti Műtéttani Intézet

A gyakorlat célja: alapvető sebészi beavatkozások tanulmányozása kisemlősön (patkány).

Beavatkozások:

Trachea kanülálás

Véna kanülálás

Artéria kanülálás

A szükséges eszközök:

altatott patkány,

fűtőpárna, finom anatómiás csipesz, moszkító peán, 2 db szemészcsipesz,

éröllő, klipp, tracheakanül, vénáskanül, artériáskanül, csapok, fonal, fiziológiás

sóoldat, heparin

A gyakorlat menete:

1. Az eszközök előkészítése:

szükséges eszközök kikészítése,

kanülök csappal való felszerelése, heparinos fiziológiás sóoldattal való feltöltése

2. A patkányok altatása:

súlymérés

ip. 45 mg/kg Na-pentobarbitállal

altatás után a nyak megborotválása

3. Preparálás:

a./ Trachea preparálása:

Ollóval hosszanti bőrmetszést ejtünk a nyakon. A nyálmirigyeket, majd a hosszanti nyakizomrostokat közepén tompán szétválaszjuk. Kipreparáljuk a tracheát és vékony fonalat vezetünk alá. A tracheát megnyitjuk ollóval, majd behelyezzük a tracheakanült.

b./ Vena jugularis preparálása:

Felkeressük a v. jugularist, körbepreparáljuk finom szemészcsipesszel, apró mozdulatokkal. Vékony fonalat vezetünk alá, majd az eret proximálisan megnyitjuk és behelyezzük a vénás kanült, a fonallal rögzítjük.

c./ Artéria carotis preparálása:

Felkeressük a n. vagusszal közös tokban futó a. carotist. A vagusokat óvatosan leválasztjuk az artériáról, két fonalat vezetünk alá. Az egyik fonallal lekötjük disztálisan az artériát, majd proximálisan klippet helyezünk rá. Ollóval disztálisan megnyitjuk az artériát, behelyezzük a kanült, majd a fonallal rögzítjük.

4. Méréstechnika:

Nyomásjel mérése és regisztrálása (BPR-02 transducer; Experimetria Ltd)

Artériás vérminta analizálása vérgázmérővel (AVL Compact 2, Graz, Austria).

MIKROSEBÉSZETI ÉS MIKROKERINGÉSI TECHNIKÁK

Dr. Szabó Andrea, Dr. Hartmann Petra

Feladatok:

1. Az operációs mikroszkóp beállítása

Helyes kivitelezés: A mikroszkóp beállítása fókusz, interpupilláris távolság és különböző nagyítások vonatkozásában.

A gyakorlat hasznossága: A mélységélesség problematikájának a felismerése. A különböző nagyítások és a látótér méretének kapcsolata.

2. Gézlap szálainak ki- és visszafűzése operációs mikroszkóp alatt

Helyes kivitelezés: a fenti feladat kivitelezése mindkét kéz azonos mértékű használata mellett.

A gyakorlat hasznossága: A nagyításból eredő mozgás sebesség problematikájának a felismerése, azaz a hallgató lelassulva lesz képes optimális mozgás koordinációra. A mikrosebészeti eszközök csak a hegyüknél használhatók.

3. Két eszközzel megvalósítható csomózási technikák begyakorlása mikroszkópos nagyítás nélkül

Helyes kivitelezés: a kétkezes eszközös csomózási technika hagyományos sebészeti eszközökkel való megvalósítása

KÉP

A gyakorlat hasznossága: A vízszintes és függőleges öltést követő csomózás közötti különbség megismerése. A szabályos mikrosebészeti csomó kivitelezésének feltételei (a hurkolás helyes iránya, a kezek váltása és csak a hosszú fonalnak a húzása).

4. Öltés és csomózás gumilapon

Helyes kivitelezés: a tű megragadása közepén, az öltés mélységének és csomózásnál a hurok optimális nagyságának elsajátítása optikai nagyítás alatt. A nagyítások váltása az öltés és csomózás között.

A gyakorlat hasznossága: A mikrosebészeti méretű tűk és fonalak megismerése, időben gazdaságos mozdulatok elsajátítása és begyakorlása.

5. End-to-end és end-to-side anastomosis technikák gumicsövön

Helyes kivitelezés: a felező technikának megfelelő öltésirányok elsajátítása és a csomózás gyakorlása

A gyakorlat hasznossága: Anastomosis technikák elvének elsajátítása és a három dimenzióban történő munka begyakorlása.

Mikrokeringési alapok

Feladatok:

6. Célszervek kipreparálása az intravitális mikroszkópiához

Kivitelezés: Trachea, a. carotis és v. jugularis preparálása, kanülálása. Szervek: máj, csonthártya, here, bél kipreparálása

A gyakorlat hasznossága: Az epi-illumináció jellegzetességei. Szervmozgások és egyéb vizsgálati limitációk felismerése

7. Jelzéstechnikák kivitelezése

Kivitelezés: plazmajelzés, vörösvértest jelzés, leukocyta jelzés

A gyakorlat hasznossága: A mikrovaszkuláris permeabilitás, a mikrokeringési sebesség és a leukocyta-endothelsejt interakciók megismerése

8. Érstrukturák felismerése, az ép mikrokeringés karakterisztikumai

Kivitelezés: az áramlás iránya, az áramlási sebesség különbségek felismerése

A gyakorlat hasznossága: A sebesség mérés fontosságának és a keringési heterogenitás vizsgálatának jelentőségének felismerése.

9. A károsodott mikrokeringés jellegzetességeinek megismerése

Kivitelezés: áramlási sebesség és keringési heterogenitás változásainak, a mikrovaszkuláris permeabilitás és leukocyta-endothelsejt interakciók fokozódásának felismerése

A gyakorlat hasznossága: Fiziológias és patológias jelenségek elkülönítése

10. A mikrokeringési változások számszerű jellemzése

Kivitelezés: mikrovaszkuláris sebesség frame-to-frame analízise, permeabilitás mérés, a leukocyta-endothelsejt méréstechnikája

A gyakorlat hasznossága: A kiértékelés kivitelezésének elsajátítása, a kórállapotok számszerű összehasonlítása

Experimental *ex vivo* heart perfusion models

HuRo-DOCS

Tamas Csont MD PhD

Csaba Csonka MD PhD

Definitions

Ex vivo:

in an artificial environment outside the living organism

Perfusion:

the passage of a fluid through the vessels of a specific organ (e.g. heart, liver, lung, kidney, bowel, vessels, *etc.*)

History - *ex vivo* heart perfusion models 1.

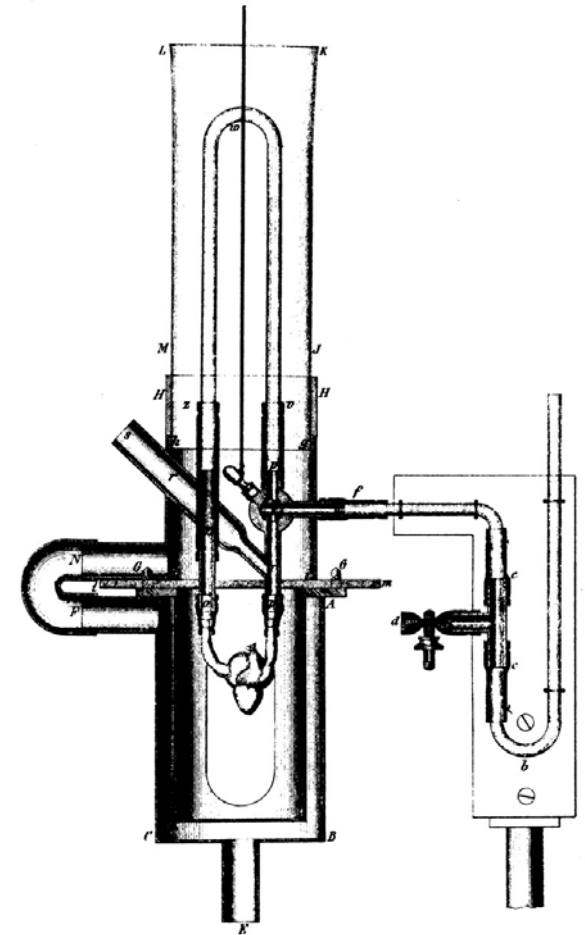
isolated frog heart

Elias Cyon, Carl Ludwig

preparation: temperature controlled
perfused with rabbit serum
recirculating

frog heart : spongy structure
without coronary arteries
one ventricle

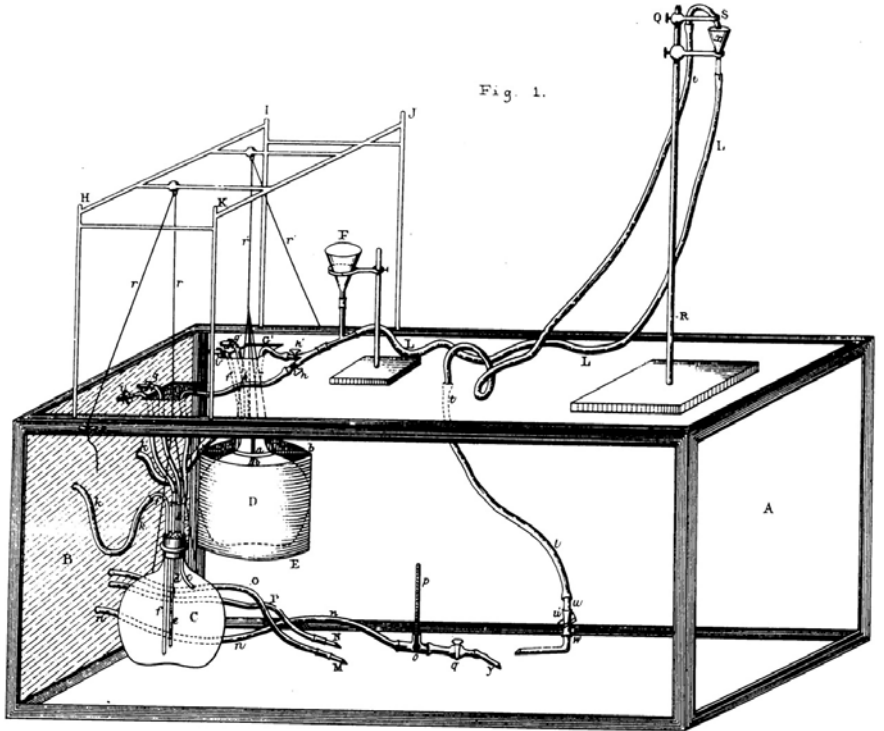
main findings in frog heart:



Excerpt of K.S. Gess d. W. math. phys. (1886).

Lab. Assoc. v. 2.3. Bach. Leipzig

History of *ex vivo* heart perfusion models 2.



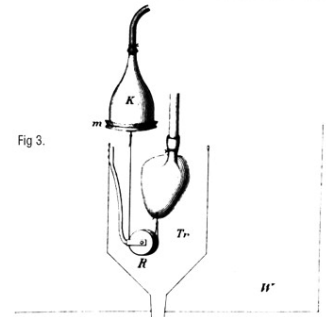
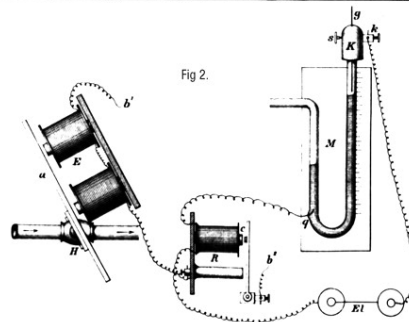
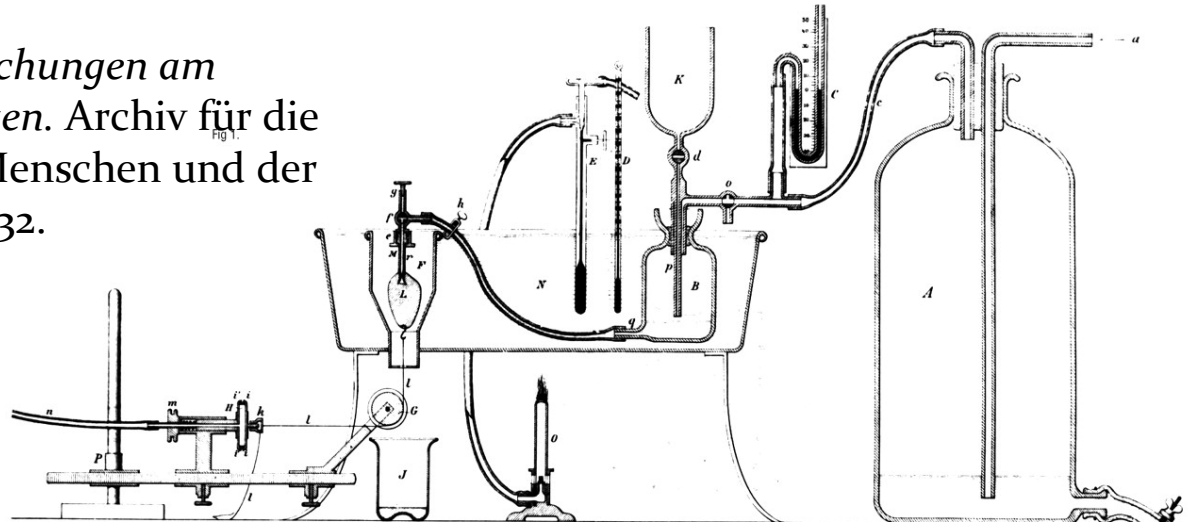
History of ex vivo heart perfusion models 3.

„Langendorff” perfusion

Retrograde perfusion

Oskar Langendorff: *Untersuchungen am überlebenden Säugethierherzen*. Archiv für die gesammte Physiologie des Menschen und der Thiere, Bonn, 1895, 61: 291–332.

1. Constant pressure
2. Constant flow

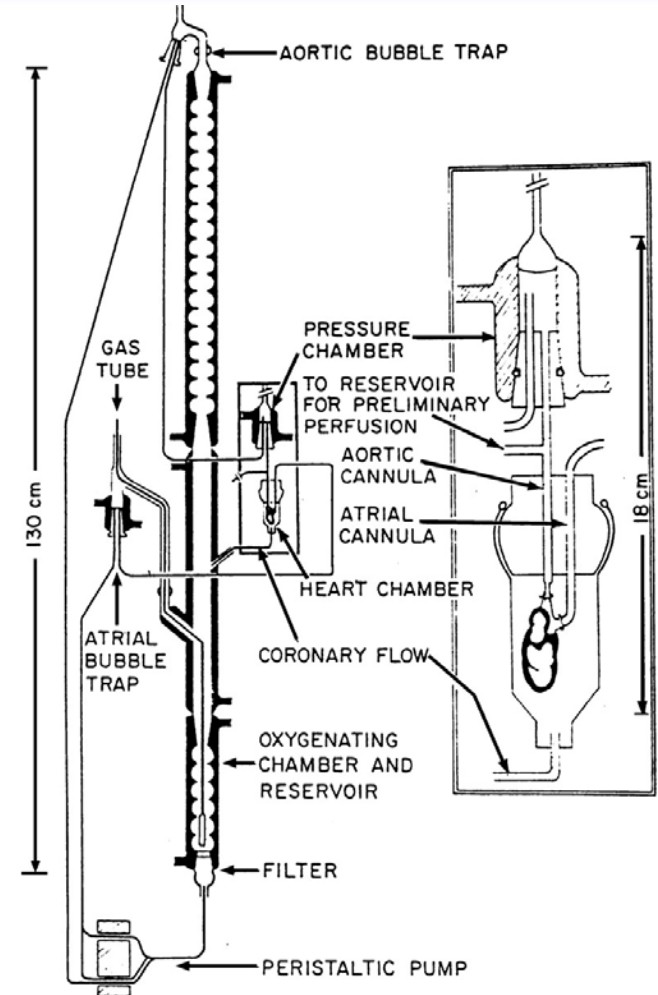


History of ex vivo heart perfusion models 4.

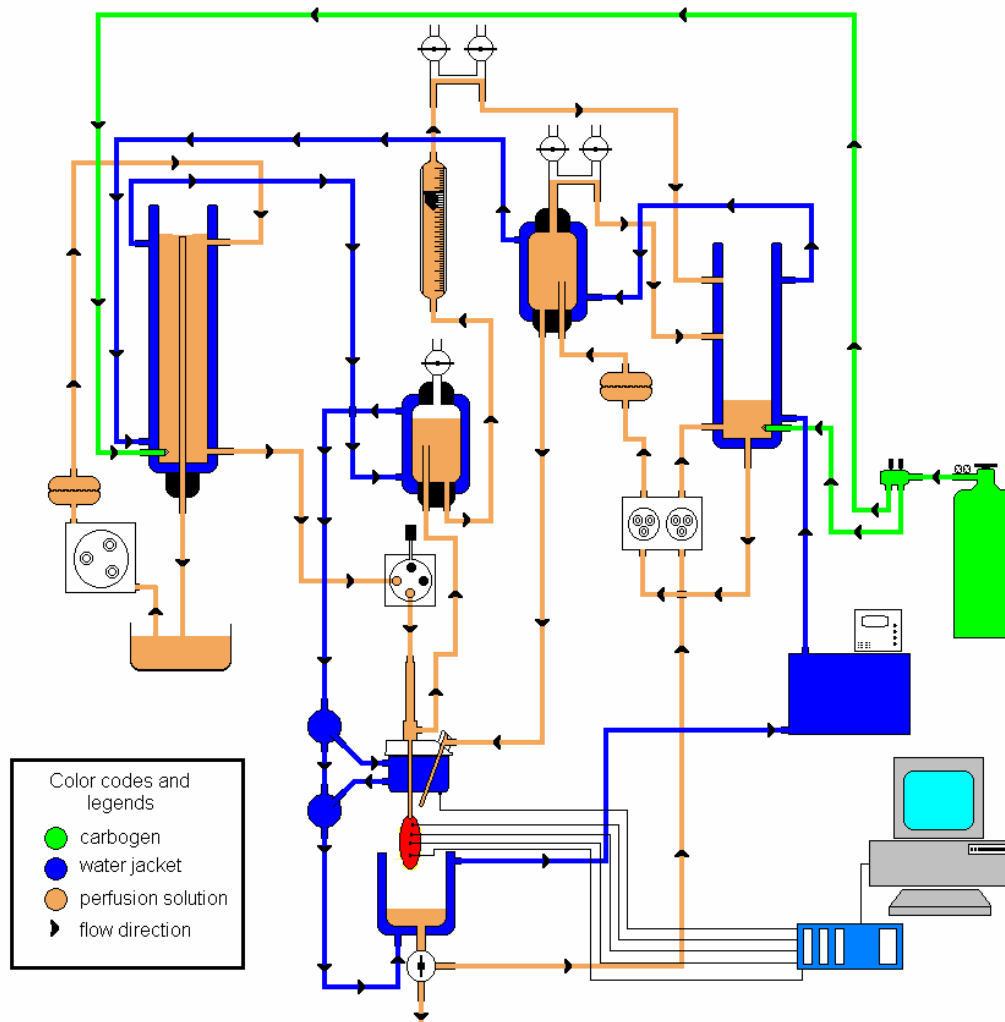
Neely perfusion

„working” perfusion

Neely, J.R.; Liebermeister, H.; Battersby, E.J.; Morgan, H.E. Effect of pressure development on oxygen consumption by isolated rat hearts. Am. J. Physiol. 212: 804-814; 1967.



Ex vivo heart perfusion



Advantages of the ex vivo heart perfusion

- Quick, relatively cheap, and easy to perform technique
- High reproducibility, large number of experiments
- Suitable for screening
- Broad spectrum of biochemical, physiological, morphological and pharmacological studies
- Suitable for investigating cardiac-specific effects
- Controlled environment
- Ischemia/reperfusion
- Allows those experiments to be continued which would lead to termination of an in vivo experiment (*e.g.* infarction-induced loss of pump function, cardiac arrest or arrhythmias)

Disadvantages of ex vivo heart perfusion

- Less physiological than an in vivo model
- Continuous time-dependent deterioration of the preparation
- Only acute experiments (usually less than 3 hours duration)

Basic requirements for ex vivo heart perfusions

- Heart isolated from an experimental animal
- Perfusion equipment
- Perfusion fluid
- Oxygen (carbogen) & oxygenator
- Temperature control
- Surgical tools
- Data acquisition system
- Experienced scientist

Experimental animals used for isolated heart perfusions

- Hearts from any mammalian species are suitable for perfusion
- rats are used predominantly
- mice: transgenic animals!
- rabbit, guinea pig, hamster, gerbil, ferret
- reports on pigs, monkeys, sheep, dogs – size!
- human heart!

Perfusion equipment

Tárolóelemek:

Neely rezervoire
Langendorff rezervoire
Bubble trap and és szélkazan edénye
Left atrial reservoir
Heart suspending chamber

Összekötő elemek:

Flexibilis összekötő elemek
Merev összekötő elemek
Kanülök

Elvárások anyagokkal szemben:

merev és térfogattartó
alaktartó, funkciótól függően hajlékony vagy merev
átlátszó
hőálló
könnyen tisztítható
sav és lúgálló
gyógyszeret, anyagokat ne abszorbáljon
viszonylag olcsó, könnyen cserélhető

Perfusion fluid

- Crystalloid-based perfusion buffer (*e.g.* Krebs-Henseleit buffer, Tyrode's solution, *etc.*)
 - nutrients for energy production (*e.g.* glucose, pyruvate, free fatty acids, *etc.*) with or without insulin
 - Ca^{2+} for contractions
 - buffer system to maintain pH 7.4 ± 0.05 (*e.g.* HCO_3^- , PO_4^{3-})
 - extracellular necessary ionmilieu (Mg^{2+} , K^+ , Na^+ , Cl^-), 300 mOsm
 - oxygen (*see later*)
 - sometimes the fluid is supplemented with proteins or other oncotic agents such as albumin
 - store 2-8 °C for max 3 days
- Blood
 - anticoagulants, source, washing out, oxygenation

Typical composition of a perfusion fluid

Krebs-Henseleit buffer	conc (mM)	M (g/mol)
▪ NaCl	118.5 mM	58.5
▪ NaHCO ₃	25.0 mM	84
▪ KCl	4.7 mM	74.5
▪ MgSO ₄	1.2 mM	
▪ KH ₂ PO ₄	1.2 mM	
▪ glucose	11.0 mM*	180
▪ CaCl ₂	2.5 mM	
▪ EDTA-Na (selecton B ₂)	0.5 mM	372
▪ pyruvate	5.0 mM	110
▪ insulin	100 mU	
▪ albumin (BSA)	0.2 %	

Oxygen control

Cardiac State	MVO ₂ (ml O ₂ min ⁻¹ 100g ⁻¹)
Arrested heart	2
Resting heart rate	8
Heavy exercise	70
Brain	3
Kidney	5
Skin	0.2
Resting muscle	1
Contracting muscle	50

5 ml/l=CF 14 ml/min

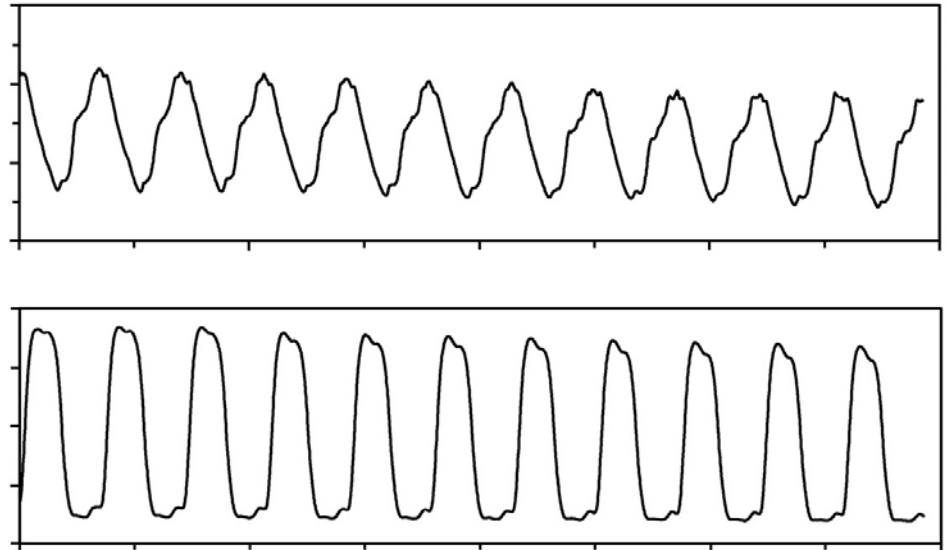
Pressure abs	mm Hg	760	
	psi	14.7	
	bar	1	
	kPa	101.1	
Temperature			
°C	°F	μMol	mg/l
0	32	349	11.2
5	41	308	9.9
10	50	275	8.8
15	59	248	7.9
20	68	225	7.2
25	77	206	6.6
30	86	190	6.1
35	95	176	5.6
40	104	165	5.3

<http://www.colby.edu/chemistry/CH331/O2%20Solubility.html>

30-35 salinity (norm see) 35 g/l (600 mM)

Data acquisition systems

- electric activity (ECG)
- aortic flow AF
- coronary flow CF
- cardiac output CO
- aortic pressure AP
- ventricular pressure



Measurable end-points, parameters

- infarct size
- histology/morphology
- myocardial contractile function
- áramlás
- ventricular pressure and its derivatives
- ventricular volumen and its derivatives
- electrophysiology and arrhythmias
- coronary flow
- tissue and perfusate samples for various biochemical measurements

KÍSÉRLET UTÁNI TEENDŐK: AZ ÁLLATOK ÉLETÉNEK KIOTÁSA, SZÖVETMINTÁK LEVÉTELE ÉS TÁROLÁSA

Dr. Erős Gábor, SZTE ÁOK Sebészeti Műtéttani Intézet

A kísérlet befejezésekor igen fontos kérdés, hogyan történjen az állatok életének humánus, etikai elveknek megfelelő kioltása. Nagyon fontos szempont, hogy „az állatot a kísérlet után nem szabad életben hagyni, ha fájdalmat és nélkülözést szenvedhetett, és életben maradása nem szükséges a kísérlet céljainak eléréséhez.”

Az extermináció technikája feleljen meg a következő kritériumoknak:

- A halálnak szenvedésmentesen kell bekövetkeznie
- Az eutanázia a vizsgálat eredményét ne változtassa meg
- Legyen megbízható
- Legyen gazdaságos
- Legyen könnyen kivitelezhető

Az eutanázia bizonyos módszereinél szükséges, hogy a végrehajtó megfelelő gyakorlattal rendelkezzen!

Az állatok életének kioltásához használt módszereket két csoportba oszthatjuk: farmakokémiai eljárások és mechanikai-fizikai módszerek.

Farmakokémiai eljárások:

- Altatógázok túladagolása (pl. halotán, izoflurán)
- Szén-dioxid belélegeztetés (ez fulladásérzetet okozhat tudatuknál lévő állatokon, ezért előnyös CO₂ és O₂ kombinálása 6:4 arányban, majd az öntudat elvesztése után a CO₂ koncentrációt 100%-ra emelni)
- Altatószerek i.v. vagy i.p. túladagolása (pl. pentobarbitál)

Mechanikai-fizikai módszerek:

- Lefejezés (ollóval vagy nyaktilóval, kisebb állatok esetén)

- A nyakcsigolyák kiízesítése (Az eljárás lényege a nyúltvelő megszakítása. Gyors és gyakorlott végrehajtás esetén fájdalommentes módszer. Nagyobb állatnál nem akceptálható!)
- Szögbelövés
- Elvéreztetés (Ezen módszerek előtt nyugtatás vagy altatás alkalmazása ajánlott)

A módszer megválasztása:

- Rágcsálók esetén a legelfogadottabb az általános érzéstelenítőszeres túlادagolása
- Elfogadható még az altatógázok és a CO₂ alkalmazása is, azonban a CO₂ és más belélegzéses anyagok tüdőödémát okozhatnak
- A CO₂ belélegeztetés elvileg bármely faj részére alkalmas módszer, a gyakorlatban azonban 500g alatti rágcsálókra és emlősökre korlátozódik a használata
- A nyakcsigolyák kiízesítése 100g alatti rágcsálókon, kutya- és macskakölykön, kisebb madáron alkalmazható; a halál megerősítése céljából a diszlokálást elvéreztetés vagy az agyvelő elroncsolása kövesse. A kiízesítés technikája: az állat fejének a törzstől való elhúzása és megcsavarása
- A lefejezés kisebb állatok esetén alkalmazható módszer
- Nagyállatok exterminációjához választható módszerek: altatószerek (pentobarbitál) túlادagolása, altatás utáni elvéreztetés, szögbelövés

FONTOS:

- Mechanikai-fizikai módszerek alkalmazása előtt – ha lehet – nyugtatót vagy érzéstelenítőt kell adni!
- A kísérleti állatok életének kioltását nem szabad a több állat jelenlétében végezni, mert azok élettani mutatói torzulhatnak! Az élettani mutatók torzulását nem csak a látvány, hanem az exterminálás során keletkező hangok és szagok is kiválthatják!

A szövetminták levétele és tárolása:

A szövetminták vizsgálatából nyert adatok döntő jelentőségűek lehetnek a kutatás szempontjából. Ezért nagyon fontos a helyes mintavételi technika és a minták megfelelő tárolása.

A kísérlet végén a szövetmintákat a lehető leggyorsabban távolítsuk el. Ha a tervezett vizsgálat igényli, ügyeljünk a sterilitás szabályainak betartására, illetve az RNáz mentességre (kesztyű viselése, steri/RNáz mentes eszközök használata). A szövetminta tárolásának módját a tervezett vizsgálat határozza meg.

- Ha enzimaktivitás mérését tervezzük, a mintákat célszerű -70°C alatti hőmérsékleten tárolni
- PCR esetén gondolnunk kell arra, hogy a mRNS sérülékeny molekula, nem célszerű a mintákat fagyasztani, mert az RNS károsodhat; érdemes a mintát megfelelő RNS-konzerváló oldatba (pl. RNAlater) helyezni
- A rutin szövettani vizsgálatra szánt mintákat formalinban fixáljuk. A minták ne töltsenek túlságosan hosszú időt a formalinban, mert „túlfixálódhatnak”
- Immunhisztokémia esetén a mintavétel előtt informálódjunk arról, hogy az alkalmazni kívánt antitest milyen metszetekben alkalmazható, és a szövetminta feldolgozása annak megfelelően történjen (formalinos fixálás és paraffinos beágyazás vagy fagyasztott metszetek)