

# Laboratuvar Hayvanlarında İlaç Uygulama Yöntemleri

Mustafa Ermiş<sup>1</sup>

## Özet

Deney sonuçlarını etkilememesi için araştırmacıların deneysel çalışmalar yaptıkları ortamların standardize edilmesi gerekmektedir. Genel sınırlandırılmış havalandırma ve bireysel havalandırma sistemleri, sıcaklık, nem, gürültü, altlık, ses ve ışık gibi çalışma ortamlarındaki çevresel faktörler hayvanların refahında önemli rol oynar ve çalışma sonuçlarının tutarlılığını etkiler. Laboratuvar hayvanları arasında ülkemizde ve dünyada en çok tercih edilenler fare, sıçan ve tavşan'dır. Laboratuvar hayvanlarının barındırıldıkları bakım, beslenme, üretim ve takip odaları koşullarını en ideal hala getirerek araştırma bulgularındaki istenmeyen değişken potansiyeller en aza indirilebilir. Deney hayvan türü için ideal ilaç verilif yolu ilaın miktarı, çözünebilme yeteneği, formu ve ağırlığı dikkate alınarak uygun olan seçilmelidir. Deney hayvanlarında kas içi uygulama fazla tercih edilmez fakat tavşan için en uygun yöntem kas içi uygulamadır. Fare ve rat için en ideal ilaç uygulaması periton iidir. Hayvan türlerine göre laboratuvar hayvanlarından ideal kan alımı toplam kan volümü dikkate alınarak yapılmalıdır. Bu bölüm de; laboratuvar hayvanlarına ilaç verme yöntemleri ile ilgili bilgiler verilecektir.

## GİRİş

Deney sonuçlarını etkilememesi için araştırmacıların deneysel çalışmalar yaptıkları ortamların standardize edilmesi gerekmektedir. Genel sınırlandırılmış havalandırma ve bireysel havalandırma sistemleri, sıcaklık, nem, gürültü, altlık, ses ve ışık gibi çalışma ortamlarındaki çevresel faktörler hayvanların refahında önemli rol oynar ve çalışma sonuçlarının tutarlılığını etkiler. Laboratuvar hayvanları arasında ülkemizde ve dünyada en çok tercih edilenler fare, sıçan ve tavşan'dır. Laboratuvar hayvanlarının barındırıldıkları bakım, beslenme, üretim ve takip odaları koşullarını en ideal hala getirerek araştırma bulgularındaki istenmeyen değişken potansiyeller en aza indirilebilir. Deney hayvan türü için ideal ilaç verilif yolu ilaın miktarı, çözünebilme yeteneği, formu ve ağırlığı dikkate alınarak uygun olan seçilmelidir. Deney hayvanla-

1 Dr. Vet. Hek., Erciyes Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi, mermis@erciyes.edu.tr, Orcid: 0000-0003-2267-1238

rında kas içi uygulama fazla tercih edilmez fakat tavşan için en uygun yöntem kas içi uygulamadır. Fare ve rat için en ideal ilaç uygulaması periton içidir. Hayvan türlerine göre laboratuvar hayvanlarından ideal kan alımı toplam kan volümü dikkate alınarak yapılmalıdır. Bu bölüm de; laboratuvar hayvanlarına ilaç verme yöntemleri ile ilgili bilgiler verilecektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2. 1. Deneysel Çalışmalarda Hayvanların Kullanılması

Deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmaların modern tıbbın gelişmesinde çok önemli bir yer tutar. Benzer şekilde deney hayvanlarının araştırılma, çeşitli denemeler yapmak ve öğretim amacıyla bugün içinde geniş ölçekte kullanılması devam etmektedir. Deney hayvanlarının kullanımı bilimsel çalışmalarda ya da amacı ne olursa olsun gelişmiş güzel yapılabilecek bir uygulama değildir. Deney hayvanları kullanımı hipotezi ve amacı bilimsel disiplinlere göre planlanmış çalışmalarda ve temel biyolojik pratiklerde kullanılan hayvanlardır. Omurgalı ve omurgasız olmaları önemsiz deney hayvanları terimi, üzerinde deney yapılabilen tüm hayvanları için kullanılır (Fagen, 1981).

Bazı memeli hayvan türlerinden basit omurgalı hayvanlara kadar günümüzde bilimsel araştırmalarda birçok çeşitli hayvan türünün denek olarak kullanıldığı görülmektedir. İlkel bir kaç omurgalıların kullanımında tercihler olsa da son yıllarda hala en çok kullanılanlar birtakım memeli hayvan türleridir. Sıçan, fare ve tavşan deneysel çalışmalarda hala en fazla tercih edilen türlerdir. Daha az sayıda tercih edilenler ise balık, kobay, maymun, hamster ve domuzdur. Temel biyolojik araştırmalar, antiserumlar, ilaçlar, narkotikler ve sağlık malzemeleri ile ilgili bir çok sayıda biyolojik pratiklerde deney hayvanları birden fazla farklı alanlar ve bölümlerde kullanılmakla birlikte en çok sağlık bilimleri ilgili araştırmalarda kullanılır (Flecknell ve ark., 1990).

1. İlaçların, moleküllerin veya ürünlerin etkinliklerinin, emniyetlerinin, kalitesinin ve yapımının test edilmesi,
2. İnsan, hayvan ve bitkilerdeki hastalıkların korunma veya hastalıkların tanısı ve tedavisi,
3. İnsan, hayvan ve bitkilerde fizyolojik şartların düzenlenmesi, modifikasyonunun tanımlanması ve tanısı,
4. Ekolojik ortamın devamlılığının sağlanması,
5. Öğretim, alıştırma ve yargısal soruşturmada,

Laboratuvar hayvanları ile yukarıda yazılan hedeflerden bir kaçının yerinde olması durumunda deneysel çalışmalar yapılması uygun olur.

Bilimsel araştırmaların yapılma sebebi insan sağlığını koruma veya devamlılığını sağlamaktır. Deneysel hayvanı kullanarak yapılan araştırmalarda araştırmacı mecbur kalmadıkça uygulamadan sakınmalı ve deneysel hayvanı uygulaması için kuvvetli, bilimsel deliller ve hipotezler ortaya koymalıdır. Deneysel araştırmaların yapılma zorunluluğundan başka seçeneğinin olmadığı açıkça ortaya konulmalıdır (Durgut ve ark., 2007; Gad, 2007; Altuğ ve ark., 2009).

## 2.2. İlaç Uygulama Yolları

### 2.2.1. Ağız yoluyla ilaç uygulaması

İlaç uygulamada yiyecek ve içecekler ağız yoluyla ile oral gavaj mide sondasıyla gerçekleştirilebilir. Normal yiyecek içecekler bazı ilaçlar olduğu lezzetli olduğundan laboratuvar hayvanına kolayca uygulanabilir. Arzulanan uygulamaya ulaşıp ulaşılmadığı deneysel hayvanlarının tükettiği miktar ölçülebilmek için rahatça gözetim yapılır. Bu uygulama yönteminde maruz bırakılan dozun ölçüsü su ve gıda alımındaki farklılıklardan etkilenemez. Oral gavaj mide sondası ile tadı hoş olmayan maddeler yeterince tüketilmeler bile kolayca uygulanırlar. Oral gavaj ile besleme veya ilaç verme yönteminde ilaç direk olarak mideye verilir. Bu metodun araştırmacılar tarafından daha çok tercih edilmesine sebepleri arasında tecrübeye bağlı rahat yapılması, hazırlanan ilağın steril olmasına gerek duyulmaması, ilaçların çözücüler içinde uygulanabilmesi ve klinik olarak hayvanda herhangi bir sorun oluşturmaması sayılabilir. Metodun dezavantajları deneyim eksikliğine bağlı özefagusun hasar görebilmesi, aspirasyon pnömonisi gibi istenmeyen klinik durumlar gelişebilir (Worth ve ark., 1963; Bader ,1974; Durgut ve ark., 2007).

**Şekil 1. Rat oral gavaj sondası ile ilaç uygulaması.**



**Şekil 2. Fare oral gavaj sondası ile ilaç uygulaması.**



### 2.2.2. Damar içi enjeksiyon

Rat ve farelerde intravenöz uygulamalar çoğunlukla kuyruk venlerin den yapılması uygundur. Rat ve farelerde yanal kuyruk veni gençlerde rahatça bulunabilirken, erişkin hayvanlarda kuyruk derisinin kalınlaşması keratinizasyonun artması ile bazı durumlarda bulmak zorlaşır uygulama zorluğuna sebep olabilir. Uygulamadan önce kuyruğun ısıtılması laboratuvar hayvanlarında venlerin genişlemesine sebep olacağından tavsiye edilir. Farelerde aydınlatıcı lambalar tavsiye edilirken, ratların kuyrukları 40-45 ° C'lik sıcak suyla muamele yapılması uygulama kolaylığı sağladığı için tavsiye edilir. Fare ve ratların kuyrukları yeterince genişlediğinde emin olunduktan sonra işlemin yapılacağı tespit alanına taşınır. Lateral venlerin biri üste gelecek şekilde kuyruk veya deney hayvanı hayvan refahı dikkate alınarak döndürülür. Tespit işlemini dikkatlice yaptıktan sonra 25-26 G numaraları kanül kullanılarak 45 derecelik açı ile kuyruk venasına girilir. İğne ucuna karşı direncin azalmasını hissedilmesi ile venin içine girildiğinin işareti olup metodun uygun yapıldığı anlaşılır. Uygulamadan sonra kanülün girdiği yerdeki kanamayı durdurmak için pamukla veya gazlı bezle bir iki dakika tampon yapılır. İnt-ravenöz ilaç uygulaması, talep edilen yoğunlukta ve hızlıca yapılır uygulama zorluğu ve tecrübe gerektirmesi dezavantajdır (Durgut ve ark., 2007; Reagan-Shaw ve ark., 2008).

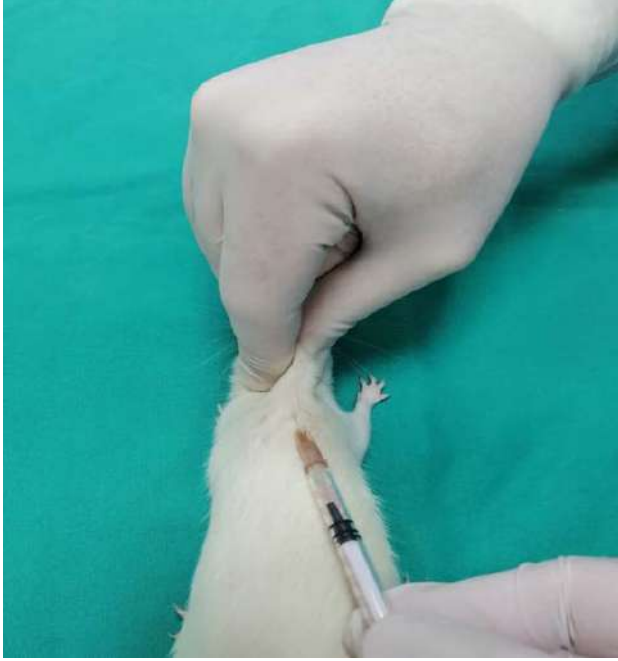
Şekil 3. Rat kuyruk venası ilaç uygulaması.



**Şekil 4. Tavşan kulak venası ilaç uygulama yöntemi.****2.2.3. Deri altı yolla ilaç verme**

İlaç çözeltisi hayvan gövdesinin belli başlı yerlerine enjekte edildikten sonra deri altında bulunan yağ ve bağ dokuya yaygınlaşarak çabuk bir şekilde emilir. Çoğu deney hayvanında boyun derisi kullanılır ve bükümlü deri kavranarak uygulama yapılır. Kanülün gövdeye duvarlarına paralel kavranarak uygulama yapılması gerekir. Kanül ucu deriyi geçtikten sonra deri altı yolla kanül ucu uzunluğu kadar ilerlemeye devam edilir. Subcutan ilaç uygulama yönteminin en önemli avantajı yavaş yolla emilim gerçekleştirilmesidir. Bu yolla çoğu zaman yağlı çözeltilerin emilmesi zor olduğundan tercih edilmezler. Uygulanan teknik oldukça basit olup araştırmacılar tarafından oldukça rahatlıkla gerçekleştirilir. Tahriş edici ilaçlar için dezavantajlıdır fazla miktarda ilaç uygulanabilir (Bader, 1974;Worth ve ark., 1963; Reagan-Shaw ve ark., 2008).

şekil 5. Rat deri altı enjeksiyon yöntemi.



şekil 6. Fare deri altı enjeksiyon yöntemi.



#### 2.2.4. Kas içi enjeksiyon

Deney hayvanlarında intramuskular enjeksiyonlar quadriceps muscularis, biceps femoris muscularis ve triceps muscularise yapılır. Biceps femoris kası deney hayvanlarında en az ağrıya ve sıkıntıya sebep olduğu için en uygun kastır. İlaç enjeksiyonu kasın en şişkin kısmına uygulanarak yapılır. Labotatuvar hayvanların da quadriceps kasına verilecek ilaçlar fazla acıya neden olur. Enjeksiyon tekniğinin ağır uygulanması ve az oranda likit verilmesi acıyı nisbeten azaltabilir. Kas içi enjeksiyonla sulu çözeltilerin emilmesi daha hızlı ve neredeyse tamdır. Yağlı çözeltilerin emilmesi oldukça yavaştır ve uzun sürer bu nedenle fazla tercih edilmez (Worth ve ark., 1963; Bader, 1974; Durgut ve ark., 2007; Reagan-Shaw ve ark., 2008).

**Şekil 7. Tavşan kas içi enjeksiyon yöntemi.**





şekil 8. Fare kas içi enjeksiyon yöntemi.



şekil 9. Rat kas içi enjeksiyon yöntemi.



### 2.2.5. Periton içi enjeksiyon

Rat ve farelerde anatomik olarak peritonun yaygın bir emilim yüzü oluşturması ilaç ve likitlerin emilmesini hızlandırır. Rat ve fare de periton içi ilaç uygulamasından önce deney hayvanı boyun ve sırt derisi sıkıca kavranıp zaptırıp altına alındıktan sonra diğer elle femur kemiğiyle aynı düzlemde enjektörü karnın sağ kısmı geri  $\frac{1}{4}$  'lük tarafından periton aralığına uygulanır. Periton içi uygulamada komplikasyon çok nadir şekillenir. Tekniğinin basit, büyük hacimde verilmesi ve emilimin hızlı olması periton içi ilaç enjeksiyonunun avantajlarıdır. Dezavantajları ise iritan ajanların verilmesi için kullanışlı olmamasıdır (Worth ve ark., 1963; Bader, 1974; Durgut ve ark., 2007; Reagan-Shaw ve ark., 2008).

**Şekil 10. Rat periton içi enjeksiyon yöntemi.**



### Şekil 11. Fare periton içi enjeksiyon yöntemi.



#### 2.2.6. Laboratuvar hayvanlarında kan hacmi ve alınabilecek kan örnekleri

Laboratuvar hayvanlarından kan alınarak birçok çeşitli bilimsel çalışmalar yapılabilir. Kan alma teknikleriyle ilgili birçok uygun yöntemler mevcuttur. Tekniğine uygun alınmayan kan örneklerinde hayvanlar strese sokabilir, araştırma verilerinin sonucu üzerindeki olumsuz etkisi kaçınılmazdır. Bu nedenle kan alma tekniğini uygulayan araştırmacının, yeterli eğitiminin ve tecrübesinin olması gereklidir (Hoff, 2000).

Laboratuvar hayvanlarında arasında kan alma için en uygun anatomik yerler farklılık gösterir. Tipik olarak küçük hayvanlar yüzeysel kan damarlarından yoksundur daha derin damarlarda genellikle yağ doku tarafından gizlenir ve kan almak oldukça zorlaşır. Yan saphenous ven ve sefalik ven gibi çeşitli periferik damarlar, bireysel türler için tarif edildiği gibi küçük kan örnekleri için uygun venler olabilir. Jugular veni çoğu türde daha büyük miktarda kan örnekleri için kullanılabilir, ancak uygun tutma konumlandırma stresli olabilir ve sedasyon veya anestezi gerektirebilir. Anatomik olarak tavşan için en uygun kan alma yeri marjinal kulak venidir (Thrall ve ark., 2004).

Mevcut kan hacminin sınırlı olmasından dolayı daha küçük deney hayvanlarından kan toplanması zordur ve örnek almak için kısıtlama veya sedasyon gerekli olduğundan bazı testlerin sonuçlarını değiştirebilir. Daha fazla kan alınması gerekli olduğunda kalpten kan alınır. Bu teknik genellikle deneyin sonlandırılmasında deney hayvanları anestezi ile uyutulduktan sonra uygulanır (Pilny, 2008).

Tek bir örnekte güvenli bir şekilde çekilebilen maksimum kan hacmi hipovolemik şok ve anemiden kaçınmak için genel bir temel yöntem ise hayvanın vücut ağırlığının yaklaşık % 1'i veya dolaşımdaki kan hacminin yaklaşık % 10'udur. Bu hacim, çoğu sağlıklı hayvanda 24 saat içinde kan bileşenlerini değiştirecektir, ancak tüm kan bileşenlerinin normal seviyelerine dönmesi 2 hafta kadar sürebilir (Thrall ve ark., 2004). Laboratuvar hayvanlarında bir standart, haftada alınan kanın toplam kan hacminin % 7,5'ini veya her 2 haftada bir toplam kan hacminin % 10'unu aşmaması gerektiğini belirtilir (McGuill ve ark., 1989).

**Tablo 1. Deney hayvanlarında biyokimyasal parametreler için alınacak maximum kan hacimleri, Farklı türlerdeki deney hayvanlarının kan damarı içi kanülasyonu için kullanılan iğne büyüklüğü (Gad, 2007).**

Hayvan Türleri	Ergin vücut ağırlığı(g)	Kullanılması Gereken iğne ucu	Ortalama erişkin kan volumü (ml)	Kan örneği için alınacak maksimum miktar(ml)	Alınabilecek en yüksek kan hacmi (ml)
Fare	25-40	23-25G	2,5	0,3	1,2
Sıçan	300-500	19-21G	30	2,5	12
Tavşan	2000-6000	19-21G	250	50	150
Kobay	700-1200	20-21G	60	5	30
Hamster	85-150	19-23G	9	0,5	3

**Tablo 2. Laboratuvar hayvanlarında verilecek ilaç dozları ve iğne büyüklüğü (Durgut ve ark., 2007; Gad, 2007)**

Hayvan Türleri	Deri altı	Kas içi	Periton içi	Damar içi
Fare	2-3 ml 20 numara	0,05ml 23 numara	2-3ml 21 numara	0,2ml 25 numara

Hayvan Türleri	Deri altı	Kas içi	Periton içi	Damar içi
Sıçan	5-10 ml 20 numara	0,3ml 21 numara	5-10ml 21 numara	0,5ml 23 numara
Tavşan	30-50ml 20 numara	0,5-1ml 20 numara	50-100ml 20 numara	1-5ml 21 numara
Kobay	5-10 ml 20 numara	0,3 ml 21 numara	10-15ml 21 numara	0,5ml 23 numara

## SONUÇ

Çağdaş tıbbın ilerlemesinde hayvanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmaların her zaman önemli bir yeri olmuştur. Deneysel çalışmalar bilimsel amaç, hipotezle ya da her ne şekilde olursa olsun tesadüfi yapılabilecek prosedürler değildir. Güncel olarak bazı ilkel omurgalıların kullanımında artışlar olsa da halen en fazla tercih edilenler bazı memeli türleridir. Kullanımında ise üst grupları oluşturanlar sınıflandırılırsa, en fazla kullanılanlar sıçan, fare, tavşan ve balık orta düzeyde kullanılanlar ise domuz, kobay, hamster ve maymundur. Deneysel hayvanları çok çeşitli alanlarda kullanılmakla birlikte en fazla sağlık bilimleri ilgili araştırmalarda olduğu gibi aşılar, ilaçlar ve tıbbi malzemelerle ilgili çok sayıda biyolojik testlerde de kullanılır.

Laboratuvar hayvanlarında ilaçlar oral gavaj sondası ile ağız yolu, damar içi, deri altı, kas içi ve periton içi yollarla verilebilir. Bazı özel çalışmalarda rektum içi ve intraserebrovetrotriküler yollar tercih edilir. Ancak bu yollarla çok az ilaç uygulanabilir. İlaçların verilme yolu verilecek ilaç türü, miktarı ve formu ile laboratuvar hayvanlarının canlı ağırlıkları göz önüne alınarak ayarlanmalıdır.

Laboratuvar hayvanlarından alınabilecek kan örnekleri hayvanların ortalama kan volümleri dikkate alınarak, uygun iğne ucu kullanılarak hayvan türlerine göre anatomik olarak en uygun bölgeden alınmalıdır.

Laboratuvar hayvanlarına ilaç verilmesi düşük dozlarda yavaş ve uygun iğne ucu veya kanül kullanılarak yapılır. Kas içi uygulama fazla tercih edilmez fakat tavşan için en uygun yöntem kas içi uygulamadır. Fare ve rat için en uygun ilaç uygulaması periton içidir. Periton içi ilaç enjeksiyonunun avantajları tekniğin basit, nisbeten büyük hacimde verilmesi, emilimin hızlı ve irritan olmamasıdır.

## **KAYNAKLAR**

- Altuğ T. Hayvan Deneylei Etiği. Sağlık Bilimlerinde Süreli Yayınclılık 2009;53-68.
- Bader M, Klinger W. Intragastric and intracardial injections in newborn rats: Methodical investigation. *Z Versuchstierk* 1974;16:40-42.
- Durgut R, Yarsan E. Laboratuvar Hayvanları Hastalıkları ve Sağaltım. Medisan Yayınları 66. Baskı Ankara 2007;28-30.
- Fagen R. *Animal Play Behaviour*. Oxford University Press New York 1981;83-82.
- Gad SC. *Animal Models in Toxicology*. Taylor and Francis Group Boca Raton London 2007;187-200.
- Hoff, J., *Methods of Blood Collection in the Mouse*. *Lab. Animal*. 2000;29(10):47-53.
- McGuill MW, Rowan AN. Biological effects of blood loss; implications for sampling volumes and techniques. *ILAR J* 1989;31:5-20.
- Pilny, A.A., *Clinical hematology of rodent species*. *Vet Clin North Am Exotic Anim Pract* 2008;11:523-533.
- Reagan-Shaw, Nihal, S., Ahmad, N. Dose translation from animal to human studies revisited. *The FASEB journal*. 2008;22:659-661
- Thrall MA, Baker DC, Campbell TW, DeNicola D, Fettman MJ, Lassen ED. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Lippincott Williams & Wilkins Baltimore 2004;84-92.
- Worth HM, Kachmann C, Anderson RC. Intragastric injection for toxicity studies with newborn rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1963;5:719-727.