



УНИВЕРЗИТЕТУ НОВОМ САДУ  
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

# УЗГОЈ И БРИГА О ЛАБОРАТОРИЈСКИМ ЖИВОТИЊАМА

Проф. др Зденко Каначки  
Проф. др Исидора Самојлик





Проф. др Зденко Каначки  
Проф. др Исидора Самојлик

# УЗГОЈ И БРИГА О ЛАБОРАТОРИЈСКИМ ЖИВОТИЊАМА



УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ  
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

---

Нови Сад, 2020.

## **ЕДИЦИЈА ОСНОВНИ УЏБЕНИК**

**Оснивач и издавач едиције**

*Пољопривредни факултет, Нови Сад,  
Трг Доситеја Обрадовића 8, 2100 Нови Сад*

**Година оснивања**  
*1954*

**Главни и одговорни уредник едиције**

**Др Недељко Тица, редовни професор**  
*Декан Пољопривредног факултета у  
Новом Саду.*

**Чланови комисије за издавачку делатност**

**Др Љиљана Нешић, редовни професор, - председник.**  
**Др Бранислав Влаховић, редовни професор, - члан.**  
**Др Милица Рајић, редовни професор, - члан.**  
**Др Нада Плавша, редовни професор, - члан.**



CIP - Каталогизација у публикацији  
Библиотека Матице српске, Нови Сад

ISBN: 978-86-7520-514-2

**Аутори**  
**Др Зденко Каначки, ванредни професор**  
**Др Исидора Самојлик, редовни професор**

**Главни и одговорни уредник**  
**Др Недељко Тица, редовни професор**  
*Декан Пољопривредног факултета у*  
*Новом Саду*

**Уредник**  
**Др Марко Цинцовић, ванредни професор**  
*Директор Департмана за ветеринарску медицину*

**Фотографија**  
**Зоран Ружић, др вет. мед.**

**Лектор**  
**Вишња Кризманић**

**Рецензенти**  
**Др Марко Цинцовић, ванредни професор**  
*Универзитет у Новом Саду,*  
*Пољопривредни факултет.*

**Др Саша Вукмировић, ванредни професор**  
*Универзитет у Новом Саду,*  
*Медицински факултет.*

**Издавач**  
**Универзитет у Новом Саду,**  
**Пољопривредни факултет, Нови Сад.**

Забрањено прештампавање и фотокопирање. Сва права задржава издавач.

Штампа:

Штампање одобрио: Комисија за издавачку делатност,  
Пољопривредни факултет, Нови Сад.

Тираж: 20

Место и година штампања: Нови Сад, 2020.

## ПРЕДГОВОР

Лабораторијске животиње су још увек незамењиве у биомедицинским истраживања. Процењује се да је око 70% савремених биомедицинских истраживања повезано са употребом огледних животиња. Огледи на животињама не само да проширују наше научно знање, већ увелико унапређују здравље и квалитет живота људи и животиња. Међутим, постоје и схватања која не одобравају огледе на животињама из етичких и практичних разлога. Сви ови разлози намећу потребу да истраживачи обавезно пронађу начин да ефикасно спроведу огледе на животињама уз поштовање њихове добробити. Овакав приступ условљава да се на већини биомедицинских студија уводи настава која покрива ову област.

Настава из изборног предмета Узгој и брига о лабораторијским животињама, на студијском програму интегрисаних студија Ветеринарске медицине на Пољопривредном факултету у Новом Саду, се одвија у трећем семестру.

Овај уџбеник је, пре свега, намењен студентима студијског програма Ветеринарске медицине, али га могу користити и студенти Медицинског факултета, као и сродних студијских програма као допунску литературу. Поред њих, њега могу користити и студенти последипломских студија, као и истраживачи из области биомедицинских наука, који током свог усавршавања и свакодневног рада имају потребу да користе лабораторијске животиње.

На крају, али не мање битно, овај уџбеник могу користити и сви они који желе да се боље упознају и схвате тежину задатка који пред собом имају научни радници и остало особље при раду са лабораторијским животињама, да разумеју начин на који они приступају овој проблематици и принципе њиховог рада.

Аутори се захваљују свима који су помогли издању овог уџбеника. Тако, Др Бојану Станимирову и Др Небојши Павловићу се захваљујемо за помоћ у раду на поглављу о алтернативним методама огледима на животињама, а асистенту Зорану Ружићу на техничкој помоћи.

Нови Сад, 2020. године

Аутори

## Садржај

|  |    |
|--|----|
| 1.0 Увод   | 1  |
| 2.0 Огледи на животињама   | 5  |
| 2.1 Огледни модели   | 6  |
| 2.2 Екстраполација резултата и стандардизација огледа на животињама      | 8  |
| 3.0 Етички аспекти огледа на животињама                                  | 10 |
| 4.0 Законска регулатива везана за огледе на животињама                   | 13 |
| 4.1 Институционална заштита добробити огледних животиња                  | 19 |
| 4.2 Категорије инвазивности огледа на животињама                         | 20 |
| 5.0 Алтернативне методе  | 21 |
| 5.1 Алтернативне методе огледа на животињама                             | 21 |
| 5.2 Ћелијске културе и ткива   | 22 |
| 5.3 <i>In silico</i> алтернативне методе коришћењу животиња у огледима   | 26 |
| 6.0 Здравствени мониторинг особа које раде са лабораторијским животињама | 30 |
| 6.1 Алергијске реакције, астма и друге болести дисајних органа           | 30 |
| 6.2 Инфективне болести – зоонозе   | 31 |
| 6.2.1 Мере/поступци код акутног инфективног ризика                       | 32 |
| 6.3 Физичке повреде  | 32 |
| 6.4 Хемијски ризици  | 33 |
| 6.5 Разно/остало   | 34 |
| 7.0 Биолошке карактеристике лабораторијских животиња                     | 35 |
| 7.1 Миш ( <i>Mus musculus</i> )  | 35 |
| 7.2 Пацов ( <i>Rattus norvegicus</i> )                                   | 38 |
| 7.3 Хрчак ( <i>Mesocricetus auratus</i> )                                | 41 |
| 7.4 Заморац ( <i>Cavia porcellus</i> )                                   | 42 |
| 7.5 Гербил ( <i>Merionse unguiculatus</i> )                              | 44 |



|  |    |
|--|----|
| 7.6 Кунић ( <i>Oryctolagus cuniculus</i> )                     | 45 |
| 7.7 Зеџ ( <i>Lepus europaeus</i> )                             | 47 |
| 7.8 Пас ( <i>Canis familiaris</i> )                            | 48 |
| 7.9 Мачка ( <i>Felis catus</i> )                               | 49 |
| 7.10 Свиња ( <i>Sus scrofa ferus</i> )                         | 50 |
| 7.11 Овца ( <i>Ovis aries</i> ) и коза ( <i>Capra hircus</i> ) | 51 |
| 7.12 Мајмуни   | 52 |
| 8.0 Смештај лабораторијских животиња                           | 54 |
| 8.1 Објекти за смештај лабораторијских животиња                | 54 |
| 8.2 Локација   | 55 |
| 8.3 Централизација или децентрализација објеката               | 55 |
| 8.4 Функционалне јединице                                      | 56 |
| 8.5 Конструкциони захтеви                                      | 57 |
| 8.6 Специјални објекти   | 65 |
| 8.7 Системи и опрема за смештај лабораторијских животиња       | 72 |
| 8.7.1 Кавези   | 72 |
| 8.7.2 Простирка  | 74 |
| 8.8 Услови за смештај појединих врста лабораторијских животиња | 75 |
| 8.8.1 Услови за смештај мишева                                 | 75 |
| 8.8.2 Услови за смештај пацова                                 | 75 |
| 8.8.3 Услови за смештај замораца                               | 76 |
| 8.8.4 Услови за смештај хрчкова                                | 77 |
| 8.8.5 Услови за смештај кунића                                 | 77 |
| 8.8.6 Услови за смештај гербила                                | 77 |
| 8.8.7 Услови за смештај других врста огледних животиња         | 77 |
| 8.9 Оплемењивање смештајног простора                           | 78 |
| 8.10 Санитација  | 79 |

|       |   |     |
|-------|---|-----|
| 9.0   | Експериментални поступци                                    | 80  |
| 9.1   | Обележавање огледних животиња                               | 80  |
| 9.1.1 | Индивидуално обележавање огледних животиња                  | 80  |
| 9.1.2 | Обележавање кавеза  | 82  |
| 9.2   | Фиксација огледних животиња                                 | 83  |
| 9.3   | Апликација лекова и других материја                         | 86  |
| 9.3.1 | Апликација преко коже или приступачних слузокожа            | 87  |
| 9.3.2 | Апликација путем природних отвора                           | 87  |
| 9.3.3 | Апликација путем ињекција (парентерално)                    | 89  |
| 9.3.4 | Начини апликације код појединих врста огледних животиња     | 91  |
| 9.5   | Специјални начини апликације код огледних животиња          | 93  |
| 9.6   | Узимање узорака   | 94  |
| 9.6.1 | Узимање узорака крви  | 95  |
| 9.6.2 | Узимање узорака излучевина                                  | 99  |
| 9.6.3 | Узорковање осталих телесних течности                        | 100 |
| 9.6.4 | Узорковање органа и ткива                                   | 101 |
| 9.7   | Еутаназија огледних животиња                                | 101 |
| 9.7.1 | Физичке методе еутаназије огледних животиња                 | 102 |
| 9.7.2 | Хемијске методе еутаназије огледних животиња                | 105 |
| 10.0  | Принципи производње лабораторијских животиња                | 107 |
| 10.1  | Генетичка стандардизација лабораторијских животиња          | 107 |
| 10.2  | Инбридинг   | 107 |
| 10.3  | Хибридизација   | 108 |
| 10.4  | Насумично укрштање  | 109 |
| 10.5  | Инбред сојеви   | 109 |
| 10.6  | Аутбред сојеви и затворене популације                       | 115 |
| 10.7  | Упоредне особине инбред сојева, Ф1 хибрида и аутбред сојева | 116 |

|  |     |
|--|-----|
| 10.8 Контрола генетског квалитета                              | 120 |
| 10.9 Микробиолошка стандардизација лабораторијских животиња    | 122 |
| 10.10 Микробиолошка класификација лабораторијских животиња     | 124 |
| 10.10.1 Конвенционалне лабораторијске животиње                 | 124 |
| 10.10.2 Чисте лабораторијске животиње                          | 125 |
| 10.10.3 SPF лабораторијске животиње                            | 125 |
| 10.10.4 GF и гнотобиотске лабораторијске животиње              | 125 |
| 10.11 Микробиолошки мониторинг лабораторијских животиња        | 127 |
| 11.0 Исхрана лабораторијских животиња                          | 130 |
| 11.1 Фактори који утичу на нутритивне потребе                  | 130 |
| 11.2 Формулација исхране                                       | 132 |
| 11.2.1 Исхрана базирана на природним састојцима                | 133 |
| 11.2.2 Пречишћена и хемијски дефинисана исхрана                | 135 |
| 11.3 Физички облик хранива                                     | 136 |
| 11.4 Производња хране за лабораторијске животиње               | 138 |
| 11.4.1 Производња исхране на бази природних састојака          | 138 |
| 11.4.2 Производња пречишћене и хемијски дефинисане хране       | 139 |
| 11.5 Складиштење хране за лабораторијске животиње              | 139 |
| 11.6 Обезбеђивање квалитета и потенцијални загађивачи          | 140 |
| 11.7 Рестриктивна исхрана                                      | 142 |
| 11.8 Исхрана и појење појединих врста лабораторијских животиња | 142 |
| 11.8.1 Исхрана и појење лабораторијских мишева                 | 142 |
| 11.8.2 Исхрана и појење лабораторијских пацова                 | 143 |
| 11.8.3 Исхрана и појење хрчака                                 | 144 |
| 11.8.4 Исхрана и појење замораца                               | 144 |
| 11.8.5 Исхрана и појење гербила                                | 145 |
| 11.8.6 Исхрана и појење зечева и кунића                        | 145 |

|  |     |
|--|-----|
| 11.8.7 Исхрана и појење других огледних животиња                           | 145 |
| 12.0 Патологија, превентива и санација патологије лабораторијских животиња | 147 |
| 12.1 Болести неинфективне природе  | 149 |
| 12.2 Инфективне болести  | 161 |
| 12.2.1 Инфективне болести мишева   | 161 |
| 12.2.2 Инфективне болести пацова   | 166 |
| 12.2.3 Инфективна болести замораца   | 168 |
| 12.2.4 Инфективна болести хрчака   | 171 |
| 12.2.5 Инфективне болести кунића   | 172 |
| 12.2.6 Инфективне болести гербила  | 176 |
| 12.2.7 Инфективне болести осталих огледних животиња                        | 177 |
| 12.3 Дерматофитозе   | 177 |
| 12.4 Паразитске болести  | 177 |
| 12.4.1 Ектопаразитозе  | 178 |
| 12.4.2 Ендопаразитозе  | 180 |
| 12.5 Мере превенције и санације патологије лабораторијских животиња        | 183 |
| 12.5.1 Вакцинација и лечење огледних животиња                              | 184 |
| 13.0 Литература  | 185 |
| О ауторима   | 187 |



## 1.0 Увод

Коришћење лабораторијских животиња у научним истраживањима, различитим тестирањима или у настави представља област активне дискусије и подељених мишљења не само у стручној јавности него и међу обичним људима. С једне стране су они који сматрају да је употреба животиња још увек неопходна и нужна у стицању нових научних сазнања и да је уз поштовање одређених етичких принципа оправдано жртвовати животиње зарад користи људи. С друге стране, једнако присутна су и мишљења која не само да оспоравају етичку оправданост употребе животиња, већ и потенцирају недовољну поузданост овако добијених резултата када се они примењују на људе.

Експериментална пракса која укључује животиње има дугачку историју и предисторију. Чињеница је да је и поред постојећих алтернатива и даље убедљиво доминантан анимални модел у науци. Међутим, постоји непрекидна тежња да се усаврше друге алтернативне истраживачке методе која ће заменити употребу живих животиња.

Наука о лабораторијским животињама обухвата сазнања о:

- етичким и законодавним аспектима рада са огледним животињама,
- биолошким особинама огледних животиња,
- смештајним условима за огледне животиње,
- генетичкој и микробиолошкој номенклатури,
- подели и стандардизацији огледних животиња,
- експерименталним процедурама,
- анестезији, аналгезији, еутаназији,
- превентиви и третману болести огледних животиња и
- алтернативним експерименталним процедурама.

Може се рећи да је озбиљнија дисекција и вивисекција животиња у Европи почела још у 12. веку, мада су прва експериментисања на животињама забележена и много раније, у античкој Грчкој. Огледи на животињама спомињу се још у записима из 4. и 5. века пре нове ере. Међу првима који су експериментисали на живим животињама су Аристотел и Ерасистратус. Гален, лекар у Римском царству, је још у другом веку вршио вивисекцију свиња и коза и познат је као „отац вивисекције“. Тестирање на животињама као експериментални метод испитивања хируршких процедура намењених хуманој медицини практиковао је Авензоар, арапски лекар из Шпаније у 12. веку.

Експанзија истраживања на животињама заправо почиње у 16. веку, када су створени одређени предуслови. Овоме су посебно допринели став званичне цркве

која се противила дисекцији људских лешева, као и растућа потреба за сазнањима из физиологије и анатомије.

Оправданост употребе животиња у циљу стицања научних знања убрзо добија потпору у рационалистичкој филозофији која на животиње гледа као на аутомате, машине чији организам функционише по принципу механизма било које неживе ствари.

Како су научници попут Андреаса Везалиуса (Andreas Vesalius), Френсиса Бејкона (Francis Bacon), Ренеа Декарта (René Descartes), Антона ван Левенхука (Anton van Leeuwenhoek), на животињама испробавали своје хипотезе, јавља се и критика оправданости употребе животиња у тадашњој истраживачкој пракси. На овом месту је важно напоменути да пионери експериментисања на животињама, иако истичу физиолошку и анатомску сличност људи и животиња, сматрају да животиње не само што немају душу и разум него и нису способне за бол и патњу као човек, те њихови крици нису ништа мање различити од звука које производе различите механичке направе. Вођени оваквим ставом, они су изводили веома болне и окупне експерименте.

Енглески филозоф из 18. века Џереми Бентам (Jeremy Bentham), зачетник утилитаризма, довео је у питање наведено доминантно мишљење и озбиљним ставовима ставио до знања нужност проналажења компромиса између користи које добија човек и цене коју плаћају животиње.

Утилитаристички приступ се и данас користи као основни принцип у раду и одлучивању етичких комитета за заштиту огледних животиња. Овај приступ је и основа креирања тзв. „3 ер“ (3R) правила које представља основ заштите добробити огледних животиња. Ово правило су предложили Вилиам Расел (William Russell) и Рекс Берч (Rex Burch) 1959. године у књизи „Принципи хумане експерименталне технике“.

Такође, у 19. веку ствара се већ јасна поларизација када су у питању ставови према коришћењу животиња у науци. С једне стране су Франсоа Маженди (François Magendie) и Клод Бернар (Claude Bernard), који се сматрају зачетницима модерне експерименталне физиологије, а с друге антививисекционисти, који су, посебно у Енглеској, били веома активни. Тако је организован протест 1874. године када је председник Краљевског колеџа за хирургије симболично ослободио једног пса коришћеног у огледима.

Сви ови напори озваничени су доношењем првог британског закона о заштити животиња 1876. године. Поред тога, Британска асоцијација за унапређење науке је пар година раније, 1871., издала „Акт о правилима извођења физиолошких огледа на животињама“. Све то указује на растућу свест о потребама животиња које су сличне потребама људи, а односе се пре свега на способност животиња да доживе бол, патњу, страх и стрес.

Закони и смернице почивали су на познатим етичким принципима британског физиолога Маршала Хола (Marshall Hall) из 1831. године, који се у потпуности могу прихватити и данас:

- не радити експеримент ако се подаци могу добити посматрањем;

- експеримент треба извести само ако су циљеви дефинисани и реални (достижни);
- неопходно је да научници прикупе информације о претходним истраживањима да би се избегло непотребно понављање експеримента;
- патња лабораторијских животиња требало би да буде сведена на минимум (коришћење нижих филогенетских врста);
- резултати истраживања треба да буду што јаснији, тако да је потребан број експеримената најмањи могући.

Данас постоји посебна мултидисциплинирана научна грана – наука о огледним животињама, која има два основна циља:

- усавршавање квалитета огледа на животињама и
- заштита добробити огледних животиња.

Ово је важно зато што се сматра да сви кичмењаци поседују осећаје сличне човеку, а потврђено је да су им непријатне емоције и телесни осећаји и стања, као што су бол, патња, досада, страх и стрес заједничке карактеристике.

Изрaчунато је да се сваке године у свету искористи од 75 до 100 милиона огледних животиња у различитим фундаменталним, примењеним истраживањима, образовању и тестирању различитих производа. Само у европским земљама тај број достиже и до 10,7 милиона.

Највећи број огледних животиња припада подтипу кичмењака и користи се у фармацеутској индустрији за развој нових лекова (23%) и испитивање вакцина и других биолошких препарата (21%).

Око 12% огледних животиња које припадају подтипу кичмењака искористи се сваке године за проучавање малигну оболјења, око 9% у тестовима токсичности, 2% у проучавањима кардиоваскуларног система, 1% у образовне сврхе и 32% у све друге сврхе. Циљ свих делатности у којима се искоришћавају огледне животиње је:

- унапређење здравља и добробити човека,
- унапређење здравља, добробити и производних резултата домаћих животиња,
- проналажења бољих и ефикаснијих начина заштите дивљих животиња, а посебно угрожених врста,
- еколошка заштита,
- проналажење много хуманијих и ефикаснијих начина контроле штетних организама,
- провера ефикасности и контроле квалитета новосинтетисаних и већ постојећих хемијских једињења, која се користе у различите сврхе,



- стицање нових сазнања из различитих области биологије, хумане медицине, ветеринарске медицине, хемије, пољопривреде и сл.

На овом месту је потребно раздвојити и дефинисати два појма: лабораторијске животиње и огледне животиње.

**Лабораторијске животиње** су ужи појам који означава мање животињске врсте које су изабране и гајене у лабораторијским популацијама и код којих не долази до миграције гена (нпр. лабораторијски миш и пацов).

**Огледне животиње** су шири појам који, поред лабораторијских животиња, обухвата и све домаће и дивље животиње на којима се врше огледи.

Овај уџбеник ће се бавити, пре свега, лабораторијским животињама, али ће у појединим поглављима дати и шире напомене које се односе и на неке врсте огледних животиња које се често користе у научноистраживачке сврхе.

## 2.0 Огледи на животињама

Планирање огледа зависи од крајњег циља који су поставили истраживачи. Најједноставнија форма извођења експеримента састоји се од испитивања на само једној јединки. Међутим, оглед може укључивати и више хиљада јединки (тзв. “мегамиш”) које су подвргнуте различитим третманима и у различитим експерименталним условима.

Код свих огледа који укључују већи број јединки потребно је већ у почетним фазама планирања обратити пажњу на статистичке методе којима ће бити обрађивани добијени подаци. На овај начин избегава се коришћење сувише великог или сувише малог броја животиња, као и друге грешке у поставци и тумачењу добијених резултата. Ово, у крајњем циљу, има за последицу повећање успеха самог експеримента и добијања поузданијих и квалитетнијих резултата, а уједно се спречава да се овакав оглед мора поново изводити.

Планирање сваког експеримента подразумева јасно дефинисање циља од стране истраживача. Сваки експеримент у који су укључене и животиње мора имати за предмет истраживања нешто што је од потенцијалног општег друштвеног значаја. Процена од стране надлежних институција је у овом кораку изузетно важна јер се у тој фази могу одбацити лоше планирани и постављени експерименти. На овај начин се спречава непотребно жртвовање и/или мучење огледних животиња, губитак времена и материјалних ресурса и евентуално доношење погрешних или сумњивих закључака.

Дизајн огледа у који су укључене животиње обухвата прављење протокола, односно описа предложеног истраживања, који ће обухватити хипотезу и основне циљеве експеримента. Овај протокол треба да садржи и процену могућих ефеката, односно добробити које ће произаћи из добијених резултата.

При планирању огледа морају се узети у обзир и фактори који директно или индиректно могу утицати на добијене резултате. Ови фактори су разноврсни и у њих спадају: фактори околине, генетски квалитет (сој и/или узгој), биолошки статус и здравствено стање, исхрана и систем држања, транспорт, брига о животињама, квалификације особља, као и примењене експерименталне технике. У сваком случају, већа прецизност подразумева и већи број експерименталних животиња.

Број животиња укључених у оглед такође мора бити део плана. Овај број зависи од циљева експеримента, потребног степена прецизности и поузданости добијених резултата, очекиване разлике у дејству третмана, као и метода статистичке анализе. У овој фази планирања су од великог значаја резултати добијени у оквиру сличних истраживања која су раније извршена.

Контрола квалитета животиња које се укључују у оглед подразумева постојање стандардних процедура које се односе на смештај, руковање, бригу, исхрану и праћење стања животиња. Дobar квалитет огледних животиња подразумева одсуство знакова обољења изазваних различитим етиолошким факторима, док животиње специфичних сојева морају поседовати све фенотипске

карактеристике тог соја, а морају бити и генетски аутентичне. Коришћење животиња лошијег квалитета може значајно умањити квалитет добијених резултата.

Генетско порекло огледних животиња значајно може утицати на резултате огледа. Због тога је важно спречити генетску контаминацију соја. Ово може бити последица људског фактора или случајног парења. Поред тога, потребно је и на време утврдити постојање евентуалних мутација. Генетске карактеристике сваког соја се прате генетским мониторингом.

Исто тако, мора се водити рачуна и о контроли квалитета околине. У ове факторе се убрајају физички фактори средине (температура, влажност ваздуха, светло, бука, итд.), начин смештаја (величина кавеза, густина популације, итд.), сама техника руковања, начин парења, исхрана (квалитативни и квантитативни аспект).

Важно је водити детаљну евиденцију о извршеним поступцима са животињама (нпр. дневним прегледима, огледним поступцима). Упутства Добре лабораторијске праксе (енгл. *Good Laboratory Practice – GLP*) осигуравају одговарајућу контролу квалитета и вођење документације.

Типови огледа на животињама разликују се у зависности од циља који је постављен при планирању одређеног истраживања. Огледи се могу поделити у два основна типа:

- **Конфирмативни оглед** има за циљ давање одговора на одређену, недовољно обрађену проблематику. Давање одговора захтева поставку тзв. нулте хипотезе, а анализа добијених резултата захтева примену одговарајућих статистичких метода.

- **Експлоративни оглед** има за циљ да се на основу извештаја и хипотеза поставе основе за будућа истраживања. Код оваквих огледа се не одређује статистички значајна разлика између појединих третмана.

## 2.1 Огледни модели

Правилно планирање огледа подразумева избор одговарајућег огледног модела. Животињски модел представља предмет имитације других животињских врста или човека који се користи за испитивање различитих утицаја.

Лабораторијска животиња као модел представља биолошки систем, а прецизну дефиницију животињског модела дао је Хелд (Held) на основу Веселерове (Wesseler) дефиниције, која гласи:

*“Лабораторијска животиња је живи организам на ком се може проучавати биологија или понашање, или код кога се могу испитати спонтани или индуковани патолошки процеси, и код ког различите појаве подсећају на исте појаве које се могу јавити код људи или других животињских врста.”*

Примарни објекат испитивања није сама животиња која се користи у огледу него њено аналогно физиолошко понашање у односу на другу животињску врсту или човека. Значајан разлог употребе лабораторијских животиња је и производња разноврсних биолошких производа (хормона, антитела и сл.).

Животињски модел мора да буде сличан човеку или другој животињској врсти по фенотипу, физиолошким особинама и одговору на деловање различитих третмана. Ови модели могу бити:

- **истраживачки** – када служе за разумевање различитих биолошких механизма у организму, било физиолошких или патолошких;

- **експланаторни (објашњавајући)** – који се развијају са циљем разумевања различитих биолошких проблема – промена, болести... (не морају увек бити засновани на коришћењу живих животиња) и

- **предиктивни** – који се користе код испитивања различитих материја, када се жели утврдити какво они дејство имају на организам (терапијско или токсично).

У циљу истраживања различитих обољења код људи могу се користити људски добровољци, ембриони, органи или ћелије, бактерије, гљивице и протозое, рачунарски програми, физички и хемијски производи и животињски модели. Животињски модели који се користе у ову сврху се могу сврстати у пет група.

**1. Индуковани огледни модели** представљају здраве животиње код којих се одређена патолошка промена изазива на такав начин да клиничка слика обољења и етиологија одговарају обољењу које је настало природним путем.

**2. Спонтани или генетички огледни модели** обољења јављају се код животиња спонтано, а настају као резултат урођених мана или поремећаја у метаболизму.

**3. Трансгени огледни модели** су се развили са значајним напретком у технологији генетског инжињеринга. Овакви модели су засновани на трансгеним животињама које су настале изазивањем мутација у полним ћелијама. На овај начин се омогућује увођење нових гена (тзв. *knock-in*) или мутација или инактивација већ постојећих гена (тзв. *knock-out*). Ова технологија омогућава уклањање неких нежељених својстава која се могу јавити, а са добијеним трансгеним линијама може се вршити селекција приликом одабира неког специфичног генотипа. Да би се утврдило који гени реагују или не реагују приликом развоја неког патолошког процеса, потребно је израдити генске, односно хромозомске карте. Ове карте омогућавају да се утврди генетска основа у етиологији обољења, као и да се одреди степен сличности између животињских модела и човека. На овај начин се може спречити појава и/или олакшати излечење неког генетски изазваног обољења, а уједно се олакшава и избор животињске врсте као модела при различитим истраживањима. Врста која се најчешће користи као трансгени модел су мишеви, али се поред њих користе и друге домаће животиње и рибе.

**4. Негативни огледни модели** обољења изазивају се код врста или сојева животиња код којих се сигурно зна да се ово обољење не јавља. Овај модел се

односи и на оне врсте или сојеве које су иначе неосетљиве на одређени стимулус који код неких других врста или сојева доказано изазива одговарајући ефекат.

**5. “Орфан” огледни модели** (модели ретких обољења) су модели који се односе на функционалне поремећаје/болести које се дешавају код животињских врста, али се препознају када се слично обољење идентификује код људи (нпр. кравља спонгиформна енцефалопатија препозната код људи као Јакобс-Кројцфелдова болест).

## 2.2 Екстраполација резултата и стандардизација огледа на животињама

Приликом избора огледног модела морају се јасно сагледати циљеви истраживања како би добијени резултати могли бити адекватно валидирани. Валидација резултата подразумева утврђивање њихове вредности са аспекта примене на циљану врсту. Екстраполација резултата (примена законитости, које су утврђене у једном подручју, на ширу, још неиспитану област) користи се да објасни како се подаци добијани истраживањем на огледним животињама могу употребити код других врста или људи. Због тога је приликом неког истраживања потребно изабрати одговарајућу животињску врсту или сој, који показују одређене морфолошке или физиолошке карактеристике које су сличне оној врсти на којој ће се добијени резултати евентуално примењивати. За овај избор је значајан степен хомологије између појединих животињских врста и човека. Екстраполација може бити квалитативна или квантитативна.

**Квалитативна екстраполација** представља преношење добијених резултата на друге животињске врсте или на човека.

**Квантитативна екстраполација** омогућава одређивање дозе одређених материја које могу имати корисно или токсично деловање на животиње и/или људе. Овај поступак условљавају квалитативне и квантитативне разлике у физиолошким процесима између појединих врста. На екстраполацију утичу и степен осетљивости животиња приликом извођења самог огледа, генотипске разлике, пол, узраст, као и физиолошки статус (гравидитет, лактација и сл.).

Ризик од погрешног извлачења закључка може се свести на минимум коришћењем више врста животиња у једном истраживању. Утврђивање токсиколошких података у испитивањима на животињама и њихова употреба у одређивању безбедносних нивоа изложености и безбедних доза код људи је најближа математичком начину екстраполације. Међутим, многа друга испитивања на животињама никада не могу постићи толики степен примењивости екстраполације на одговарајуће структуре код људи. Зато се добијени резултати увек прво морају проверити и на мањој групи људи (здрави или оболели добровољци) јер постоји доста случајева у којима одређене материје немају очекивани ефекат или је тај ефекат другачији код људи у односу на онај који је остварен на животињском моделу.

Циљ стандардизације огледа на животињама јесте да се смање варијације у вредностима квантитативних мерења када се користе идентични животињски модели. Овакав поступак омогућава компарацију резултата добијених у различитим лабораторијама. Смањење варијација између појединачних јединки смањује потребан број животиња за извођење ових огледа.

Приликом развијања неког новог терапијског средства прво се поставља циљ (рецептор, ензим и сл.), а након тога се развија кључна супстанција. Оваква супстанција мора проћи поступак предклиничких и клиничких испитивања.

Претклиничка испитивања се одвијају у неколико фаза. У првој фази се врши квантитативна процена ефекта (тзв. скрининг тест) који се састоји од *in vitro* и *in vivo* испитивања. *In vitro* испитивања се врше на ћелијским или ткивним изолатима, док се *in vivo* испитивања врше на лабораторијским животињама. Ова испитивања се прво врше на здравим лабораторијским животињама, а онда на онима код којих је претходно изазвано одређено обољење. Након ове фазе следе квалитативна испитивања. Оваква испитивања се спроводе на већем броју животиња и на више животињских врста, као и на више модела обољења. У овој фази се проучавају и фармакокинетика и фармакодинамика, па се на основу добијених резултата процењује и најефикаснији пут апликације и доза. Истраживања имају за циљ да се установе потенцијална нежељена дејства. Предклиничка испитивања се изводе по стандардима Добре лабораторијске праксе (GLP).

Клиничка испитивања имају за циљ мерење терапијске ефикасности на животињама (у ветеринарској медицини) и људима (у хуманој медицини). Ова испитивања се врше прво углавном на здравим организмима, а касније на болесним јединкама. У каснијим фазама се у ова испитивања укључује већи број јединки. Тек ако сва ова испитивања дају позитивне резултате, лек се региструје и ставља у промет.

### 3.0 Етички аспекти огледа на животињама

Оправданост, сврха и одрживост праксе вршења огледа на животињама представљају предмет спорења, при чему постоје снажни аргументи *pro et contra* такве праксе. Суочени с потребом решавања ове етичке дилеме, поставља се питање како можемо бити сигурни да је одлука исправна. Многи од наших садашњих биомедицинских проблема резултат су одлука које су неке претходне генерације медицинских стручњака, али и стручњака из других области, доносиле у доброј вери и намери. Велики број тих одлука имао је веома позитивне последице када су донесене, али су неке од њих имале и негативне последице, које су се обично тек накнадно уочиле. Иста таква аналогија може се извести и за сваког појединца који доноси одлуку у једном тренутку, на бази до тада познатих чињеница, а тек касније увиђа и друге последице које таква одлука са собом носи. Како је онда могуће да будемо сигурни да одлука неће имати подједнако двосмислене последице? Одговор лежи у томе да је једини разуман потез учинити корак назад и размислити о самом процесу доношња одлука.

Филозофска етика и њени примењени облици, као што је ветеринарска етика, представља управо чињење тог корака уназад. Ово је наизглед у контрадикцији са начином размишљања једног стручњака или научника, али нам управо тај начин омогућава да ово “изгубљено” време касније надокнадимо минимализујући штетне последице које такво деловање може имати и чије би исправке биле тешке или чак немогуће. Ово значи да свака одлука и деловање мора имати и своју практичну компоненту, засновану на стручности, али и апстрактну компоненту, засновану на томе како одлучујемо и шта вреднујемо.

Третирање биомедицинских проблема искључиво као научних и стручних, такође, са собом носи и опасност од тога што живи системи својом изузетном сложености још увек у великој мери превазилазе постојеће техничке и спознајне капацитете. Наука ужива велико поверење као крајњи ауторитет по питањима знања и истине, али увек треба имати на уму да колико год далеки хоризонти били, они још увек постоје и ограничавају могућност сагледавања целокупне ситуације. Мора се, на овом месту, нагласити да наука није увек вредносно неутрална у оном степену у којем се то обично претпоставља, што свакако може нарушити њену објективност. На пример, економски фактори играју значајну улогу при решавању бројних спорних питања.

Свака етичка теорија садржи бар две компоненте – теорије: ону која одређује шта је добро или вредно и ону која одређује шта је исправно. За добро, етичка теорија може узети било коју вредност (или више вредности) за коју се залаже, а разлоге за избор одређених вредности скоро увек аргументује на неки начин. Прихватање неке или неких одређених вредности за „добре“ још не обезбеђује једнозначно суђење при избору исправних поступака. Зато је потребан други део етичких теорија – који одређује исправно.

**Деонтолошке теорије** су оне које граде своје судове према поступцима неvezано од последица које поступак изазива. По њима, најбитније је поштовање вредности.

**Консеквенцијалистичке теорије** оцењују исправност конкретног поступка према последицама које би тај поступак изазвао у датим околностима (без обзира на исправност тог поступка извађеног из контекста). По њима је најбитније унапређивање вредности. Најпознатија теорија међу консеквенцијалистичким је теорија утилитаризма. Утилитаризам (лат. *utilus* – користан), као што и само име говори, стоји на становишту на којем се вредност последице неког моралног делања утврђује на основу принципа корисности, односно добробити коју тим чином можемо задобити. Ова теорија се користи као основ у раду и одлучивању Етичких комитета за заштиту огледних животиња.

**Теорије врлине** потичу из античког периода и оне процењују исправност поступка у односу на самог човека који доноси одлуку.

**Теорије права** заступљене су у модерном праву. У оваквим теоријама настају разни проблеми, између осталих да ли постоји хијерархија права, да ли неко има дужност и/или право да штити туђа права, да ли и која права се смеју ускратити ономе ко крши туђа права итд.

Центар моралности у ужем смислу је, свакако, човеково благостање и добробит. Моралност, схваћена на овај начин, тежи томе да разуме права и одговорности људи, смисао благостања и квалитетног живота за људска бића. Шире схваћена филозофска етика поставља општије циљеве доброг живота и благостања људи. Главни предмет овако схваћене етике јесу природа и обим вредности. Ова вредност, или достојанство, независна је од вредности коју им придају људска бића. Ово значи да ми чинимо грешку уколико процењујемо вредност само као вредност у односу на нас саме. Разлика се може уочити кроз дефинисање инструменталне и инхерентне вредности.

**Инструментална вредност** представља функцију корисности. Нешто поседује инструменталну вредност ако се може употребити да се оствари нека друга вредност.

**Инихерентна вредност** је вредност сама по себи, без обзира на могућу употребну вредност. Таква вредност је пре препозната, односно откривена, него дата. Сам живот је, према великом броју схватања, интринсично вредан, без обзира у ком облику се јавља.

Успешно решавање етичких дилема често захтева проширивање уских схватања о моралном достојанству и схватању вредности, посебно према интринсичној вредности. Радикални антропоцентризам подразумева да не постоји никаква дужност и одговорност човека која би сама по себи требала штитити друга жива бића. Радикални биоцентризам је гледиште по коме ниједна врста није важнија од друге. Ова теорија даје интринсичну вредност самом животу. Умерени биоцентризам сматра да се човек мора са поштовањем односити према свим живим бићима. Мора се увидети међусобна зависност свих облика живота. Човек јесте део природе и не постоји издвојено од ње, те је одређен њеним законима. То је сада и умерени антропоцентризам.

Данас се проблематика вршења огледа на животињама мора сагледати и у светлу основних принципа биоцентричне етике, која све више потискује до скоро владајући антропоцентризам. Проналажење најмањег заједничког садржаоца за



оштро сукобљене ставове може се тражити у принципима умереног биоцентризма, односно умереног антропоцентризма, где би обе стране могле пронаћи бар минимум за остварење својих циљева а без угрожавања туђих.

## 4.0 Законска регулатива везана за огледе на животињама

Оглед на животињама може се дефинисати као било који поступак у коме се живе животиње користе за проверу научних хипотеза, прикупљања информација, изоловање или испитивање супстанци или разјашњење ефеката неког поступка, као и коришћење животиња у бихејвиоралним огледима (дефиниција преузета из закона Швајцарске који регулише заштиту животиња – *Swiss Animal Protection Act*).

Први закони који регулишу употребу животиња у огледима потичу из 19. века, као уосталом и прва удружења за заштиту животиња (нпр. *The Royal Society for the Prevention of Cruelty to Animals* – RSPCA). Међутим, питање оправданости употребе животиња у *in vivo* огледима и данас је предмет бројних полемика. Не улазећи даље у ову дискусију, на овом месту је потребно нагласити да сви важећи прописи ЕУ, САД и других земаља, који регулишу добробит лабораторијских животиња, почивају на ставу да је етички оправдано, у одређеним случајевима, користити живе животиње у огледима. Огледи *in vivo* одувек су били, и још увек су неопходни у истраживањима из области биомедицинских наука. Оправданост таквог експеримента процењује се на основу класичног утилитаристичког односа користи (од резултата огледа) и ризика (штете коју животиње имају од таквог огледа).

Најзначајнији акт на нивоу Европске уније који регулише коришћење животиња у огледима и уопште научним истраживањима представља Директива 86/609/ ЕЕС из 1986. Када је реч о Великој Британији, треба подвући дугу традицију заштите огледних животиња, о чему је већ било речи раније. Најважнији акт који регулише коришћење животиња у огледима и за друге научне сврхе у Великој Британији усаглашен је са прописима ЕУ, а у неким елементима је и строжији у односу на директиве ЕУ. Реч је о пропису који је усвојен 1986. год. и који се назива “*The Animals (Scientific Procedures) Act 1986*”.

Традиција заштите огледних животиња дуга је и у Сједињеним Америчким Државама. Низ случајева суровости према огледним животињама средином шездесетих година 20. века резултирао је доношењем прве верзије познатог закона “*The Animal Welfare Act*” 1966. године. Овај закон, са низом измена и допуна (последња из 2007. године), на снази је у САД и данас. Закон је овластио Секретаријат пољопривреде (у функцији министарства) да регулише транспорт, продају и узгој паса, мачака, примата, замораца, хрчака и кунића намењених за научна истраживања и “друге намене”.

Десетог јуна 2009. године ступио је на снагу Закон о добробити животиња Републике Србије. Овај закон успоставља у нашој земљи систем који постоји у земљама ЕУ, односно наше законодавство усклађује са прописима земаља чланица ЕУ. Систем чине сви, од ресорног министарства, до истраживача, техничара и чувара огледних животиња. Веома важно је да се тако формира систем контроле употребе животиња у огледима.

Према важећим прописима у области заштите добробити огледних животиња:

- бол и патња животиња морају се свести на најмању могућу меру употребом анестетика и аналгетика;
- хумано и безболно жртвовање је императив;
- истраживачи морају бити едуковани за огледе *in vivo*;
- услови узгоја животиња морају се строго контролисати и прилагодити стандардима;
- принципи 3R и други етички принципи морају се строго поштовати и примењивати.

Најважнији чланови Закона који се односе на огледе на животињама, Етички савет и Етичке комисије су чланови од 33 до 52. Закон, пре свега, у члану 5 дефинише огледне животиње као све живе кичмењаке и бескичмењаке, као и њихове развојне облике. Огледе на животињама, према овом закону, могу обављати само субјекти који су уписани у посебан регистар ресорног министарства (тзв. Регистар за огледе на животињама). С друге стране, огледе на животињама одобрава ресорни министар, на основу стручног мишљења локалне етичке комисије. Посебно, хируршке интервенције на животињама обавља ветеринар или овлашћени научни радник. У складу са Законом донесени су и одговарајући подзаконски акти који ближе дефинишу поједина питања.

Правилник за рад са експерименталним животињама Универзитета у Новом Саду дефинише:

- заштићене животињске врсте,
- експерименталне процедуре (етичке и неетичке),
- принципе етичности експерименталног рада на животињама,
- оспособљеност истраживача за такав рад,
- састав и начин формирања Етичке комисије за заштиту добробити огледних животиња на Универзитету у Новом Саду,
- делокруг рада, задатке и правила рада исте, поступак добијања мишљења за експериментални рад на животињама од стране Етичке комисије,
- поступак у случају непоштовања правила рада Етичке комисије и одлука донетих на основу Правилника.

Под заштићеним животињским врстама сматрају се сви кичмењаци, осим човека, који су у стању да осете бол, патњу, страх и стрес, укључујући и њихове развојне облике.

**Етичке експерименталне процедуре** подразумевају поступке манипулације са експерименталним животињама које се користе у научноистраживачке и

биомедицинске сврхе и имају за циљ да створе нова знања из области биомедицине и тако допринесу општем развоју науке.

Интервенције на животињама којима се нарушава физичка, психичка, односно генетичка целовитост животиња може да обавља само ветеринар и овлашћени научни радник.

**Неетичке експерименталне процедуре** су све манипулације на експерименталним животињама које могу изазивати бол, патњу, трајно оштећење или смрт, а немају за циљ стварање нових знања из биомедицинских наука и не доприносе развоју науке.

У неетичке експерименталне процедуре спадају демонстрације већ познатих знања на експерименталним животињама, осим у случајевима у којима је укључивање животиња неизбежно у постизању едукативних циљева.

Уместо тога, препоручује се коришћење компјутерских симулација и других општеприхваћених дидактичких метода рада.

У високошколским установама на основним студијама дозвољено је обављати вежбе којима се не проузрокује бол, патња, страх, стрес, повреда или смрт животиње, тј. не нарушава живот и добробит, односно физичка, психичка и генетичка целовитост животиња. Употреба животиња у оквиру практичне наставе на мастер, специјалистичким и докторским студијама, у изузетним случајевима, када се процени да циљ едукације не може да се постигне на други начин, могућа је на захтев одговорног наставника, уз:

- сагласност одговарајуће катедре,
- стручно мишљење Етичке комисије и
- на основу решења надлежног министарства.

При планирању огледа на експерименталним животињама потребно је придржавати се следећих принципа етичности (тзв. 3R принципа):

- **принцип замене (енгл. *replace*):** где год је могуће, уместо експеримента *in vivo* на заштићеној врсти користити алтернативне експерименталне моделе *in vitro* (нпр. ћелијске културе, изоловани органи, микроорганизме) и компјутерске симулације;
- **принцип редукције (енгл. *reduce*):** користити најмањи могући број експерименталних животиња придржавајући се статистичких процена.
- **принцип усавршавања квалитета (енгл. *refine*):** усавршавати огледне процедуре до степена на којем је могуће потпуно избећи или умањити непријатна телесна и емоционална искуства животиња у огледу.

Осигурати коришћење здравих животиња, животиња одговарајуће врсте и узраста које морају бити прописно узгојене и чуване, и по могућству сродне. Све животиње треба набављати из регистрованих узгајалишта.

Обавезно је коришћење одговарајућих статистичких метода при процени резултата. Експериментални протокол мора да антиципира научно валидан одговор на постављене циљеве истраживања.

Истраживачи треба да буду обучени за рад на експерименталним животињама. Захтевани степен квалитетности зависи од самог експерименталног протокола.

Истраживачи су дужни да поднесу доказ о обучености за рад на експерименталним животињама (сертификат о одслушаном курсу у земљи или иностранству). Искусни истраживачи могу доказати компетентност подношењем већ објављених радова у међународним часописима. Животиње које се користе у огледима морају да се узгајају у објектима за узгој и набављају искључиво из објеката за узгој, односно објеката за снабдевање правних и физичких лица, односно предузетника који су уписани у Регистар за огледе на животињама. У огледу могу да се користе животиње које су узгајане искључиво у ту сврху.

У сврху огледа, узгајају се следеће врсте животиња:

- миш (*Mus musculus*),
- пацов (*Rattus norvegicus*),
- заморац (*Cavia porcellus*),
- хрчак (*Mesocricetus auratus*),
- кунџ (*Orictolagus cuniculus*),
- нечовеколики мајмуни,
- пас (*Canis familiaris*),
- мачка (*Felis catus*) и
- препелица (*Coturnix coturnix*).

Осим наведених а, у сврху огледа могу да се узгајају и следеће врсте животиња: домаће животиње (говеда, овце, козе, свиње, живина, копитари), птице, рибе, човеколики мајмуни и други мајмуни, други сисари.

Министарство може да одобри да се у огледима користе животиње које потичу из других објеката. Огледи се обављају у корисничким објектима. Министарство може да одобри да се оглед обавља изван корисничких објеката.

Животиње се превозе на начин који онемогућава повреде или непотребну патњу животиња, тако да:

- се дужина путовања сведе на најмању могућу меру и задовоље потребе животиња у току путовања,
- животиње буду способне да поднесу путовање,
- превозна средства буду израђена и одржавана и да се са њима управља на начин да се избегну повреде и патња животиња и осигура њихова сигурност,
- опрема за утовар и истовар буде одговарајуће дизајнирана, израђена, одржавана и да се њоме управља на прописани начин,
- лица која раде са животињама буду обучена за добробит животиња,

- се превоз до места одредишта обавља без кашњења, а услови добробити животиња редовно проверавају и одржавају на одговарајући начин,
- се животињама у току превоза обезбеди вода, храна и одмор, који квалитетом и количином одговарају њиховој врсти и величини,
- се седативи не користе на животињама које се превозе, осим ако је то нужно потребно за обезбеђење добробити животиња уз ветеринарски надзор,
- животињама буде обезбеђена довољна подна површина и висина, примерена њиховој величини и трајању путовања.

Пошиљка огледних животиња која је допремљена прима се и распакује без одлагања. Допремљене огледне животиње се прегледају, смештају у чисте кавезе или оборе и даје им се храна и вода. Обележавање допремљених животиња врши се у складу са прописима. Оболелим, повређеним или животињама које су у лошој кондицији мора да се обезбеди одговарајући смештај за појединачно и одвојено држање. Животињама мора да се, у што краћем року, обезбеди преглед од стране ветеринара или другог овлашћеног лица, у циљу пружања одговарајуће неге, а по потреби и лечења. Животиње које не могу да се опораве лишавају се живота на хуман начин.

Новопримљене животиње смештају се у изолацију, у циљу заштите осталих животиња смештених у објекту, као и заштите људи од зооноза. Трајање периода изолације одређује лице одговорно за заштиту добробити животиња, у оквиру дозвољених интервала. Временско трајање периода изолације огледних животиња зависи од врсте животиње.

У току трајања периода изолације животиње могу да се користе у огледима само ако су се аклиматизовале на нову средину и ако не представљају опасност за друге животиње и човека. Пре коришћења у огледу, свакој новопримљеној животињи мора да се обезбеди временски период потребан за аклиматизацију на нове услове, чију дужину одређује лице одговорно за заштиту добробити животиња, а у зависности од стреса којем је животиња била изложена током превоза, трајања превоза и старости животиње.

После изолације новопримљене огледне животиње смештају се у стабилне групе које су састављене од компатибилних јединки исте врсте. Животиње могу да се сместе појединачно ако постоје здравствени разлози, разлози добробити животиња или разлози огледа. После консултације са ветеринаром и лицем одговорним за заштиту добробити животиња, животиње могу да се сместе појединачно ако:

- су предузете додатне мере у циљу заштите добробити животиње,
- је тајање појединачног држања животиње сведено на најмањи потребан период,
- се одржава визуелни, звучни, мирисни и тактилни контакт са другим животињама у мери у којој је то могуће.

На крају сваког огледа, лице одговорно за заштиту добробити животиња или ветеринар одлучује о томе да ли ће се огледне животиње пустити на слободу, задржати у животу или лишити живота на хуман начин.

Огледна животиња се после обављеног огледа може пустити на слободу ако то није у супротности са принципима добробити животиње, ако су предузете све мере за очување њене добробити, ако њено здравствено стање то дозвољава и ако није опасна по јавно здравље и околину. Ако се огледна животиња одржава у животу, лице одговорно за заштиту добробити животиња мора животињи да обезбедити негу која одговара њеном здравственом стању и услове смештаја.

Ако постоји и најмања могућност да огледна животиња трпи трајне болове и патњу или ако нису испуњени услови смештаја у складу са одговарајућим правилником, огледна животиња се у што краћем року на хуман начин лишава живота.

Огледне животиње се лишавају живота на начин и средствима у складу са посебним прописима, с тим што се дубоко бесвесне огледне животиње могу искрварити, али се не смеју, без претходне анестезије, примењивати лекови који парализу мишиће пре губитка свести и лекови са курариформним ефектима, као ни омамљивање електричном енергијом без пасаже мозга.

Лешеве огледних животиња не смеју да се уклањају док се не појави мртвачка угоченост (*rigor mortis*), коју утврђује ветеринар. Одлагање, хигијенско складиштење и збрињавање лешева животиња и отпадака животињског порекла обавља се у складу са посебним прописима. Животињски лешеве и отпаци животињског порекла транспортују се до објекта за сабирање, утврђивање узрока угинућа и нешкодљиво уклањање, по правилу, одмах или најкасније у року од 12 часова у летњем периоду, односно у року од 24 часа у осталим периодима године.

Пошиљку животињских лешева и отпадака животињског порекла мора да прати потврда надлежног органа о ветеринарско-санитарном прегледу, а пошиљку животињских лешева и упут о узроку угинућа и пореклу животињског леша. После отпремања леша обавезни су чишћење, прање и дезинфекција места на коме се леш налазио, места секције и коришћене опреме и прибора. Рок чувања животињских лешева и отпадака животињског порекла у објектима за сабирање је највише 24 часа. Ако сабирање животињских лешева и отпадака животињског порекла траје дуже, сабирање се врши само у просторији која се хлади до +4° С, осим ако је обезбеђено смрзавање лешева и отпадака.

Нешкодљиво уклањање животињских лешева и отпадака животињског порекла врши се прерадом у објекту за прераду животињских лешева и отпадака животињског порекла (кафилерије). Дозвољавају се и други начини уклањања животињских лешева и отпадака животињског порекла, као што су: спаљивање у објекту за спаљивање, убацивање у јаму – гробницу, закопавање на сточном гробљу или на другом одговарајућем месту. Надлежни ветеринарски инспектор може дозволити да се нешкодљиво уклањање животињских лешева и отпадака животињског порекла врши изузетно и после рока.

#### 4.1 Институционална заштита добробити огледних животиња

Ступањем на снагу Закона о добробити животиња институционализована је и заштита огледних животиња. У циљу разматрања стручних питања и давања стручних мишљења, као и реализације пројектних задатака у области добробити животиња, предвиђено је оснивање посебне радне групе – Етичког савета за добробит огледних животиња. Поред овога, свака научноистраживачка организација и сва друга правна лица која спроводе огледе на животињама дужне су да, у оквиру своје организације или заједно са другим научноистраживачким организацијама, односно правним лицима која спроводе огледе на животињама, образују етичку комисију за заштиту добробити огледних животиња. Етичка комисија и Етички савет су места на којима се започиње са успостављањем заштите огледних животиња, а које даље штите и остале државне институције (инспекција, полиција, тужилаштво и судство).

Све организације које спроводе огледе на животињама дужне су да образују етичку комисију за заштиту добробити огледних животиња. По Закону, ове организације се могу удружити са другима које се баве овом делатности и заједно формирати етичку комисију.

Закон одређује да се Етичка комисија састоји од ветеринара хирурга, ветеринара са искуством у узгоју огледних животиња, стручњака са искуством примене статистике у истраживањима, представника удружења, односно организација чији циљеви су усмерени на заштиту добробити животиња, као и истраживача из сродних научних области.

Да би се обезбедило мишљење и особа које нису директно укључене у научноистраживачки рад, најмање трећина чланова Етичке комисије морају бити лица која нису запослена у научноистраживачкој организацији, односно другом правном лицу које спроводи огледе на животињама. Изузетно значајно место међу члановима етичке комисије имају лаици. То место припада организацијама за заштиту животиња. Присуство ових чланова је корисно за огледне животиње, али и за сам научноистраживачки рад зато што сваки затворен систем постаје подложен губитку критеријума и на тај начин спутавању напретка.

Етичка комисија утврђује начин спровођења огледа на животињама, у складу са Законом о добробити, обавља стручну контролу над спровођењем огледа на животињама, организује обуку лица која спроводе огледе на животињама, даје стручна мишљења министру о етичкој и научној оправданости спровођења огледа, подноси редовне годишње извештаје министру. Етичка комисија је дужна да без одлагања прекине спровођење огледа ако се у току спровођења огледа на животињама поступа супротно одредбама Закона о добробити и о томе обавести Министарство.

На овај начин је формирана и Етичка комисија за заштиту добробити огледних животиња Универзитета у Новом Саду.



## 4.2 Категорије инвазивности огледа на животињама

На основу степена нарушавања физичког, психичког или генетичког интегритета животиња, огледи на животињама сврстани су у следеће категорије инвазивности:

**А-категорија** – огледи који се врше на неживом материјалу, живим изолатима (ћелијске и ткивне културе) и на бескичмењацима.

**Бе-категорија** – огледи на животињама који не проузрокују осећај нелагодности код животиња или је овај осећај слабог интензитета.

**Це-категорија** – огледи који проузрокују минимални степен стреса или бола или само краткотрајни бол. После завршених огледних процедура ове категорије код животиња не сме да се испоље знаци анорексије, дехидрације, хиперактивност, сомнолентност, повећана потреба да леже, интензивна вокализација, појачана агресивност, аутоизолација, антисоцијално понашање или аутомутилација.

**Де-категорија** – огледи који проузрокују значајан степен бола код кичмењака. Ове процедуре не смеју проузроковати тежак клинички облик стреса у чијој симптоматологији преовлађују непожељне промене у понашању, одсуство самонеге, дехидрација, абнормална вокализација, пролонгирана анорексија, циркулаторни колапс, екстремна летаргија, непокретност, знаци тешке локалне и системске инфекције и др.

**Е-категорија** – експерименти који се заснивају на проузроковању бола јаког интензитета близу или изнад прага толеранције неанестезираних, свесних животиња. У већини земаља које се придржавају ове категоризације забрањено је извођење поступака Е-категорије.

## 5.0 Алтернативне методе

### 5.1 Алтернативне методе огледима на животињама

Приликом испитивања на огледним животињама, алтернативна метода би представљала нову истраживачку технику која:

- а) замењује употребу огледних животиња, уопштено,
- б) смањује број животиња у огледима и/или
- в) поправља експериментални дизајн како би изазвао што мање стреса и патње код животиња. Заправо, овакав приступ у потпуности одговара правилу „3R“.

Тумачења ових алтернативних приступа су разна: од предлога потпуног укидања рада на огледним животињама (потпуне елиминације оваквих истраживања!) до много рационалнијих, који се усредсређују на смањење употребе животиња или смањења бола и патње. Тако су данас многе алтернативне методе заправо усавршени традиционални модели! Томе су допринели многи универзитети, истраживачке институције и компаније који су уложили много времена и труда да дође до видљивог смањења броја животиња које се користе у експериментима, нарочито у последњим декадама, од када се користе ћелијске културе и ткива, у почетку углавном за токсиколошка испитивања, а данас и много шире. Развој нових визуализационих (енгл. *imaging*) техника (као што су УЗ, НМР и др.) омогућава неинвазивна испитивања на животињама, као и дијагностичких китова и хроматографских детекционих метода које су замениле употребу животиња у те сврхе (у тзв. биолошким тестовима). Бројне методе и тестови усавршени у складу са савременим потребама су саставни део истраживачких протокола у хемијској, фармацеутској, пољопривредној и др. индустрији.

Традиционално, токсиколошка испитивања се ослањају на животињске моделе који умногоме могу екстраполирати потенцијално штетне ефекте на људе. Иако обезбеђују корисне информације о безбедности испитиваних супстанци, они су прилично скупи, малог капацитета, а понекад недовољно предвидљиви/осетљиви за хуману биологију и патофизиологију (као нпр. талидомидска криза). Токсиколошка испитивања се односе на пет категорија, које не укључују подједнако употребу огледних животиња:

- специфични токсиколошки крајњи резултат (енгл. *endpoint*), као нпр. орална, интравенска (парентерална), дермална или офталмолошка токсичност (код једне – акутна токсичност, и поновљених доза – супхронична и хронична токсичност),
- репродуктивна и развојна токсичност,
- имунотоксичност (тестови сензибилизације),

- генотоксичност (мутагеност),
- карциногеност.

Бројни су *in vitro* модели који се користе у циљу алтернативног тестирања. Организми које представљају бескичмењаци, ембриони кичмењака у раној фази развоја и микроорганизми користе се углавном као замена кичмењацима или у усавршавању појединих експерименталних техника. *HET-CAM* тест (енгл. *hen egg's test – chorioallantoic membrane* – мембрана оплођеног кокошијег јајета) замењује употребу кунића у тестовима испитивања иритационог дејства супстанци. Амесов тест (који користи бактерије рода Салмонела) користи се у испитивању мутагености. Модеран математички и компјутерски (*in silico*) приступ биомедицинским испитивањима, нарочито у раним фазама, омогућава смањење броја и ефикасну замену огледних животиња.

## 5.2 Ћелијске културе и ткива

Током последњих деценија јавио се прогресиван пораст употребе ћелијских система као модела за базична испитивања и индустријску примену. Култура ћелија представља незаобилазно, готово рутинско средство у биомедицинским наукама са широким спектром примене у академским, болничким и индустријским лабораторијама. С обзиром на велик број хуманих болести, ћелијске линије као системски модели имају широк спектар примене у медицини и фармацеутској индустрији, док се испитивање утицаја лекова и различитих ксенобиотика прво издашно користи управо на овим *in vitro* системима у циљу редукције компликованих и инвазивних испитивања на животињама. Будући да су многе ћелијске културе хуманог порекла, многи тестови на њима показали су релевантније резултате у односу на традиционалне експерименте на животињама, нарочито у предвиђању токсиколошких ефеката.

Културе ћелија добијају се узимањем ћелија из животиња, биљака или хуманих субјеката, њиховим међусобним раздвајањем ензимским или механичким методама и гајењем у одговарајућем медијуму. Касније је могуће од већ постојећих ћелијских линија добити нове, модификоване сојеве. Тренутно постоји неколико хиљада добро карактеризованих ћелијских линија које су комерцијално доступне из колекција ћелијских библиотека (ATCC – *American Type Culture Collections*; ECACC – *European Collection of Animal Cell Tissue*; DSMZ – *Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH* итд.). Најзначајнија предност употребе ћелијских култура је конзистентност и репродуцибилност добијених резултата.

Појам **примарна култура** односи се на ћелије које су **свеже изоловане из ексцидираног ткива из организма**, раздвојене механичким или ензимским путем, које се умножавају у лабораторијским условима тј. у посудама са одговарајућим медијумом док не заузму сав расположив простор, одн. док не постигну **конфлуентност**. Након тога се врши **пасажирање**, тј. пренос ћелија у дугу посуду са свежим медијумом, што се назива и **супкултура**. С обзиром да се добијају из свежег ткива, примарне ћелијске културе немају нарушену ћелијску структуру и

физиолошко/биохемијске процесе, због чега имају бројне предности. Међутим, главна ограничења у њиховом коришћењу су високи трошкови добијања, кратак животни век, мала пролиферативна способност, тешкоће у изолацији хомогене ћелијске популације, тј. контаминација ћелијама другог порекла и фенотипа.

Нормалне ћелије имају ограничен регенеративни капацитет (у просеку 50–70 деоба) након чега се јавља старење и смрт ћелија. Како би се избегао овакав ограничен регенеративни потенцијал примарних ћелијских култура, помоћу процеса трансформације, ћелије избегавају старење и постају бесмртне. Процес трансформације може да се јави спонтано или може да буде индукован хемијским путем или помоћу вируса, активацијом онкогена. Након трансформације, ћелије постају имортализоване (бесмртне), могу да се деле велик број пута и тада настаје **континуирана ћелијска линија**. Континуиране ћелијске линије су комерцијално доступне, лаке за одржавање и пропагирање, могу да се умноже у великој количини, замрзну и одмрзну и поново користе. Међутим, у процесу трансформације ове ћелије мењају поједине особине, нису фенотипски идентичне у односу на примарне ћелије, а поједине ћелијске линије су само маргинално сличне са оригиналним примарним ћелијама. Новим технолошким методама је омогућен процес манипулације гена, чиме се омогућава повећана експресија жељеног гена у ћелијама, или супротно, „*knock-out*“ методама искључује се функција циљаних гена, чиме се ћелијске линије могу додатно модификовати.

*In vitro* ћелијски модели су незаобилазна средства у процесу испитивања токсичности супстанци током скрининга у процесу претклиничке фазе развоја лекова. Токсичност одређене супстанце може се испитати помоћу једног од бројних *in vitro* тестова цитотоксичности. Испитивање цитотоксичности/вијабилности ћелија након излагању одређеној супстанци се користи као предиктивни тест за откривање потенцијално токсичног или цитостатског дејства испитиване супстанце. Захваљујући овим *in vitro* тестовима, уколико се покаже нежељена токсичност, може се зауставити даље *in vivo* испитивање супстанце на лабораторијским животињама, или усмерити испитивања у потпуно другом смеру.

Супстанца са **цитотоксичним** својствима може да доведе до краткотрајног смањења вијабилности ћелија покретањем механизма ћелијске смрти. Супротно, супстанца са **цитостатским** својствима утиче на дуготрајно преживљавање ћелије и механизме пролиферације, без значајне иницијалне цитотоксичности. Тако постоји неколико врста тестова којима се утврђују акутни краткотрајни, цитотоксични и хронични дуготрајни, цитостатски ефекти:

- **мерење нивоа цитосолних ензима** (најчешће LDH), у цитотоксичним испитивањима која се заснивају на нарушавању интегритета ћелијске мембране након краткотрајног утицаја испитиване супстанце и ослобађању цитосолних ензима;

- **тест вијабилност ћелија** која се може испитати спектрофотометријским или фотоколориметријским тестовима преузимања/избацивања одређених боја као што је нпр. **тест избацивања типан плавог**, боје која се задржава у мртвим ћелијама, а активно избацује из вијабилних;

- **тест преузимања боје неутрално црвено** се заснива на способности вијабилних ћелија да преузимају ову боју и представља стандардни тест за

испитивање фототоксичности супстанци на култури фибробласта миша; овај тест тачно квантификује и предвиђа цитотоксичност козметичких препарата и шампона, чиме се елиминише потреба за *in vivo* тестом испитивања иритације очију кунића;

- **колориметријски МТТ тест** за одређивање вијабилности ћелија заснива се на способности живих ћелија да преузме ову боју и редукују је у плави формазан и веома се често користи за испитивање цитотоксичности супстанци;

- **мерење интрацелуларне концентрације АТР-а** као маркера ћелијског преживљавања широко се примењује приликом испитивања дуготрајног ефекта супстанци.

Поред ових метода, за одређивање цитотоксичности и вијабилности ћелија постоје **тестови за испитивање типова ћелијске смрти**, при чему се најчешће користе тестови за детекцију различитих стадијума апоптозе: *Western blot* или ELISA методе за одређивање каспаза, флуориметријско одређивање промена у структури мембране, испитивање фрагментације DNA гел електрофорезом или TUNEL методом, мерење деполаризације митохондријалне мембране, ослобађање цитохрома Це итд.

За разлику од свих претходно наведених цитотоксичних тестова, **клоногени тест** се користи за испитивање дуготрајног, цитостатког ефекта супстанце, мерењем пролиферативне способности појединачне ћелије да формира клон и видљиву колонију. Овај тест се сматра златним стандардом у *in vitro* испитивању цитостатика с обзиром да обухвата све облике ћелијске смрти и утицај на ћелијски циклус тј. способност деобе ћелија. Уколико се утврди да испитивана супстанца утиче на ћелијски циклус, помоћу FACS анализе ћелија са обележеном DNA се може утврдити у којој фази циклуса долази до ћелијског ареста.

Тако, бројни су разлози за употребу ћелијских култура у истраживањима, као на пример:

1. испитивање физиолошких и биохемијских механизма,
2. испитивање хемосензитивности на различите супстанце (потенцијалне нове лекове),
3. испитивање квалитативних и квантитативних промена у структури генског материјала и испитивање експресије гена (употребом гел електрофорезе – *Comet* есеј, микроереј методама, секвенционирањем DNA, RT-qPCR методе итд.),
4. манипулација генетским материјалом (увођењем нових секвенци генетског материјала (трансфекцијом или вирусном трансдукцијом) или “искључивањем” гена),
5. испитивање експресије протеина (гел електрофореза, ELISA методе итд.),
6. испитивање активности протеина (SDS-PAGE електрофореза, тестови за испитивање активности мембранских протеина одговорних за преузимање и

избацивање лекова из ћелије, испитивање индукције цитохрома у микрозомима итд.); напредак у развоју претходно наведених “омик” технологија (геномика, транскриптомика, протеомика и метабономика) и њихова употреба у *in vitro* ћелијским системима омогућава детаљну анализу утицаја супстанци на молекуларном нивоу, чиме се може унапредити развој циљане терапије али и предвидети потенцијална токсичност и нежељена дејства чиме се на време ограничавају даља испитивања;

7. испитивање ћелијске миграције и инвазије туморских ћелија (“*Scratch assay*”),

8. испитивање неоангиогенезе,

9. испитивање и предвиђање ресорпције супстанци након *per os* примене (помоћу Сасо-2 ћелијске линије, као модела интестиналане баријере),

10. испитивање и предвиђање ресорпције и метаболизма супстанци након инхалаторне примене (помоћу А549, Calu-3 и других ћелијских линија),

11. испитивање и предвиђање транскорнеалне ресорпције (помоћу ћелијске културе корнее зеца),

12. предвиђање метаболизма у јетри (помоћу Нер-G2 и других ћелијских линија пореклом од хепатоцита),

13. предвиђање реналне екскреције (помоћу Саки-1, LLC-РК1 и других ћелијских линија),

14. испитивање метаболизма и интеракција лекова употребом супцелуларних фракција (најћешће микросома али и других органела). Уобичајени тестови цитотоксичности у комбинацији са биоинформатичким методама су веома корисни у дефинисању интеракција испитиваних супстанци одн. откривању синергистичког или антагонистичког дејства.

Употреба ћелијских линија има бројне **предности** у биомедицинским наукама, биоинжињерингу и индустрији:

- присуство релативно јефтених различитих ћелијских линија на тржишту,
- релативно лако одржавање и манипулација културом,
- ниски трошкови у поређењу са испитивањима на животињама,
- широк спектар и лака доступност комерцијалних производа и опреме намењених узгоју и испитивању ћелијских линија,
- успостављање и комерцијализација молекуларних техника које омогућавају генетску манипулацију са ћелијама (трансфер гена, инсерције, делеције, гашење гена итд),
- манипулација експресије гена и протеина,

- употребом ћелијских култура омогућено је ћелијско репрограмирање, тј. ретроградна диференција соматских ћелија до псеудоембрионалног стања (реверзија) и накнадна индукција диференцијације у жељеном правцу. Ћелијским репрограмирањем је олакшано добијање ћелијских популација, чије је добијање класичним путем било компликовано за *in vitro* испитивања (нпр. неурони, олигодендрицити и др.).

Међутим, постоје и **недостаци** ћелијских *in vitro* модела:

- ћелијске културе представљају изоловане системе који могу да репрезентују само један орган или ткиво;

- услови средине у којима се узгајају ћелијске културе често не репрезентују услове у живом организму; ово укључује концентрацију кисеоника, електролита и хранљивих суплемената у медијуму, присуство серума анималног порекла у комбинацији са хуманим ћелијским линијама итд.; поред тога, услови у којима се ћелије узгајају нису хомеостатски (изненадна замена медијума, потрошња нутријената, нагомилавање продуката метаболизма...);

- ћелијске културе се најчешће састоје од само једног типа ћелија (нема интеракција ћелија–ћелија, ћелија–екстрацелуларни матрикс иако се у новије време ради на унапређењу ових система и стварању комплекснијих “ткивних” струкура), ћелије су често моноклоналне и измењених особина услед трансформације и процеса узгајања, што може довести до различитих резултата у поређењу са истим ткивом или органом *in vivo*;

- услед недостатка виших нивоа биолошке организације, *in vitro* ћелијски системи сами по себи не могу да репрезентују модел организма у целости;

- с обзиром да је токсичност супстанце често специфична за орган, понекад и за врсту, мултифакторски процес, скрининг типа „један модел за све“ (енгл. *one-size-fits-all*) не сме да дискриминише ове варијабле приликом интерпретације резултата и транслације на *in vivo* системе.

### 5.3 *In silico* алтернативне методе коришћењу животиња у огледима

*In silico* методе, у ширем смислу, подразумевају примену компјутерских софтвера или коришћење компјутерске симулације у експерименталним истраживањима. Ове методе се веома често користе за планирање *in vitro* и *in vivo* експеримената и анализу снаге статистичког теста (енгл. *power analysis*) како би се побољшао дизајн тих експеримената, за статистичку анализу добијених резултата у истраживању, као и за предвиђање исхода у *in vivo* тестовима на основу резултата *in vitro* експеримената (*in vitro*–*in vivo* корелација) применом предиктивних модела.

Осим у оквиру других истраживања, *in silico* методе се данас у великој мери користе и самостално, превасходно у процесу развоја нових лекова. Током

последње две деценије значајне технолошке иновације су довеле до развоја потпуно аутоматизованих процеса контролисаних микропроцесорима, који се означавају као скрининг великог броја једињења (енгл. *high-throughput screening*, HTS). Основни циљ ових процеса јесте да се од великог броја једињења изабере само она која имају највише шансе да се покажу као ефикасна у каснијим фазама развоја лекова.

Већина *in silico* метода базирана је на претпоставци да структурно слична хемијска једињења имају сличну активност, што овим методама даје предиктивни карактер. Бројне софтверске технике које су развијене у циљу олакшавања процеса развоја лекова уопштено се могу поделити у технике које су засноване на математичком израчунавању молекулских особина самих једињења и на технике које се заснивају на проучавању интеракција између једињења и њихових циљних протеина. Ове две главне категорије *in silico* предвиђања биолошке активности новосинтетисаних или већ постојећих једињења углавном се означавају као испитивања квантитативног односа структуре и активности (енгл. *structure-activity relationship*, QSAR) и као *docking* студије.

Однедавно су *in silico* студије, поред *in vitro* испитивања, прихваћене у законодавству Европске уније као равноправна алтернатива коришћењу животиња у огледима. Регулатива о регистрацији, евалуацији, ауторизацији и ограничавању хемикалија (*Regulation concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals* – REACH) прихваћена је од стране Европске комисије како би се побољшала заштита људског здравља и животне средине с обзиром на опасности које могу представљати хемикалије, а уз истовремено повећање конкурентности хемијске индустрије унутар Европске уније. Осим тога, REACH подстиче развој других метода за процену ризика од нових једињења, чиме би се смањио број огледа на животињама, и конкретно спомиње употребу QSAR анализа као поузданих метода процене токсиколошког ризика једињења. Осим у предвиђању токсичних ефеката, *in silico* методе се данас у великој мери користе за предикцију физичко-хемијских особина супстанци, фармакокинетике/токсикокинетике (апсорпције, дистрибуције, метаболизма и елиминације – АДМЕ), али и самог деловања (фармакодинамике) једињења.

Предикција физичко-хемијских особина је веома важна, с обзиром да физичко-хемијска својства једињења одређују њихову фармакокинетичку и метаболичку судбину у организму, а добро разумевање ових особина, као и могућност њиховог мерења и предвиђања, од кључног значаја су за успешан развој нових лекова. Познато је да је су физичко-хемијске особине супстанци, као и биолошка активност, у директној вези са молекулском структуром. Управо из тог разлога велики број истраживања у последњим деценијама има за циљ дефинисање **везе између структуре молекула и физичко-хемијских особина једињења** (енгл. *quantitative structure-property relationship*, QSPR).

Предикција фармакокинетике/токсикокинетике је важна јер лоше фармакокинетичке особине представљају главни узрок одустајања од даљег испитивања одређене супстанце у току процеса развоја лека те је веома битно у што ранијој фази проценити апсорпцију, дистрибуцију, метаболизам и елиминацију (ADME) једињења како би се избегли изузетно велики трошкови испитивања. До данас су развијене бројне *in silico* технике за предикцију транспорта лека у организму, односно апсорпције и дистрибуције, метаболичке стабилности и



могућих метаболичких путева, афинитета ка цитохромима P450, а постоје и софтвери за комплетно **физиолошко фармакокинетичко моделовање** (енгл. *physiologically-based pharmaco-kinetics*, **PBPK**). Оно представља софтверску симулацију АДМЕ процеса у организму. Методе РВРК моделовања засноване су на сету претходно скупљених информација о фармакокинетици великог броја једињења добијених у *in vivo* експериментима на животињама. РВРК модели укључују анатомско-физиолошке карактеристике организма, као и физичко-хемијска својства испитиване супстанце.

Као што је већ раније напоменуто, молекулска структура, осим што одређује физичко-хемијске особине једињења, у директној је вези и са биолошком активношћу. Још крајем 19. века је утврђен принцип „кључа и браве“ између ензима и супстрата, односно постало је јасно да мора да постоји тродимензионална комплементарност између одређеног молекула и циљног рецептора или ензима да би се испољио ефекат. Касније су идентификоване поједине хемијске групе у оквиру молекула које су неопходне за одређену биолошку активност, а последњих година су развијени модели који врше анализу **квантитативне зависности између структуре молекула и његове биолошке активности**, тзв. *quantitative structure-activity relationship* – **QSAR** технике које су уврштене у REACH легислативу као *in silico* методе које треба примењивати, пре свега у циљу предикције токсичних ефеката. Са развојем хемоинформатике и формирањем база података које обухватају изузетно велики број једињења, као и са открићем структура великог броја протеина у организму, развијене су методе *in silico* скрининга помоћу којих могу да се предвиде потенцијална фармаколошка или токсиколошка места дејства.

**QSAR студије** су најчешће примењиване *in silico* анализе које су засноване на хемометријским методама. Хемометрија је мултидисциплинарна научна област која користи научна сазнања из области хемије, математике, информатике и статистике како би омогућила ефикасно и једноставно одређивање особина, предвиђање активности или класификовање једињења у неку од категорија на основу добијених података. Као и код QSPR анализа, основни циљ је да се на основу израчунатих молекулских дескриптора, као и експериментално одређене активности једињења, применом адекватног статистичког модела дође до математичке релације између ове две групе података, помоћу које би се даље могла предвидети активност нових једињења сличне структуре.

Најчешће коришћени експериментални подаци у оквиру QSAR студија су полумаксималне ефективне концентрације ( $EC_{50}$ ) или средње инхибиторне концентрације ( $IC_{50}$ ) у случају инхибиције одређених ензима или цитотоксичног ефекта, које су углавном добијене у *in vitro* тестовима. Теоријске информације о структури молекула софтверски се претварају у нумеричке вредности, односно молекулске дескрипторе, који се затим селекују уз помоћ различитих хемометријских метода и они који најбоље одговарају, укључују се у QSAR модел.

Добијени математички модел може да предвиди активност нових молекула, а тачност предикције зависи од тога колико је тај нови молекул структурно сличан молекулима на основу којих је развијен модел. Добијени модел може такође да послужи у оптимизацији водеће супстанце у процесу развоја лека. Када постоји квантитативни однос између структуре и активности, могуће је предложити структурне модификације одређеног једињења како би се повећала његова активност.

**Предикција фармаколошког места дејства** у организму представља један од главних циљева у процесу развоја лека, који је у многоме олакшан након креирања великих база хемијских једињења и њихових биолошких ефеката. Најпознатије базе ових података су ChEMBL, PubChem, DrugBank, Chem-Bank и друге. Све *in silico* методе за предикцију фармаколошког места дејства се могу поделити на методе које узимају у обзир искључиво особине лиганда, односно потенцијалног лека (енгл. **ligand-based**), и методе које се заснивају на проучавању интеракција између једињења и њихових циљних протеина (енгл. **structure-based**).

Са развојем геномике и протеомике развили су се и нови, комбиновани *in vitro* – *in silico* приступи за идентификацију механизма дејства и откривање токсичних ефеката, од којих је веома значајна тзв. **мапа повезаности** (енгл. **connectivity map**). Ова метода се заснива на одређивању профила генске експресије одређеног једињења или одређених стања организма. Формиране су две велике базе – DrugMatrix и BioExpress, које садрже информације о профилима генске експресије различитих хуманих и животињских ткива, као и бројних ћелијских линија, након третмана бројним хемијским једињењима.

Изражени токсични ефекти представљају чест узрок одустајања од даљег испитивања одређене супстанце у току процеса развоја лека. Није редак случај да поједина нежељена дејства лекова буду примећена тек након регистрације и пуштања лека у промет. Применом *in silico* предиктивних метода могуће је у раној фази предвидети поједине токсичне ефекте, односно одбацити та једињења у раној фази истраживања, чиме се смањују трошкови процеса развоја лека, употреба животиња у огледима, а смањује се и ризик да се одређена супстанца која може испољити неко токсично дејство примењује код људи. Регулатива Европске уније (REACH) и САД (ToxCast) подстичу развој алтернативних *in silico* метода за процену ризика од нових једињења како би се смањио број огледа на животињама.

Поуздано предвиђање токсичности је могуће само ако се одређени ксенобиотик стави у контекст целог организма, односно треба имати у виду могућност биоактивације јер велики број токсичних ефеката потиче од метаболита. Стога се предикција токсичности често врши комбинованим моделима који узимају у обзир и фармакокинетику, који се најчешће означавају као ADMET или ADME/Tox модели.

Постојеће *in silico* методе за процену токсичности могу се поделити у две основне групе – методе засноване на експертним системима и методе засноване на статистичком моделовању, односно QSAR или, како се понекад означавају, **QSTR** (**quantitative structure-toxicity relationship**) методе.

Иако су се *in silico* методе показале као веома успешне на бројним примерима, оне ипак имају и **недостатке**. Основни недостатак јесте њихова недовољна стандардизација. Општи је став да *in silico* методе морају да се спроводе према тачно утврђеним процедурама, баш као и биолошка претклиничка испитивања или клиничке студије, као и да је неопходно дефинисати начин валидације ових тестова, односно дефинисати начине одређивања тачности, прецизности, репродуцибилности, лимита детекције итд. Модели за предикцију различитих својстава молекула се непрестано усавршавају и јасно је да ће са временом заузети још значајније место у развоју лекова, пестицида и других хемикалија.

## **6.0 Здравствени мониторинг особа које раде са лабораторијским животињама**

Особе које су задужене за добробит и рад са лабораторијским одн. огледним животињама (ветеринарски техничари, ветеринари, истраживачи, хигијеничари...) изложене су веома различитим условима рада, како у затвореним (виваријум, узгојне јединице...), тако и у отвореним системима (природна станишта и сл.). Виваријум и остале просторије у његовом склопу и склопу истраживачке институције представљају средину где особље и животиње проводе дуго времена у непосредној близини и интеракцији те су ти радници изложени широком дијапазону и интензитету биолошких, физичких, хемијских и психосоцијалних здравствених ризика. Они у значајној мери могу да варирају у зависности од врста истраживања и намене огледних јединица те их је потребно што прецизније предвидети и спречити као и утврдити мере за поступање у случају нарушавања здравља и озлеђивања.

Као најчешћи поремећаји здравља особа (радника) задужених за рад са лабораторијским животињама (тзв. професионалне болести овог особља) забележени су алергије и болести дисајних органа, инфективне болести (зоонозе), као и повреде услед дејства физичких и хемијских средстава.

### **6.1 Алергијске реакције, астма и друге болести дисајних органа**

У раду са лабораторијским животињама могу се развити различити симптоми алергијских реакција, од кијања, цурења носа, упале носне слузнице, сузења, упале коњунктиве и отока капака, свраба и дерматитиса, па до најтежих – анафилактичке реакције и тешких кожных реакција. Астма и друге болести дисајних органа, који се углавном манифестују отежаним дисањем (са погоршњима у току ноћи), шиштањем у грудима, сувим кашљем, такође се могу испољити. Алергије се најчешће јављају код особа које су изложене алергогеним протеинима велике масе који су присутни у животињском урину (нарочито код мишева), перути/крзну, пљувачки, као и у простирци, храни, буђи или инсектима. Ендотоксини присутни у ваздуху (аеросолизовани током рада са животињским материјалом), обично из простирки и прашине у просторијама где лабораторијске животиње бораве, представљају значајан фактор у развоју болести дисајних органа и поремећајима дисајне функције. Нека истраживања су показала да су чешће алергије код особа које раде на кунићима и мишевима у односу на остале глодаре или примате.

Смањењу ризика од развоја алергија доприноси проналазак и примена алтернативних модела за истраживање, замена врсте животиње мање „алергогеном“. Значајна је и употреба индивидуалних кавеза вентилираних ХЕПА филтерима уз примену ХЕПА филтера и добре вентилације у ситемима/просторима где се врши чишћење кавеза и одржавање хигијене опреме за лабораторијске животиње и одлаже њихов отпад. Током рада са животињама помаже смањење густине животиња у смештају/кавезу, тзв. „влажно“ бријање/шишање (када је то

део процедура), рад у биолошки безбедним ламинарним коморама и друга усавршавања процедура. Здравствени надзор особа које су изложне овом ризику у виду редовних провера нпр. упитником или прегледа – алергијских и плућних тестова, током прве 2–3 године може допринети раном препознавању овог проблема и његовом решавању (превенцији, лечењу, премештању на друго радно место).

## 6.2 Инфективне болести – зоонозе

Зоонозе су инфективне болести које се могу преносити између човека и животиња те представљају значајан здравствени ризик код особа које раде са лабораторијским животињама. Инфективни узрочници се значајно разликују међу појединим врстама животња, као и по начину на који могу доспети у људски организам.

Инфекције могу настати код директног контакта коже и слузница (нпр. ока) са инфективним узрочником присутним код животиње (дерматофити, ектопаразити) одн. у њеним излучевинама, или услед озледе контаминираним инструментима (убоди игала, посекотина од скапела), као и ране од уједа животиња или огреботина. Тако се могу пренети патогени као нпр. *Pasturella* (најчешће код уједа и огреботина од паса и мачака), *Bartonella henselae* (изазива тзв. болест мачијег огреба), Бе-вирус (*Macacine herpesvirus 1* – узрочник фаталног енцефаломијелитиса, након уједа макаки мајмуна), вирус беснила и *Clostridium tetani* код уједа заражене животиње и други. Инхалацијом патолошког узрочника (у облику спора, као аеросол биолошког материјала – нпр. урина, у прабини простирке код чишћења) могу настати инфекције као што су: туберкулоза (изазвана са *Mycobacterium spp.*), кју (Q) грозница (изазвана са *Coxiella burnetii*, углавном присутна код оваца), хеморагијска грозница са бубрежним синдромом или плућни ханта синдром (изазвани ханта вирусом, углавном присутан код глодара), инфлуенца, и друге инфекције. Перорални унос (ингестија) узрочника попут токсоплазме, *Shigella spp.*, *Salmonella spp.*, *Campulobacter spp.*, *Giardia spp.* доводе до обољења дигестивног тракта као и системских инфекција. Рад на животињама код којих се испитују/примењују хумани крвни деривати, хумани туморски ксенографти, ткива оболелих од ХИВ-а у циљу добијања модела ХИВ обољења, представљају додатни биолошки ризик од инфекција ХИВ и хепатитис Бе-вирусом.

Елиминација и смањење ризика од већине зооноза, постигнута у последњим декадама, превасходно је резултат опредељења научноистраживачких институција за узгој, набавку и употребу лабораторијских животиња познатог здравственог стања и провереног порекла (из познатих узгајивачница), као и рад са врстама које се одгајају у условима без ризичних патогена. Интензиван микробиолошки надзор у виваријумима, избегавање високоризичних врста (дивље животиње), мере за отклањање/смањење биолошког ризика (употреба кабинета са ХЕПА филтерима, процедуре које смањују контакт са биолошким материјалом потенцијално инфицираних животиња, као и рад са њима), брзе мере прве помоћи и збрињавања, као и даљег лечења, код повреда од стране животиња (уједи, огреботине...) доприносе повећању безбедности у раду са огледним животињама. Специфичне

превентивне здравствене мере подразумевају да имунокомпромитоване особе (особе са смањеним имунолошким одговором услед нпр. хемотерапије, ХИВ инфекције, имуносупресивне терапије) треба да буду под посебним здравственим надзором или се саветује да избегавају рад са ризичним факторима (нпр. животињама где је могуће присуство салмонеле, шигеле и др. инфективних агенаса). Особе које раде са нечовеколиким приматима морају се редовно контролисати на *M. tuberculosis*, као што морају бити вакцинисане против рубеле, јер су колоније ових животиња нарочито осетљиве према овим патогенима. Такође, имунизација против беснила, тетануса, хепатитиса Бе и других инфективних болести за које постоји, неопходна је као заштита самих радника у ситуацијама када су изложни ризику од тих болести. Обука особља и тренинг лабораторијских животиња такође спада у факторе који смањују ризик од повређивања и задобијања инфективних болести.

### **6.2.1 Мере/поступци код акутног инфективног ризика**

У случају уједа, огреботина и/или изложености/контакта са (зараженим) телесним течностима (урин, пљувачка ..) треба предузети одговарајуће мере прве помоћи. Најопаснија ситуација је у случају фаталних инфективних болести (изазваних вирусом Бе код заражених макаки мајмуна или код беснила), али и у сваком другом случају треба приступити потпуним мерама заштите озлеђене особе. Рану/слузнице треба одмах опрати великом количином текуће воде, а у случају да је запрљана (биолошким материјалом као што је фецес, прљава простирка, земља...) и детергентом (најбоље са додатком неког антисептичког средства). Такође би било добро да се пре бандажирања стерилном газом и завојем озледа испере и антисептичким средством (водоник-пероксид, раствор бензалконијум хлорида – асепсол, раствор јода – повидон јодид, опрез! – не код алергичних на јод) и особа упути у одговарајућу здравствену установу на даљи третман. У зависности од животињске врсте и повреде, спроводе се даље мере лечења и надзора од стране надлежног лекара коме се обавезно угрожена особа мора јавити. Тако је могућа примена антивиралних лекова, имуноглобулина, антибиотика, као и даља нега и лечење ране и здравствени надзор.

### **6.3 Физичке повреде**

Немали број ризичних ситуација у раду са лабораторијским животињама може резултирати настанком физичких повреда. Свакодневна бригаа о њима, одржавање хигијене у објектима за смештај и узгој лабораторијских животиња, транспорт, рад/учешће у тренинзима и огледима представљају активности са значајним ризицима који могу резултирати физичким повредама.

У зависности од врсте животиња и капацитета у којима су смештене, различите ситуације могу бити узроци физичких оштећења. Повећани ниво буке

који често постоји у просторима где се перу кавези или локализована постројења за добијање енергије захтева превентивну примену средстава за заштиту слуха радника. Често и вокализација појединих животиња (пси, свиње) може бити веома бучна. Физички послови који укључују значајно оптерећење на коштаноглобни систем (подизање терета, послови који захтевају стално/дуготрајно понављање) могу довести до његовог оптерећења, кумулативне трауме и последичних промена (нпр. тендинитис, лумбални синдром). Случајне повреде настале падовима, оклизнућима на влажним/мокрим површинама (нпр. код изливања урина и других течности) такође представљају здравствене ризике, као и руковање апаратима/инструментима под високим притиском (нпр. аутоклав), врелим телима, оштрим (инфицираним) објектима (игле, скалпели, гиљотина за мале глодаре). Најчешће физичке повреде настале непосредно од лабораторијских животиња су угризи и огреботине (којима се могу пренети и инфективне болести), нарочито међу особљем које се обучава или има мање од две године искуства у том послу.

Тренинг и обученост особља за послове који се обављају у смештајним објектима за лабораторијске животиње и током огледа, аутоматизација радњи, ротације радника на физички оптерећујућим пословима, мере превенције биолошког ризика (једнократна употреба инструмената, контејнери за посебне намене у случају њиховог уклањања...), периодични здравствени прегледи (слуха) спадају у значајне мере превенције физичких повреда.

#### **6.4 Хемијски ризици**

У зависности од радног задатка и/или истраживања, изложеност особа разним врстама хемијских материја се може десити удисањем (инхалацијом), ингестијом, непосредним контактом преко коже и слузница, као и перкутаном инокулацијом.

Дезинфицијенси и средства за стерилизацију, неопходни у хигијени простора и опреме, често изазивају иритацију и оштећења дисајних путева (удисањем пара) као и у непосредном контакту са кожом и слузницама те је поред прописаног начина употребе (одговарајуће концентрације или разблажења, начина примене) неопходна и употреба заштитне одеће и опреме (рукавица, наочара, маски). Неки од њих поседују особину запаљивости те је неопходно пратити упутства о руковању и чувању.

Гасови који се користе у анестезији, као и у еутаназији, морају се примењивати у строго контролисаним условима (исправној опреми) јер свако „изливање“ у радни простор представља ризик по особље које га примењује, осим што умањује и укупни учинак у постављеној процедури (пожељно је поштовање система за „одлагање/отклањање“ изливеденог гаса). Тако азотни оксид може имати за последицу смањење фертилитета особља, до појаве спонтаног абортуса у случају трудноће. Примена угљен-моноксида може имати и фаталне последице у случају неисправне опреме или њеног неправилног руковања. Због своје токсичности и запаљивости етар више и није у употреби.

Инсектициди који се користе у објектима за лабораторијске животиње (нпр. против крпеља, ваши и других инсеката) носе одређене ризике у зависности од врсте активне материје, концентрације и начина примене. За сва хемијска средства је потребно да постоје поуздани подаци о токсичности, ризику, начину примене, поступцима у случају изливања/тровања, одлагању (нпр. Лист о безбедности енгл. *Material Safety Data Sheets* – MSDS или *Safety Data Sheets* – SDS) и да свакоме буду доступни.

Обука о руковању хемијским материјама, периодични тренинзи, доступна упутства и процедуре о њиховој употреби представљају најбоље начине да се превенирају и смање здравствени ризици код њихове употребе.

## 6.5 Разно/остало

Истраживања која укључују употребу лекова (било као тест супстанце одн. референце, у циљу еутаназије, изазивања анестезије, аналгезије и других стања код огледних животиња) носе посебне ризике од потенцијалне злоупотребе лека од стране особља/истраживача. Нарочит ризик чине средства која могу изазвати зависност (седативи, опијатни аналгетици, дроге). Зато је неопходан надзор потрошње лека током истраживања, као и тестирање особља у случају сумње на злоупотребу супстанце.

Психосоцијални стрес, у виду поремећаја понашања и емоција (као што су: депресија, летаргија, промена апетита, несаница, раздражљивост, смањење концентрације итд.) током рада са лабораторијским животињама може такође представљати значајан здравствени проблем. Обично се јавља код особа које су укључене у поступке еутаназије, затварања животиња, хватања дивљих животиња, извођења различитих (емоционално) „тежих“ експерименталних процедура, услед емоционалног везивање са животињама код дуготрајних истраживања, али може настати и услед немогућности разговора о послу са особама које јако бране права животиња и осуђују све који су укључени у огледе на животињама. Нарочито тешко се подноси рад са нечовеколиким мајмунима, када су животиње болесне или угину. Правовремено препознавање поремећаја који указују на психосоцијални стрес и упућивање особе на саветовање (са нпр. психологом, лекаром), боља едукација и тренинг, укључивање помоћника у извођење процедура могла би бити решења за овај проблем.

## 7.0 Биолошке карактеристике лабораторијских животиња

При избору огледне животиње морају се узети у обзир сви фактори који могу утицати на квалитет резултата који се од огледа очекују, али и могућности, техничка опремљеност, економска исплативост и слично. Уколико је циљ огледа добијање резултата који се могу применити и на људе, тежи се да се бирају животињске врсте које су морфолошки и физиолошки сличне човеку. На пример, уколико се испитује физиологија варења, може се као огледна животиња користити свиња, чија грађа желудачно-цревног тракта је доста слична човековом. Међутим, уколико је због статистичке поузданости добијених резултата неопходно користити већи број огледних животиња, економски фактор добија на значају, па се тада, обично, користе лабораторијске животиње. се

Под лабораторијским животињама подразумевају мање животињске врсте које су изабране и гајене у лабораторијским популацијама и код којих не долази до миграције гена. Њихова превасходна намена је коришћење за научна истраживања и стручне анализе. Животиње које се најчешће користе као лабораторијске су лабораторијски миш, лабораторијски пацов, заморац, кунић, хрчак, али и друге огледне животиње као што су поједине врсте сисара (пас, мачка) и птица (голубови, домаћа живина).

Животиње које се користе као лабораторијске не смеју бити високоспецијализовани сисари и морају имати познату генетску конституцију. Потребно је да буду релативно малих телесних димензија, да се брзо размножавају и да су довољно отпорне према тежим обољењима. Такође, веома је важно да њихова цена није превисока те да постоји могућност њиховог узгоја или набавке.

Употреба лабораторијских животиња је врло широка. Користе се у дијагностици, испитивању токсичности, производњи биолошких препарата, испитивању утицаја различитих физичких фактора (зрачење и сл.), контроли фармацеутских производа, као и у оквиру научноистраживачког рада.

Познавање основних морфолошких и физиолошких карактеристика, као и биологије ових животиња предуслов је за рад са њима и успешно извођење огледа. Лабораторијске и огледне животиње могу се поделити на хомеотермне (сисаре и птице) и пойкилотермне (гмизавце, водоземце, рибе).

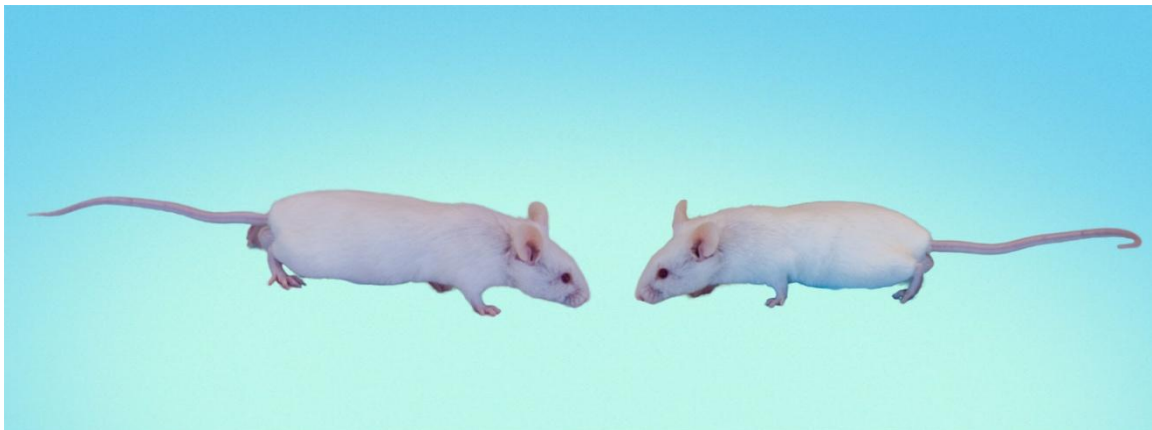
### 7.1 Миш (*Mus musculus*)

Најчешћа животиња која се користи у лабораторијском раду је миш. Постоји више разлога за ово: мала телесна величина, велика плодност, није специјализован, лако се гаји у кавезу а представља најдоступнијег и најјефтинијег лабораторијског сисара. Постоји око 1000 генетски дефинисаних и чистокрвних сојева мишева између којих постоје значајне разлике. Мишеви имају 40 хромозома. Животни век миша износи од 1 до 2 године, али може бити и више.



## Морфолошке карактеристике

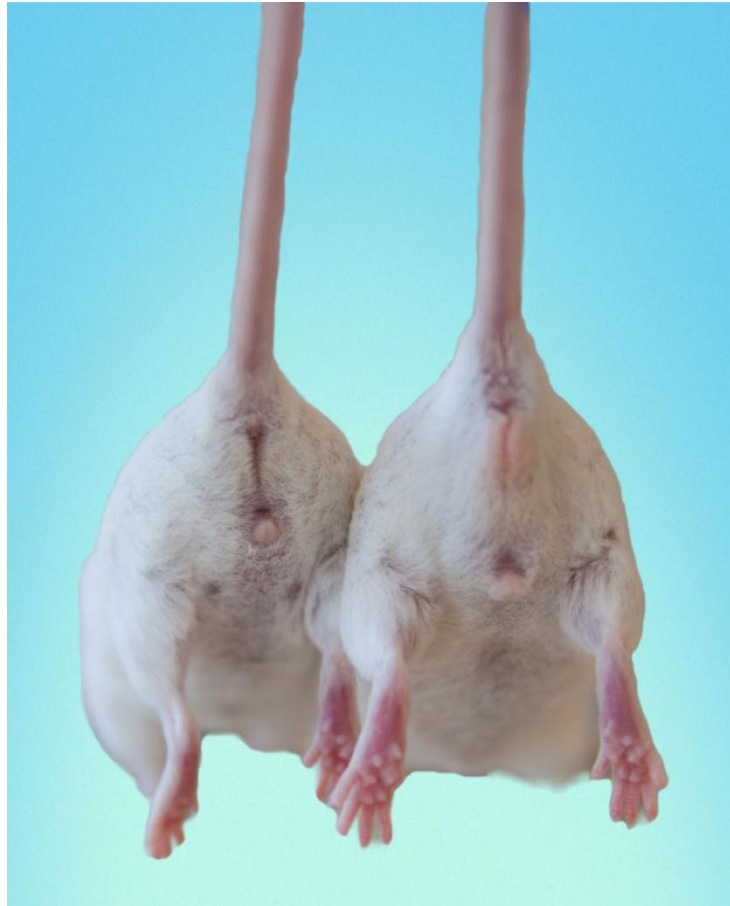
Већина сојева лабораторијских мишева је албино – бели миш (Слика 1). Приликом рађања миш је тежак око 1 g, док телесна маса одраслих мишева износи 20–40 g код мужјака, па чак и до 60 g, док код женки она најчешће износи 18–35 g. За лабораторијске услове сматра се да је идеална телесна маса између 18 и 21 g. Постоји варирање у телесној маси између појединих сојева.



**Слика 1.** Лабораторијски миш

Мишеви на предњим ногама имају четири, а на задњим ногама пет прстију. У очној орбити мишева налазе се сузне жлезде које се називају Хардеријанове жлезде, чији секрет садржи порфирин (црвене боје). Секрет ових жлезда (црвене сузе) представља нормалну појаву код ове врсте, а ако је животиња под стресом, појачава се секреција ових жлезда. Ова појава се назива хромодакриореја. Миш и у горњој и у доњој вилици има, са сваке стране, по један инцизивни зуб и три молара. Плућа мишева подељена су на мали леви лобус и на десни лобус који је састављен из четири дела. Јетра је подељена на четири лобуса: медијални, леви и десни латерални и каудални лобус. Слезина је код мужјака упола већа него код женки. Поседују депо мрке масти, која је метаболички врло активна, дифузно распоређена око врата и лопатица. Женке имају пет пари мамарних жлезда, док код мужјака оне постоје, али нису тако изражене. Женке имају утерус, који је дворожни, а сваки рог је одвојен цервикалним каналом. Код мужјака постоји пенисна кост, а ингвинални канал им је отворен током целог живота. Мужјаци могу имати изражен врло јак мирис.

Детерминација пола код новорођених јединки врши се поређењем тзв. “аногениталне” дистанце која је код мужјака већа него код женке (Слика 2.). Поред тога, пенис је већи од клиториса, али је за разликовање полова на овај начин потребно веће искуство. Код одраслих јединки је детерминација пола једноставна зато што се лако уочавају пенис и скротум, односно вагинални отвор. Овај начин детерминације полова може се користити и код других лабораторијских животиња.



Слика 2. “Ано-генитална” дистанце (лево – женка, десно – мужјак)

#### Физиолошке карактеристике

Телесна температура мишева варира од 37,0 до 39,0 °С. Фреквенца пулса 300–800/мин, а фреквенца дисања 100–200/мин. Број еритроцита износи  $7\text{--}11 \times 10^{12}/\text{l}$ , леукоцита  $4\text{--}12 \times 10^9/\text{l}$  а тромбоцита  $100\text{--}230 \times 10^9/\text{l}$ . У диференцијалној крвној слици доминирају лимфоцити (30–90%). Брзина седиментације износи 1–2 mm за 1 час. Хематокрит износи 35–40% а укупан волумен крви 76–80 ml/kg.

#### Понашање

Миш је активнији ноћу него дању. Њиме се лако манипулише, плаши се светлости, друштвен је, али је спреман на бег. Одрасли мужјаци су ратоборни, док су женке обично мирне осим у случају када имају окот или их неко узнемирава. Присуство човека смањује њихову активност. У кавезу се обично одмарају у тамним угловима а узнемире се када су стално изложени светлости. Не подносе када су појединачно затворени у кавезу и тада мање једу. Уколико зу заједно у кавезу, мужјаци испољавају агресивност, нарочито када имају на располагању мало простирке.

## Репродукција

Мишеви се успешно размножавају током целе године. Амбијентални фактори у значајној мери могу утицати на репродуктивне способности. У репродукцији мишева значајну улогу имају феромони. Постају полно зрели са 5 до 6 недеља. Женке су полиестричне, еструсни циклус траје од 4 до 5 дана, а еструс од 10 до 20 часова. Гравидитет траје 18 до 21 дан, а у окоту има од 2 до 13 младунаца (најчешће 6 до 10). Женка може да има 8 до 10 окота. Размножавање је успешније ако се мишеви држе у групама и то или женке са мужјаком или група скотних женки.



**Слика 3.** Високо гравидна женка миша

Код парења се најчешће користи харемски систем, када на једног мужјака долази од 3 до 6 женки, а може се користити и моногамни начин.

Млади се рађају слепи, глуви и без длаке а током првих дана их мајка загрева сопственим телом. Прогледају након 12 до 14 сати, уши се отварају након 6 до 7, а длаку добијају након 10 до 12 дана. Сисају око три недеље, након чега самостално узимају храну и воду. Канибализам није чест, али се препоручује да се женке не узнемиравају првих дана после партуса.

### 7.2 Пацов (*Rattus norvegicus*)

Пацов је као лабораторијска животиња врло заступљена. Лабораторијски пацов води порекло до мрког пацова. Данас постоји преко 400 генетски чистих

сојева. Пацови имају 42 хромозома. Животни век пацова износи 2 до 3 године, с тим да женке доживљавају дубљу старост. Најпознатији сој је “Wistar-albinus” (Слика 4.).



**Слика 4.** Пацов соја Wistar-albinus

#### Морфолошке карактеристике

Пацови су дуги око 40 cm, од чега приближно половина отпада на реп. Телесна маса мужјака је од 300 до 500 g а женки од 250 до 300 g, док се при рођењу телесна маса креће у просеку од 5 до 6 g. Минимална телесна маса која је потребна за лабораторијска испитивања износи око 50 g.

Пацови и на предњим и на задњим екстремитетима имају по пет прстију, који се завршавају рожним канцама. Пацови су хипсодонтне животиње – зуби им расту током читавог живота. Секутићи пацова имају глеђ само на предњој страни, док кутњаци могу, али не морају имати корен. У очним дупљама се налазе Хардеријанове жлезде, које луче црвенкасти секрет услед присуства порфирина. Појачана продукција овог секрета може указивати на инфекцију респираторног тракта. Леви плућни лобус је мањи, а десни је подељен на четири дела. Желудац има нежлездани и жлездани део. Пацови имају добро развијено слепо црево. Јетра је подељена на пет режњева и нема жучни мехур. Надбубрежна жлезда је удаљена од великих крвних судова, што значајно смањује ризик при адреналектомији. Имају

велике депое мрког масног ткива, које се означава и као хибернацијско ткиво и распоређено је у регионима слично као код мишева. Женке имају шест пари мамарних жлезда, које су распоређене у торакалној и ингвиналној регији. Утерус је дворого, а рогови су одвојени цервикалним каналом. Вагинални отвор прекрива опна све док женка не достигне полну зрелост. Мужјаци имају пенисну кост која може бити коштана или хрскавичава. Ингвинални отвор је отворен током читавог живота, а тестиси се могу увући у абдомен.

#### Физиолошке карактеристике

Телесна температура пацова варира од 38,5 до 39,0 °С. Фреквенца пулса 300–500/мин, а фреквенца дисања 70–110/мин. Број еритроцита износи  $7-10 \times 10^{12}/l$ , леукоцита  $5-23 \times 10^9/l$ , а тромбоцита  $430-840 \times 10^9/l$ . У диференцијалној крвној слици доминирају лимфоцити (50–70%). Брзина седиментације износи 1–2 mm за 1 час, а 5 mm за 2 часа. Хематокрит износи 36–48% а укупан волумен крви 60 ml/kg.

#### Понашање

У односу на мишеве, пацови су мање агресивне животиње. Могу се држати у групама, али зависно од соја.

#### Репродукција

Пацови се успешно размножавају током читаве године. Најоптималнија температуре за размножавање је од 24,5 до 25,5 °С. Женке постају полно зреле са 6 до 8 недеља, а мужјаци са 10 до 11 недеља.

Женке су полиестричне, еструсни циклус траје од 4 до 5 дана, а еструс од 10 до 20 часова. Гравидитет траје 21 до 23 дана а у окоту има од 7 до 14 младунаца. Женка може да има 6 до 7 окота у току живота.

Код парења се најчешће користи харемски систем, када на једног мужјака долази од 2 до 8 женки, а може се користити и моногамни начин парења. Харемски начин парења може бити интензивни и полуинтензивни. Први подразумева стално држање мушких и женских јединки заједно, а други одвајање током гравидитета. Недостаци интензивног система су могућност сукобљавања и повређивања, као и постојање сталног стреса гравидних женки или женки у лактацији.

Млади се рађају слепи, глуви и без длаке. Прогледају након 7 до 14 сати, уши се отварају након 3 до 5, а длаку добијају након 8 до 10 дана. Сисају 3 до 4 недеље, а након тога их треба одвојити од мајке. Са давањем чврсте хране се може почети након 14 дана.

### 7.3 Хрчак (*Mesocricetus auratus*)

Постоје две врсте хрчка: сиријски (златни) и кинески. Врло је погодна врста за лабораторијска испитивања, али се релативно мало користи у биомедицинским истраживањима (мање од 1%). По појединим карактеристикама одваја се од осталих врста лабораторијских глодара: врло је отпоран на морфин и поседује велику толеранцију према пентобарбитону, али је јако осетљив на деловање кортикостероида. Сиријски хрчак долази у стање хибернације када температуре околине падне испод 5 °С, када дневни циклус постане краћи од 8 сати или када му је на располагању мала количина хране. Током стања хибернације телесна температуре се смањује, метаболички процеси се успоравају и животиња може бити у том стању 2 до 3 дана. Након тога се буди на око 12 сати када се храни. Пораст температуре или додир могу пробудити хрчка из стања хибернације. Животни век хрчка износи 2 до 3 године, а имају 44 хромозома.

#### Морфолошке карактеристике

Хрчак има ваљкасто тело са масивном главом. Имају кратак реп, добро обрастао длаком, и изражене тамне уши. Имају мале и црне очи, које могу бити избочене. На боковима се налазе лојне жлезде, које учествују у пигментацији длаке. Секрет ових жлезда код мужјака садржи феромоне и значајан је за обележавање територије. Златни хрчак је значајно већи и масивнији од кинеског хрчка. Телесна маса мужјака златног хрчка износи од 140 до 160 g, а женке од 120 до 140 g.

Хрчци поседују Хардеријанове жлезде, смештене у очним орбитама. Они се рађају са свим зубима, а дентална формула је иста као код мишева и пацова. Пошто им је круна зуба слична људској, подложни су развијању каријеса. Хрчци имају образне кесе у којима нема лимфатичног ткива, али су оне добро васкуларизоване. Леви плућни лобус није подељен, док је десни подељен на пет режњева. Поседују значајну количину мрког масног ткива. Мрко масно ткиво је добро васкуларизовано, метаболички врло активно и учествује у терморегулацији. Женке имају 6 до 7 пари мамарних жлезда и парне вагиналне кесице.

#### Физиолошке карактеристике

Телесна температура се креће у распону од 37,5 до 39,5 °С. Фреквенца пулса 250–500/мин, а фреквенца дисања 40–120/мин. Број еритроцита износи  $7-8 \times 10^{12}/l$ , леукоцита  $7-10 \times 10^9/l$ , а тромбоцита  $330-580 \times 10^9/l$ . У диференцијалној крвној слици доминирају лимфоцити (56–80%). Брзина седиментације износи 0–1 мм за 1 час. Хематокрит износи 45–50%, а укупан волумен крви 80 ml/kg.

## Понашање

Хрчци су ноћне и солитарне животиње. Генерално су женке агресивније од мужјака. Уколико се узнемиравају, постају агресивни и спремни су да уједу.

## Репродукција

Хрчци се размножавају од фебруара до октобра, док је у зимском периоду размножавање ретко. Женке хрчка су полиестричне и постају полно зреле са око 2 месеца, а мужјаци са 2,5 до 3 месеца. Еструсни циклус траје тачно 4 дана, а након овулације (обично другог дана) јавља се вискозни секрет из вагине. Гравидитет траје 18 дана код златног хрчка и 21 дан код кинеског хрчка. Током прве недеље може се јавити канибализам младунаца од стране мајке. Такође, младунци се не смеју додиривати у току прве недеље живота, нарочито ако је женка примипара.

Код парења се може користи харемски систем, када на 1 мужјака долази од 4 до 8 женки, а може се користити и моногамни начин парења. Женку је најбоље ставити у приплод трећи дан након појаве вагиналног беличастог секрета који се јавља кратко након овулације. Женка се ставља у кавез мужјака ноћу и тада је потребно пратити њено понашање. Ако не дође до парења женка може постати агресивна и она се треба уклонити из кавеза. Уколико је спремна за парење то се види по заузимању карактеристичног ставе са раширеним предњим ногама и испруженим репом (лордоза). У том случају пар се оставља заједно до јутра. Може се користити и тзв. парење из руке када се женка уводи код мужјака у трајању од једног сата након чега се раздвајају.

Пошто су створени мање агресивни сојеви, све више се користи харемски систем. Гравидне женке се премештају у посебне кавезе нешто пре самог термина партуса.

Млади сисају око три недеље, а већ након прве недеље се може почети са давањем чврсте хране.

## 7.4 Заморац (*Cavia porcellus*)

Заморац спаде у ред глодара. За ову врсту су везане неке недоумице због његовог енглеског назива "Guinea pig". Наиме, заморац не спаде ни у свиње, нити води порекло из Гвинеје, већ се сматра да му име долази од начина припреме за јело који се користи у Јужној Америци. Могу доживети и 5–6 година, па чак и више, ако се држе у изузетно добрим условима, мада у просеку живе око 3–4 године. Заморци имају 64 хромозома.

За заморце је карактеристично да су изузетно осетљиви на деловање појединих антибиотика (пеницилина, еритромицина, хлортетрациклина) који могу довести до ендотоксемије и смрти. Такође, ова врста је осетљива на деловање хистамина који изазива јаку бронхоконстрикцију и смрт.

Постоје три соја заморца:

- краткодлаки сој – “енглески заморац”,
- оштродлаки сој – “абисински заморац” и
- дугодлаки сој – “перуански заморац”.

#### Морфолошке карактеристике

Тело заморца је здепасто са кратким ногама. На предњим ногама имају четири прста, а на задњим три. Шапе и уши су слабо обрасле длаком. Телесна мужјака износи од 900 до 1000 g, а женке од 700 до 900 g.

Вилица заморца се при покретима покреће у кранио-каудалном смеру. Зуби расту континуирано током целог живота. Поседују четири пара плувачних жлезда, чији изводни канали се директно уливају у усну дупљу. Леви плућни лобус је подељен на три, а десни на пет режњева. Желудац нема нежлездани део. Слепо црево је велико и у облику вреће. Јетра је подељена на шест режњева. Женке имају један пар брадавица, док мужјаци имају пар ингвиналних брадавица. Женке имају дворожни утерус. Код мужјака се тестиси налазе у ингвиналном каналу и поседују пенисну кост.

#### Физиолошке карактеристике

Телесна температура се креће у распону од 37,8 до 39,5 °C. Фреквенца пулса 200–380/мин, а фреквенца дисања 100–150/мин. Број еритроцита износи 5–6,5x10<sup>12</sup>/l, леукоцита 7–13x10<sup>9</sup>/l а тромбоцита 80–150x10<sup>9</sup>/l. У диференцијалној крвној слици доминирају лимфоцити (55–80%). Брзина седиментације износи 1,5 mm за 1 час, а 3 mm за 2 часа. Хематокрит износи 38–48% а укупан волумен крви 69–75 ml/kg.

Заморци имају једну посебну хематолошку карактеристику: у крвном размазу се виде Курлофове ћелије, које представљају леукоците у чијој се цитоплазми налазе Курлофова телашца. Број ових ћелија је много већи код женки, нарочито у периоду еструса и гравидитета. Функција ових ћелија је у заштити фетуса.

Заморац има изражену копрофагију и сопствени фецес једе директно са ануса. Гравидне и дебеле животиње једу измет са пода јер не могу да досегну сопствени анални отвор, док младунци једу мајчин фецес.

Мокраћа заморца је алкалне електрохемијске реакције и може бити жуте или беличасте боје, а често је изражена и кристалурија.



## Понашање

Заморци су изузетно друштвене животиње, али поједине јединке могу бити агресивне. Активни су око 20 сати дневно, а период активности се смењује са кратким периодом спавања од 10 минута.

## Репродукција

Заморци се размножавају током читаве године. Женке заморца су полиестричне и постају полно зреле са 1,5 до 2 месеца, а мужјаци са 3 до 4 месеца. Женке морају остати гравидне у узрасту до 6 месеци јер иначе долази до сростања симфизе пелвиса. Еструсни циклус траје 15 до 17 дана а овулације је спонтана. Гравидитет траје од 60 до 70 дана (просечно 63 дана), а окоти 3 до 6 младих. Женка не прави гнездо, коти се обично у току ноћи а након партуса поједе плаценту.

У репродукцији се могу користити моногамни и полигамни систем. Уколико се узгајају у групама (полигамни систем), на једног мужјака долази 8 до 10 женки. Гравидне женке је потребно одвојити непосредно пре партуса и држати одвојено неколико недеља након партуса.

При рођењу млади су тешки до 100 g и рађају се са длаком, отворених очију и ушију и способношћу кретања. Сисају око 3 недеље, али им се већ након 3-4 дана може давати и адекватна чврста храна.

## 7.5 Гербил (*Merionse unguiculatus*)

Гербили потичу из Монголије и Кине. Погодни су за истраживања због лаког размножавања, држања и манипулације. Процењује се да се годишње више од 100 000 гербила користи у ову сврху. Могу живети 3 до 4 године, а у добрим условима држања и до 5 година. Гербили имају 44 хромозома.

### Морфолошке карактеристике

Гербили имају дуге и тање тело у односу на хрчке. Задње ноге су им дуге од предњих и могу стајати скоро потпуно усправно и скакати високо. Реп им је прекривен длаком, а за разлику од других глодара имају длаку и на ушима и стопалима. Лојне жлезде су врло развијене, нарочито код мужјака, а њихов секрет служи за обележавање територије.

Телесна маса мужјака износи од 80 до 110 g, а женке од 70 до 100 g. Код мужјака ано-генитална дистанца износи око 10 mm, а код женки око 5 mm.

### Физиолошке карактеристике

Телесна температура се креће у распону од 38 до 39 °С. Фреквенца пулса од 260 до 600/мин, а фреквенца дисања од 85 до 160/мин. Гербили су сваштоједи.

### Понашање

Гербили могу показивати агресивност и може доћи до сукоба између мужјака и женке. Женке су обично агресивније од мужјака. У таквим ситуацијама је потребно заменити партнере и сместити их у нове и чисте кавезе, што обично доводи до смањења агресивности.

### Репродукција

Гербили достижу полну зрелост са три месеца. Изразито су моногамни. Они су полиестричне животиње, а еструсни циклус траје од 4 до 7 дана. Гравидитет траје од 23 до 26 дана, а женка окоти од 3 до 8 младунаца телесне масе од 2,5 до 3 г. Младунци сисају од 20 до 30 дана. Мужјаке не треба одвајати након кођења женке зато што и они учествују у одгајању младунчади. Гербили се могу репродуковати током целе године ако период светлости траје непрекидно 12 сати.

## 7.6 Кунић (*Oryctolagus cuniculus*)

Кунић спада у ред *Lagomorpha*. Могу живети 3 до 4 године. Кунићи имају 44 хромозома. У истраживањима се обично користе: новозеландски бели кунић, холандски шарени и енглески вишебојни кунић. Погодности коришћења кунића у истраживањима су то што је величина тела погодна за манипулацију, лако су доступни (приступачни) крвни судови, имају добар репродуктивни потенцијал и погодност гајења у кавезном и подном систему.

У природном окружењу живе у моногамним паровима и у систему тунела у земљишту који самостално изграђују.

### Морфолошке карактеристике

Дужина тела кунића је око 40 cm и обрасло је крзном са краћом длаком. Шапе и уши су такође обрасле длаком. Реп је кратак и његова дужина износи од 6 до 7 cm. Кожа репа је мека и може се лако повредити при неправилном руковању. Уши су добро васкуларизоване и значајно доприносе у процесу терморегулације. Задње ноге су знатно дуже од предњих, што им омогућава ефикасно трчање и скакање. Телесна маса мужјака износи од 4 до 5 kg, а женке од 4 до 6 kg.

Имају два пара горњих секутића. Зуби расту континуирано током целог живота. Срце кунића је релативно мало у односу на величину тела. Леви плућни лобус је подељен на два а десни на три режњева. Желудац кунића је велики, са танким зидом. Задњи део слепог црева је врећасто проширен, а колон је подељен на проксимални и дистални део. Утерус има два грлића а скротум је смештен пре пениса.

#### Физиолошке карактеристике

Телесна температура се креће у распону од 38,5 до 39,5 °С. Фреквенца пулса 360/мин, а фреквенца дисања 90/мин. Број еритроцита износи  $4-7 \times 10^{12}/\text{l}$ , леукоцита  $6-12 \times 10^9/\text{l}$ , а тромбоцита  $100-460 \times 10^9/\text{l}$ . У диференцијалној крвној слици највише има лимфоцита (20–90%) и неутрофилних гранулоцита (20–60%). Брзина седиментације износи 2 до 4 мм за 1 час, а 2,5 до 4 mm за 2 часа. Хематокрит износи 44–47%, а укупан волумен крви 66–78 ml/kg.

Кунићи поседују способност адаптације на веће осцилације спољашње температуре. Такође, у периоду од неколико недеља може компензовати недостатак воде.

Кунић је врста која не може повраћати. Има изражену копрофагију и сопствени фецес једе директно са ануса. Ова појава је изражена у току ноћи па се означава као “ноћни измет”.

Мокраћа кунића је густа и у њој се могу наћи протеини и кристали. Код младих јединки је појава кристалурије ретка. Током дана кунићи излучују малу количину урина.

#### Понашање

Активност кунића је значајно већа у току ноћи. У току дана се смењују периоди активности и периоди одмора.

#### Репродукција

Кунићи се могу репродуковати током целе године. Полну зрелост достижу са 4 до 5 месеци. Гравидитет траје 30 до 35 дана. Пар дана или пар сати пре партуса женка почиње правити гнездо. Окоти од 4 до 10 младих, телесне масе од 30 до 100 g. Код женки се често јавља лажна гравидност.

У репродукцији се могу користити моногамни и полигамни систем. Полигамни систем је могућ ако се јединке спајају пре настанка њихове полне зрелости. Уколико дође до сукоба мужјака и женке, треба променити партнере. Мужјак се према младунцима може понашати агресивно, па га у том случају треба одвојити. Период одвајања не треба да буде дужи од две недеље зато што се моногамски пар више неће спојити. Канибализам се понекад може јавити.

Млади се рађају без длаке, слепи и глуви. Длаку добијају након 2 до 3 дана, а очи и уши се отварају након 10 дана. Сисају два пута дневно, 4 до 5 недеља, али им се већ након 3 недеље може давати и чврста храна.

### 7.7 Зец (*Lepus europaeus*)

Питоми зец води порекло од дивљег зеца и има два основна типа који се разликују по телесној маси:

- мањи тип – телесне масе до 2 kg и
- већи тип, тзв. “новозеландски бели сој” – телесне масе од 2 до 5 kg.

Зец спада у ред *Lagomorpha*. Могу живети 5 до 6 година. Зечеви имају 44 хромозома.

#### Морфолошке карактеристике

Тело је ваљкасто са малом главом. Уши су дугачке и осетљиве, па се због могућности повређивања никада не користе за фиксацију. Задње ноге су дуже и снажније од предњих. Крзно је врло густо, али је кожа танка и лако се може повредити. Телесна маса варира од типа лабораторијског зеца и могу се поделити на:

- тежак тип – преко 5 kg,
- средњи тип – од 2 до 5 kg и
- лаки тип – до 2 kg.

Поседују по 2 секутића у свакој вилици и два закржљала зуба. Горњи зуби су израженији од доњих. Зуби код зеца расту током читавог живота. Срце зеца је релативно мало, а десни атриовентрикуларни залистак се састоји из два дела (док је код већине врста грађен из три дела). Желудачно-цревни тракт је дугачак, са великим желудцем и слепим цревом. Женке поседују 4 до 5 пари млечних жлезда, док код мужјака брадавице не постоје. Поседују три пара жлезда чији секрет служи за обележавање територије.

#### Физиолошке карактеристике

Телесна температура се креће у распону од 38,5 до 39,5 °C. Фреквенца пулса 130–325/мин, а фреквенца дисања 30–60/мин. Број леукоцита износи  $5-11 \times 10^9/l$ . Хематокрит износи 36–48%, а укупан волумен крви 60 ml/kg.

Зечеви су хербиворе, а само изузетно могу користити и храну која није биљног порекла. Код зечева се јављају два типа фецеса, тзв. дневни – тврди и ноћни – меки фецес. Ноћни фецес је значајан због процеса копрофагије, зато што садржи велику количину витамина и протеина. Зеца, као и кунић, јесте врста која не може повраћати. Боја урина зависи од компонената хране, а мирис је специфичан. Осетљиви су на високу спољашњу температуру и много боље подnose ниже температуре. Имуноглобулини мајке се преко плаценте могу пренети на потомство.

Због присуства високог нивоа атропин-естеразе у крви, око 30% зечева не реагује на атропин.

### Понашање

Приликом групног држања полно зрелих зечева, потребно је обратити пажњу због потребе за обележавањем територије и могућности појаве агресивности.

### Репродукција

Полну зрелост мужјаци достижу са 24 до 40 недеља, а женке са 20 до 36 недеља. Код зечева се јавља посткопулаторна овулација која се јавља услед ослобађања лутеинског хормона из хипофизе. Давањем овог хормона се може индуковати овулација, а уколико није дошло до фертилизације, јавља се лажни гравидитет у трајању од 16 до 18 дана. Оваријална активност је условљена фотопериодом. Неколико дана пре партуса женка прави гнездо.

У репродукцији се може користити полигамни систем када на једног мужјака долази 10 до 20 женки.

Тежина младунчади при рођењу је од 30 до 100 g. Млади се рађају голи и остају у гнезду око 3 недеље. Млади сисају једном до два пута дневно. Морталитет новорођених јединки је висок.

## 7.8 Пас (*Canis familiaris*)

Постоје бројне расе паса, којих у свету има регистрованих преко 400 у оквиру Међународне кинолошке федерације. Због значајних фенотипских разлика између појединих раса, у последњем периоду се за експериментална испитивања усталила раса “бигл”. Матична земља ове расе је Велика Британија. Бигл је ловачки пас и спаде у групу гонича. Животни век паса се креће од 10 до 15 година. Пси имају 78 хромозома.

### Морфолошке карактеристике

Висина паса расе бигл је 35 до 40 cm, а телесна маса се креће од 10 до 12 kg. Постоји и патуљаста и крупнија варијанта ове расе. На основу длачног покривача се могу поделити на краткодлаки и оштродлаки тип.

Дентална формула:  $2 \times (I3/3 \ C1/1 \ P4/4 \ M2/3) = 42$  (Штенад немају моларне зубе.)

### Физиолошке карактеристике

Телесна температура се креће у распону од 38,0 до 39,0 °C. Фреквенца пулса 80–150/мин, а фреквенца дисања 20–30/мин. Број еритроцита износи  $6-8 \times 10^{12}/l$ , леукоцита  $7-17 \times 10^9/l$ , а тромбоцита  $200-600 \times 10^9/l$ . У диференцијалној крвној слици највише су заступљени неутрофилни гранулоцити (до 70%). Брзина седиментације износи 2 mm за 1 час, а 4 mm за 2 часа. Хематокрит износи 37–75%, а укупан волумен крви 72–74 ml/kg.

### Понашање

Пси су социјалне животиње. Мужјаци су агресивнији од женки, осим када женке бране легло. Са псима расе бигл се лако рукује зато што су послушни и пријатељски расположени према човеку.

### Репродукција

Пси се репродукују у одгајивачници, а у установу где се спроводе огледи потребно их је допремити бар две недеље пре почетка огледа у циљу адаптације и мониторинга. Полну зрелост мужјаци достижу са 7 до 8 месеци, а женке са 8 до 14 месеци. Гравидитет траје 63–67 дана (просечно 65 дана). У окоту обично има 4 до 8 младунчади која се рађају са длаком, а прогледају после 8 дана. Штенад сиса 6 до 7 недеља.

## 7.9 Мачка (*Felis catus*)

Постоји више од 100 раса домаћих мачака, од којих се као огледне животиње углавном користе краткодлаке расе европских мачака. Животни век мачака се креће од 10 до 17 година. Мачке имају 38 хромозома.

### Морфолошке карактеристике

Телесна маса се креће око 2 kg, с тим да је маса мужјака нешто већа од масе женки.

Дентална формула:  $2x(I3/3 C1/1 P3/2 M1/1) = 30$  (Мачићи немају моларне зубе.)

### Физиолошке карактеристике

Телесна температура се креће у распону од 38,0 до 39,5 °С. Фреквенца пулса 100–120/мин, а фреквенца дисања 20–40/мин. Број еритроцита износи  $7-10 \times 10^{12}/l$ , леукоцита  $9-20 \times 10^9/l$ , а тромбоцита  $160-370 \times 10^9/l$ . У диференцијалној крвној слици највише су заступљени неутрофилни гранулоцити (до 80%). Брзина седиментације износи 4 mm за 1 час, а 10 mm за 2 часа. Хематокрит износи 24–55%, а укупан волумен крви 65–75 ml/kg.

### Понашање

Мачке су индивидуалне животиње, а мужјаци су агресивнији од женки. Обележавање територије врше урином.

### Репродукција

Полну зрелост мужјаци достижу са 6,5 до 7 месеци, а женке са 6 до 8 месеци. Гравидитет траје 60–65 дана (просечно 62 дана). У окоту обично има 1 до 8 младунчади која се рађају са длаком, а прогледају после 8 дана. Мачићи сисају до 7 недеља.

## 7.10 Свиња (*Sus scrofa ferus*)

Постоји више раса свиња, али се као огледне животиње углавном користе две расе великих свиња: велики бели ландрас и јоркшир. Поред ових раса, користе се и патуљасте расе гетинген (Göttingen), питмур (Pittmoore), минесота (Minnesota) и јукатан (Yucatan). Животни век свиња износи од 14 до 18 година. Свиње имају 38 хромозома.

### Морфолошке карактеристике

Телесна маса свиња зависи од расе. Свиња је по својим анатомским карактеристикама врло слична човеку па је то разлог што се доста користи као симулациони модел за човека.

Дентална формула:  $2x(I3/3 C1/1 P4/4 M3/3) = 44$  (Прасићи немају моларне зубе.)

### Физиолошке карактеристике

Телесна температура се креће у распону од 38,0 до 40,0 °C. Фреквенца пулса 60–90/мин, а фреквенца дисања 8–18/мин. Број еритроцита износи  $6-12 \times 10^{12}/l$ , а леукоцита  $8-16 \times 10^9/l$ . У диференцијалној крвној слици су највише заступљени лимфоцити (45–55%) и неутрофилни гранулоцити (35–51%). Хематокрит износи, у просеку, око 41%, а укупан волумен крви 74 ml/kg.

Свиње су врло осетљиве на стрес.

### Репродукција

Полну зрелост свиње достижу са 5 до 7 месеци. Гравидитет траје 110–118 дана. Прасићи сисају 4 до 7 недеља.

## 7.11 Овца (*Ovis aries*) и коза (*Capra hircus*)

Овце и козе се врло мало користе у биомедицинским истраживањима. Углавном се користе за специфична истраживања у хирургији, имунологији и сл. Животни век овца и коза износи око 10 година.

### Морфолошке карактеристике

Овце и козе су чисти биљоједи, преживари са специфично развијеним дигестивним трактом.

Дентална формула:  $2x(I0/4 C0/0 P3/3 M3/3) = 32$  (Не постоје млечни молари.)



## Физиолошке карактеристике

Телесна температура се креће у распону од 38,5 до 40,0 °C. Фреквенца пулса 70–80/мин, а фреквенца дисања 12–25/мин.

Код оваца број еритроцита износи  $10\text{--}13 \times 10^{12}/\text{l}$ , а леукоцита  $15\text{--}20 \times 10^9/\text{l}$ . У диференцијалној крвној слици су највише заступљени лимфоцити (60–65%). Хематокрит износи, у просеку, око 32%, а укупан волумен крви 80 ml/kg.

Број еритроцита код коза износи  $13\text{--}15 \times 10^{12}/\text{l}$ , а леукоцита  $8\text{--}12 \times 10^9/\text{l}$ . У диференцијалној крвној слици су највише заступљени лимфоцити (50–55%). Хематокрит износи, у просеку, око 34%, а укупан волумен крви 60–70 ml/kg.

## Репродукција

Репродукцију треба обављати у специјализованим центрима, односно фармама. Потребно је да се животиње допреме бар три недеље пре почетка огледа у установу у којој ће се оглед вршити у циљу адаптације и мониторинга. Полну зрелост достижу са 6 до 10 месеци. Гравидитет траје 144–155 дана. Младунци сисају 4 до 8 недеља.

## 7.12 Мајмуни

Тенденција је да се број мајмуна, који су укључени у биомедицинска истраживања, смањује. Данас се они, из више разлога, користе само када је то апсолутно неопходно. За ова истраживања су првобитно коришћене јединке које су потицале из дивљине, а данас се користе јединке које потичу из специјализованих фарми за њихово узгајање.

Мајмуни који се користе у огледима се сврставају у следећа четири рода:

1. *Marmoset* – пореклом из централне и јужне Америке,
2. *Cynomolgus* – пореклом из јужне и источне Азије,
3. *Rhesus* – пореклом из јужне и источне Азије и
4. *Chimpanse* – пореклом из Африке.

## Морфолошке и физиолошке карактеристике

Морфолошки су врло слични човеку што их чини врло погодним моделом. Телесна маса одраслих јединки из рода *Marmoset* се креће од 0,4 до 0,6 kg код мужјака и 0,4 до 0,5 kg код женки. Животни век им износи од 10 до 16 година, а

полну зрелост достижу са годину дана. Естрални циклус траје 27 до 29 дана, а гравидитет 142 до 146 дана. Младунци сисају 2 до 3 месеца.

Одрасли мајмуни из рода *Сynomolgus* имају телесну масу од 2,5 до 6 kg (мушјаци) и 4 до 8 kg (женке). Животни век им износи од 15 до 25 година, а полну зрелост достижу са 3 до 4 године. Телесна температура се креће у распону од 37,0 до 40,0 °С. Фреквенца пулса 100–150/мин, а фреквенца дисања 40–65/мин. Естрални циклус траје 31 дан, гравидитет 161 дан, а младунци сисају 4 до 6 месеци.

Мајмуни из рода *Rhesus* имају животни век од 20 до 30 година, а полну зрелост достижу са 3 до 4 године. Њихова телесна маса је од 4 до 9 kg код мушјака и 6 до 11 kg код женки. Телесна температура се креће у распону од 36,0 до 40,0 °С. Фреквенца пулса 100–150/мин, а фреквенца дисања 40–65/мин. Број леукоцита износи 7–13x10<sup>9</sup>/l. Хематокрит износи 39–43%, а укупан волумен крви 50–90 ml/kg. Естрални циклус траје 29 дана, гравидитет 155 до 170 дана, а младунци сисају 4 до 6 месеци.

Мајмуни из рода *Chimpanse* имају телесну масу од 35 до 45 kg (мушјаци) и 45 до 60 kg (женке). Животни век им износи од 40 до 50 година, а полну зрелост мушјаци достижу са 8 до 10 година, а женке са 6 до 8 година. Телесна температура се креће у распону од 36,0 до 39,0 °С. Фреквенца пулса 85–90/мин, а фреквенца дисања 30–60/мин. Број леукоцита износи 10–14x10<sup>9</sup>/l, хематокрит 38–43%, а укупан волумен крви 50–90 ml/kg. Естрални циклус траје 32 до 38 дана, а гравидитет 210 до 250 дана. Младунци сисају 6 до 9 месеци.

### Понашање

Мајмуни могу да буду врло агресивни, нарочито они који припадају родовима малих мајмуна. Из овог разлога је врло често у огледима потребно користити неки транквилајзер (седатив).

## 8.0 Смештај лабораторијских животиња

Ово поглавље даје основне смернице везане за окружење и смештај лабораторијских животиња, које се користе или производе за потребе истраживања, тестирања или у настави. Иако су општи принципи формулисани, пре свега, за кичмењаке, ови принципи се могу применити и на многе врсте бескичмењака. Дизајн објеката за држање огледних животиња, у комбинацији са одговарајућим смештајем и руковањем, основни је предуслов за добробит лабораторијских животиња, али и за квалитет истраживања, производње, наставе, здравља и безбедности особља.

Обезбеђивање одговарајућег окружења, смештаја и руковања, прилагођеног за одговарајућу врсту или сој животиња, уз поштовање њихових физичких, физиолошких, и бихејвиоралних потреба, омогућавају њихов нормалан раст, сазревање и размножавање, као и очување здравља и благостања.

Посебну пажњу је потребно посветити условима смештаја пойкилотермних животиња, које имају ограничену способност да метаболички одржавају телесну температуру, па она варира у зависности од услова животне средине. Већина пойкилотермних лабораторијских животиња су акватичне врсте, на пример рибе и већина водоземаца, мада су неки, као што су гмизаваци и одређене врсте водоземаца, терестријалне врсте.

### 8.1 Објекти за смештај лабораторијских животиња

Добро испланиран, добро дизајниран, добро конструисан, правилно одржаван и руковођен објекат је важан елемент хумане неге лабораторијских животиња и омогућава ефикасан, економичан и сигуран рад. Дизајн и величина објекта за лабораторијске животиње зависи од обима истраживачких активности и саме врсте огледа, врсте лабораторијских животиња, физичког односа са другим објектима, као и географске локације. Да би планирање и пројектовање објеката за смештај лабораторијских животиња било ефикасно, морају се узети у обзир и ускладити потребе истраживачке институције са грађевинско-техничким могућностима.

Објекат за лабораторијске животиње треба да буде пројектован и изграђен у складу са свим важећим грађевинским прописима. Модуларне јединице, као што су монтажни објекти, морају бити у складу са смерницама које важе и за друге објекте.

Развој истраживачких модела и употреба других врста лабораторијских животиња могу се очекивати током употребе објекта у дужем временском периоду. Из овог разлога се добро пројектовани објекти могу прилагодити овим променама у употреби.

Грађевински материјал објекта за лабораторијске животиње треба да буде изабран тако да се омогући ефикасан и хигијенски рад. Издржљив материјал, отпоран на влагу, ватру и штеточине, без видљивих спојева најпогоднији је за унутрашње површине. Поред овога, овај материјал би требало да буде веома отпоран на дејство средства за чишћење и прање под млазом високог притиска. Боје не треба да буду токсичне ако се користе на површинама са којима ће животиње имати директан контакт. При изградњи објекта за лабораторијске животиње треба узети у обзир и да површине које су изложене атмосферским условима морају бити релативно приступачне за редовно одржавање.

## 8.2 Локација

Да би се обезбедио адекватан смештај за лабораторијске животиње, као и удобност и здравствена безбедност људи, потребно је физичко одвајање објекта за животиње од просторија као што су канцеларије и конференцијске сале. Раздвајање се може постићи тако што ће просторије за лабораторијске животиње бити у посебној згради, крилу, спрату или соби. Пажљиво планирање треба да омогући добру повезаност простора за смештај лабораторијских животиња и истраживачких лабораторија.

Поред наведеног, потребно је размотрити и утицај буке и вибрација који се генеришу унутар објекта и из околних подручја, као и сигурност самог објекта. Животиње треба да буду смештене у објектима намењеним или одређеним само за ту сврху, а не у лабораторијама. Ако се животиње морају држати у лабораторији, да би се задовољили специфични научни циљеви и огледни протокол, тај простор треба да одговара за смештај и бригу о животињама и његово коришћење је ограничено на период током којег је то апсолутно неопходно. У том случају потребно је предузети мере да се умање све специфичне опасности везане за транспорт животиња до и од овог подручја.

## 8.3 Централизација или децентрализација објекта

Централизовани објекти за лабораторијске животиње омогућавају подршку, негу и употребу просторија и опреме која се налази непосредно уз простор за смештај животиња. Децентрализовани објекти за смештај лабораторијских животиња представљају простор који није искључиво намењен за ову намену или је физички одвојен од објекта, опреме и особља које се брине о овим животињама.

Централизација значајно смањује трошкове пословања, омогућавајући ефикасније кретање особља и пренос животиња и опреме; ефикаснију заштиту животне средине; спречава неопходност дуплирања ресурса. Централизација смањује потребе за превоз животиња између јединица за смештај и истраживачких јединица, чиме се смањују ризици транспорта, стреса и излагања узрочницима

болести; даје већу сигурност и пружа могућност контроле приступа објекту; олакшава рад особљу.

Децентрализовани објекти за смештај животиња генерално више коштају за изградњу због захтева за специјализованим системима заштите животне средине и контроле у више локација. Углавном је потребно више истоветне опреме, док се загађени материјал мора транспортовати на веће раздаљине на обраду. Али децентрализација може бити и пожељна за одређене специјализоване потребе истраживања, као што су снимање, карантин, близине објеката за истраживање, односно из одређених биолошких разлога. Децентрализација може бити неопходна да би се применила велика или сложена опрема, као што је магнетна резонанца, или да би се омогућило дељење простора између корисника из више објеката и/или институција. Могућност излагању узрочницима болести је много већа у оваквим ситуацијама и посебну пажњу треба посветити биосигурности, укључујући и превоз, као и карантину пре или после истраживања и деконтаминацији материјала и опреме.

Одлука која води ка избору између физички централизованих и децентрализованих објеката за лабораторијске животиње треба да буде благовремено и пажљиво донесена и у њено доношење треба да буду укључене све заинтересоване стране.

#### 8.4 Функционалне јединице

Постојање практичног, функционалног и ефикасно организованог простора за смештај, негу и коришћење лабораторијских животиња основни је предуслов за постизање оптималних резултата истраживачког рада. Величина, природа и динамика огледа који се врше условљавају конкретне објекте и пратећу опрему који су потребни. Мањи објекти су погодни за држање мањег броја животиња под посебним условима. Овакви објекти се могу наменити искључиво за смештај гнотобиотичких или животиња слободних од специфичних патогена (енгл. *specific-pathogen-free* – SPF).

Основне функционалне јединице које су потребне у овим објектима су:

- простор за смештај и негу животиња,
- простор за пријем, карантин и раздвајање животиња,
- простор за раздвајање различитих огледних протокола, када је то потребно,
- простор за складиштење.

Већина вишенаменских објеката за лабораторијске животиње укључују и следеће функционалне јединице:

- специјализоване лабораторије или простор близу простора за смештај лабораторијских животиња за активности као што су хируршке интервенције,

интензивна нега, обдукција, зрачење, припрема посебних дијета, извођење специфичних експерименталних или дијагностичких поступака,

- простор за опрему и средства која представљају биолошку, физичку или хемијску опасност,

- простор за смештај посебно вредних или незамењивих лабораторијских животиња,

- простор за примање и складиштење хране, простирке, фармацеутских производа и прибора,

- простор за прање и стерилизацију опреме и прибора и, у зависности од обима посла, машине за прање кавеза, боца, стаклене опреме; стерилизатор за опрему, храну и простирку; одвојени простор за држање опреме,

- простор за складиштење отпада пре спаљивања или уклањања,

- простор за хладњаче или за складиштење лешева,

- простор за управно и надзорно особље, укључујући и простор за обуку и образовање особља,

- санитарни чвор са тушевима, судоперама, тоалетима и орманима, као и простор за одмор особља,

- простор за одржавање и поправку специјализованих система за смештај и пратеће опреме,

- сигурносне функције, као што су електронски надзор и аларми, системи ограничавања кретања и сл.

## **8.5 Конструкциони захтеви**

### **Ходници**

Ходници би требало да буду довољно широки да би се олакшало кретање особља и опреме (око 2 m) као и да би се олакшало чишћење и одржавање. Препоручује се постављање заштитних шина и одбојника дуж пролаза. Ходници треба да буду затворени и тако конструисани да спречавају кретање штеточина. У ходницима који воде до просторија за смештај паса или свиња, просторија за прање кавеза и других просторија у којима се ствара висок ниво буке потребно је поставити двострука врата. Оваква врата се препоручују и за просторије за смештај примата као средство за смањивање могућности бекства. Дупла врата за улазак су од кључне важности за спречавање ширења потенцијално штетних агенаса.

Где год је могуће, водоводне цеви, одводне цеви, топоводи и вентили, електрични прикључци као и друге инсталације треба да буду доступне преко

приступних панела или на други лак начин, без потребе за већим грађевинским интервенцијама. Инсталације алармних и система за гашење пожара као и комуникационе инсталације треба да буду увучене у зид и инсталиране довољно високо или заштићене како би се спречило оштећење приликом кретања и транспорта опреме.

## **Врата**

Врата би требало да буду довољно велика (106 X 212 cm) како би се омогућио лакши пролаз људи и опреме, а потребно је да чврсто стоје у својим оквирима. Врата и оквири треба да добро пријањају, како би се спречио улазак штеточина. Такође, треба да буду направљени или обложени материјалима који су отпорни на корозију и труљење. Врата која се сама затварају, опремљена адекватним ручкама, обично су најбоље решење. Због сигурности, врата би требало да се отворају према просторијама; ако је неопходно да се отворе према ходнику, требало би да постоји одговарајуће предворје. Тамо где је потребно обезбедити одговарајући ниво сигурности појединих просторија или је пожељно да се ограничи приступ. Врата треба да буду опремљена бравом или електронским системима безбедности. Због сигурности особља врата треба да буду дизајнирана за отварање изнутра без кључа.

Врата са прозирним окнима могу бити потребна из безбедносних и других разлога, али је потребно предвидети и могућност да се ова окна прекрију да би се избегло излагање животиња светлости или великој активности из ходника (на пример, да би се избегло ремећење дневног ритма лабораторијских животиња). Окна црвене боје, која не пропуштају одређене таласне дужине видљиве светлости, између ходника и собе са животињама, показала су се погодним за мишеве и пацове. Разлог за ово је што ове врсте имају ограничену способност да детектују светлост у црвеним деловима спектра.

## **Прозори**

Присуство прозора на објекту за рад са лабораторијским животињама, нарочито на просторијама где се саме животиње налазе, ствара потенцијални безбедносни ризик који генерално треба избегавати. Прозори, такође, стварају проблеме са контролом температуре простора и спречавају строгу контролу фотопериода, који се често захтева у огледним протоколима, а представља и кључни фактор у узгоју глодара. Међутим, у одређеним ситуацијама, прозори могу обезбедити обогаћивање животне средине за поједине врсте, као што је случај са приматима.

## **Подови**

Подови треба да буду отпорни на влагу и ударце, без могућности апсорпције и релативно глатки, иако текстура површине може бити потребна у неким просторима са високом влажношћу и за неке врсте (нпр. домаће животиње).

Неопходно је да подови буду тако изграђени да се могу лако поправити, а морају бити отпорни на деловање урина и других биолошких материја, као и дејство воде и средстава за чишћење и на високу температуру. Они морају издржати терет опреме без настанка оштећења, напрснућа и круњења. У зависности од њихове употребе, подови треба да буду монолитни или са минималним бројем спојева. Неки од материјала који су се показали задовољавајући су епоксидне смоле, тврде бетонске површине, метил метакрилат, полиуретан и специјални гумени подови. Гумени подови су нарочито погодни у просторијама у којима је важно смањење буке. Исправно постављање је од суштинског значаја да би се обезбедила дугорочна стабилност површине. Ако су прагови постављени на улазу у просторију, они треба да буду пројектовани тако да омогуће функционалан пролаз опреме.

### **Одводи**

Тамо где се користе подни сливници подови морају да имају одговарајући нагиб како би се омогућило несметано отицање воде и других течности. Да би се смањило продужено повећање влажности, дренажа треба да омогући брзо уклањање воде и сушење површина. Одводне цеви треба да буду најмање 10 cm у пречнику, мада су за објекте за поједине животињске врсте, као што су пси и фармске животиње, потребне и веће одводне цеви (>15 cm). Канали или линијски транспортери могу бити корисни за уклањање чврстог отпада. Када одводи нису у употреби током дужег периода, они треба да буду затворени и запечаћени да би се спречио повратни ток гасова из канализације, улазак штеточина и других загађивача. Поклопци за затварање одвода, који се могу закључавати, могу бити корисни у неким околностима.

Подни сливници нису од суштинске важности у свим просторијама за смештај животиња, посебно оних за смештај глодара. Подови у таквим просторијама могу се задовољавајуће одржавати влажним усисавањем или чишћењем одговарајућим једињењима за чишћење или средствима за дезинфекцију. Постављање подних одвода у овим објектима омогућава флексибилност за будуће коришћење ових објеката и за смештај других животињских врста.

### **Зидови и плафони**

Зидови и плафони треба да буду глатки, отпорни на влагу, без могућности апсорпције и отпорни на оштећења од удара. Они треба да буду без пукотина, а са слободним приступом свим инсталацијама, и добрим спојевима са вратима, подовима и у угловима. Површински материјали треба да буду у стању да издрже чишћење детерџентима и дезинфекционим средствима, као и дејство воде под високим притиском. Употреба ивичњака, ограда или браника може заштити зидове и углове од оштећења, а такви предмети треба да буду чврсти или затворени како би се спречио приступ и скровиште за штеточине. Плафони које чине бетонске плоче изнад су задовољавајући ако су глатке површине и непропусни, а могу бити обојени. Спуштени плафони су генерално непожељни у просторијама за смештај животиња, осим ако нису потпуно задихтовани. Када се користе, они треба да буду



израђени од непропусног материјала, имају површину која се може прати, и бити без лоших спојева. Изложене водоводне и друге инсталације и светиљке су непожељне, осим ако се њихове површине могу лако очистити.

## Вентилација, грејање и расхлађивање

Правилно пројектовање и функционисање система за вентилацију, грејање и расхлађивање је од суштинског значаја да би се обезбедила контрола микроклиматских услова. Контрола температуре и влажности смањује варијације које настају услед промене климатских услова или разлика у броју и врсти животиња и опреме у једном простору за смештај животиња. Херметизација помаже у контроли контаминације ваздуха и ширењу мириса, омогућавајући усмерени проток ваздуха између простора. Просторије за карантин, смештај и коришћење животиња изложених опасним материјама и смештај човеколиких мајмуна треба држати под негативним притиском (у односу на атмосферски притисак), а просторије за операције или складиштење чисте опреме треба држати под позитивним притиском са чистим ваздухом.

Системи за вентилацију, грејање и расхлађивање треба да буду дизајнирани тако да буду поуздани, једноставни за одржавање, енергетски ефикасни и у стању да испуне услове за одређене животињске врсте. Ови системи морају бити и флексибилни и прилагодљиви променљивим врстама и броју животиња и опреме који се користе. Они треба да буду у стању да одрже одговарајућу температуру у распону од  $\pm 1$  °C. Релативна влажност ваздуха треба генерално да се одржава у распону 30–70% током целе године. Иако је одржавање влажности у одређеном опсегу у дужем временском периоду изузетно тешко, дневне осцилације (посебно када је у питању држање великих животињских врста) треба свести на минимум. Ако одступања нису честа и знатна, мало је вероватно да ће негативно утицати на животиње. Идеална релативна влажност ваздуха се треба одржавати унутар  $\pm 10\%$  од задате. Међутим, то може бити тешко остварљиво под одређеним околностима.

Претходно наведене температуре и влажности ваздуха могу се изменити у складу са посебним потребама појединих животиња. Поред тога, морају се узети у обзир и микроклиматски услови, као што су они који владају у појединачним кавезима, где влага и температура могу превазилазити ниво који је у самој просторији.

У објектима за смештај животиња најчешће се користе системи са константном запремином ваздуха која се мења у јединици времена. Међутим, системи променљиве запремине могу имати оперативне предности, као што су омогућавање променљиве стопе вентилације у складу са топлотним оптерећењем и осталим факторима. Ови системи нуде значајне предности у погледу флексибилности и уштеде енергије.

Температура се најбоље регулише тако што се помоћу термостата контролише сваки смештајни простор. Коришћење зонске контроле за више простора може довести до температурне разлике између простора у зони због разлика у густини животиња и различитог топлотног губитка у вентилационим каналима и другим површинама у зони. Индивидуална контрола простора се обично постиже тако што

се сваки простор загрева засебним системом. Ови системи морају бити конструисани тако да је онемогућено прегревање смештајног простора.

Контрола хумидификације у смештајним просторима је потребна, нарочито за врсте са смањеном толеранцијом за ниску влажност (нпр. човеколики мајмуни) или високу влажност (нпр. зечеви).

Већина ових система дизајнирана је за просечне температурне варијације у географском подручју. Умерене флукуације температуре и релативне влажности, све док су кратке и ретке, углавном се добро толеришу код већине врста које се обично користе у истраживањима. Смештајни простор треба да буде дизајниран тако да умањи варирање температуре и релативне влажности изван препоручених вредности услед варијација у спољашњој средини. Такве мере могу укључивати делимичну рецикулацију ваздуха, измењену вентилацију или коришћење пратеће опреме.

У случају квара, систем треба да омогући одржање минималних услова неопходних за одржање живота. Привремене потребе се обично обезбеђују коришћењем пратеће опреме. Конструкција система треба да спречи увлачење дима, издувних гасова и других штетних материја. Ваздух се обично филтрира тако да се уклања 85–95% прашине, а може бити примењено и ефикасније филтрирање за специјализоване просторе, као што су хируршки објекти.

### **Снабдевање електричном енергијом и осветљење**

Електрични систем треба да буде безбедан и да обезбеђује одговарајуће осветљење, довољан број утичница и адекватну амперажу за специјализовану опрему. У случају нестанка струје, алтернативно напајање треба да буде доступно за одржавање виталних система (нпр. вентилациони или системи за одржавање живота водених врста), као и пратећих система (нпр. замрзивача). Треба обезбедити опрему којој је неопходно непрекидно напајање, како би се спречило случајно искључење са мреже.

Извори светлости, тајмери, прекидачи и утичнице треба да буду прописно затворени како би се спречило приступ штеточинама. У објектима за смештај животиња се обично користи уграђено и енергетски ефикасно флуоресцентно осветљење. Спектрални квалитет светла може бити важан за неке врсте када се држе у лабораторији; у овим случајевима осветљење широког спектра може бити прикладније решење.

Систем осветљења са временском контролом треба користити како би се осигурало дневни циклус осветљења. Осветљење различитих нивоа може се користити за врсте које су осетљиве према високом интензитету светлости, као што су албино глодари. У овом случају, осветљење ниског интензитета се користи како би се обезбедио дневни циклус, а осветљење већег интензитета се користи по потреби (нпр. када рад особља захтева повећану видљивост). Сијалице и утичнице треба да буду опремљене заштитним поклопцем како би се осигурала безбедност животиња и особља. Прекидаче и утичнице отпорне на влагу са уземљењем треба

користити у подручјима са високом влагом, као што су области за прање кавеза и објекти за смештај акватичних организама.

### Складишни простори

Адекватан простор треба да буде доступан за складиштење опреме, материјала, хране, простирке, и отпада (Слика 5.). Ходници нису одговарајућа област за складиштење. Складишни простор може бити смањен када је испорука материјала поуздана и честа. Међутим, требало би да буде довољан да омогући складиштење основних материјала како би се осигурала неометана нега животиња и одржавање објекта у ванредним ситуацијама (нпр. ако касни испорука).



Слика 5. Просторије за складиштење хране, простирке и опреме

Простирка и храна треба да се чувају у посебној просторији заштићеној од штеточина и од могућности контаминације токсичним и опасним материјама. Просторије које се користе за складиштење хране не би требало да буду изложене повишеним температурама или релативној влажности ваздуха током дужег временског периода. Расхладна складишта треба да буду одвојена од других складишних простора. Фрижидери за складиштење угинулих животиња и отпадака животињског ткива треба да буду одвојени од осталих фрижидера. Температура у њима треба да буде испод 7 °С како би се смањило труљење отпада и животињских лешева, а треба да буду изграђени на начин који олакшава чишћење и дезинфекцију.

### Контрола буке

Бука је важан фактор у објектима за смештај животиња и треба је узети у обзир још у фази планирања новог објекта или реконструкције постојећег. Помоћне

просторије, као што су просторије за прање кавеза, у којима се ствара бука већег интензитета, морају бити одвојене и звучно изоловане од просторија за смештај животиња и просторија за извођење огледа. Зидани зидови су због своје густине генерално добри звучни изолатори, али сличан ефекат може се постићи употребом других материјала и адекватним дизајном преграда. На пример, материјали који су уједно и добри звучни изолатори и лаки за чишћење и одржавање могу се користити за облагање зидова и плафона, који су направљени од материјала који нису адекватни звучни изолатори.

Добро конструисан ходник и положај врата или двострука врата могу помоћи да се контролише пренос звука дуж ходника. Треба обратити пажњу на смањивање нивоа буке коју ствара опрема и други системи, као што су системи за дојаву пожара и системи разгласа. Они треба да буду одабрани и постављени тако да се максимално умање потенцијалне сметње које могу изазвати. Локација опреме која је у стању да произведе звук ултразвучних фреквенција је важна јер неке врсте могу чути такве високе фреквенције. Одабиру опреме која не ствара буку ултразвучног опсега треба дати предност за објекте за смештај глодара.

### **Контрола вибрација**

Вибрације могу настати из машинске опреме, електричних уређаја и других извора или из удаљених извора (пренос преко тла). Што се тиче других извора, посебну пажњу треба обратити на конструкцију зграде, поготово ако ће објекат за смештај животиња бити смештен изнад, испод или у непосредној близини пруга или путева.

Као и по питању буке, различите врсте могу да осете вибрације различитих фреквенција и таласних дужина. Због тога треба покушати да се идентификују сви извори вибрација и изолују или ублаже системима за њихово сузбијање.

### **Просторије за санитацију**

Изузетно је важно да се у објекту обезбеде посебне просторије за потребе чишћења и дезинфекције кавеза и пратеће опреме. Неопходно је да механичка опрема за прање кавеза буде изабрана у складу са типом кавеза који се користи. При планирању, изградњи и опремању ових просторија треба узети у обзир следеће факторе:

- локацију у односу на просторије за смештај животиња, одлагање отпада и складиштење,
- омогућавање лаког приступа, укључујући и врата довољне ширине да би се олакшало кретање опреме,
- обезбеђење довољно простора за постављање и маневрисање опремом,
- могућност одлагања отпада,

- једноставност чишћења и дезинфекција просторије,
- ток кретања који раздваја животиње и опрему који се крећу између чисте и прљаве области,
- могућност обезбеђења разлике у притиску ваздуха између простора у циљу смањења потенцијала за унакрсну контаминацију између запрљане и чисте опреме,
- могућност изолације зидова и плафона где је то потребно,
- умањење буке,
- постојање адекватних инсталација, као што су топле и хладне воде, паре, подних одвода, електричних инсталација,
- адекватна вентилација, укључујући и инсталације за одвођење паре и испарења из ових просторија,
- смањивање вибрација, нарочито ако су животиње смештене директно изнад, испод, или непосредно до ових просторија,
- адекватни услови за рад особља,
- обезбеђивање сигурности при раду (изложени водови топле воде и паре прописно изоловани; спречавање излагању аеросолима; сигурносни уређаји који спречавају повреде и сл.).

### **Праћење амбијенталних фактора**

Праћење амбијенталних фактора у просторима за смештај животиња и другим просторијама у оквиру објекта има велики значај. Аутоматизовани системи за праћење, који обавештавају особље о одступању појединих параметара од прописаних вредности, доприносе како унапређењу добробити огледних животиња и квалитету самог огледа, тако и безбедности особља. Функцију и тачност таквих система треба редовно процењивати, а о томе водити уредну документацију.

### **Безбедност и контрола приступа**

Постоји више разлога због којих треба да се обезбеди сигурност и контрола приступа просторијама у којима су смештене огледне животиње. Већина огледних животиња је осетљива на инфекције па стога приступ треба строго контролисати и омогућити га само особљу које има одговарајућу обуку и оправдан разлог за приступ. Животиње које се користе у студијама са опасним материјама захтевају посебне мере опреза. Када је то могуће, овакве огледе треба вршити у специјализованим објектима.

Сигурност и контрола приступа обично се спроводе по зонама, од зона са најмањим до зона са највећим степеном безбедносних ризика. Мере сигурности се најчешће састоје од обезбеђења, физичких баријера и контролних уређаја. Обим система безбедности треба да зависи од величине објекта као и природе активности које се у њему спроводе.

Класични системи имају пуно недостатака, али се лако примењују и јефтини су. Безбедност може бити унапређена и помоћу система за надзор. Ови системи могу радити континуално или могу бити активирани покретом или тајмером. Електронски системи се користе због великог броја контролних тачака и особља које захтевају приступ. Ови системи обично користе електронске кључеве или карте и пратеће читаче. Ови системи, поред контроле приступа, омогућавају снимање времена, места и осталих података. Најсавременији системи омогућавају биометријско читавање. Овакви системи су комплексни и скупи. Исто тако, саобраћајни приступ објекту треба да буде ограничен и, када је то неопходно, контролисан и праћен.

## 8.6 Специјални објекти

### Хируршки блок

Дизајн хируршког блока треба да буде прилагођен животињској врсти и сложености процедура које треба да се изврше. Тај објекат нужно постаје већи и сложенији сразмерно броју и величини животиња или сложености оперативне процедуре. На пример, значајно већи објекат је потребан за оперативне процедуре на фармским животињама, за рад великих хируршких тимова, адекватну употребу уређаја за снимање, роботских хируршких система и/или лапароскопске опреме. Хируршки објекти за фармске животиње морају испунити и додатне захтеве у погледу подних сливника, специјалних безбедносних уређаја, као и хидрауличног операционог стола. Овај простор треба да буде посвећен хирургији и везаним активностима у циљу смањења могућности за контаминацију од других активности.

Спајање хируршких објеката са дијагностичким лабораторијама, објектима за снимање, објектима за смештај животиња, канцеларијама за особље и тако даље, треба узети у обзир у укупном контексту сложености хируршког програма. Централизовани хируршки објекти имају предност због оптималног искоришћавања опреме, очувања простора и кадровских ресурса, као и смањеног транзита животиња. Они такође омогућавају већу безбедност особља и професионални надзор над објектом и процедурама. За већину хируршких програма, овај блок треба да поседује следеће функционалне јединице:

- простор за припрему животиња и особља,
- операциону салу и
- постоперативни опоравак.

Ове јединице треба да буду тако дизајниране да се кретање сведе на минимум и да се раздвоје остале активности од самог хирушког захвата у операционој сали. Раздвајање се најбоље постиже физичким препрекама, али се такође може постићи просторним размаком између подручја у којима се поједине активности врше или временским раздвајањем активности између којих се врши чишћење и дезинфекција.

Хирушки објекти треба да буду оптимално удаљени од других јединица како би се смањило непотребно кретање и могућност загађења. Број особља и њихов ниво активности су директно повезани са нивоом контаминације и учесталости постоперативних инфекција ране. Кретање у самој операционој сали може се смањити уградњом прозора на посматрање, комуникационог система (као што је интерком систем) и избором адекватних локација врата.

Контрола загађења и лакше чишћење треба да буду кључни елементи у дизајну хирушких објеката. Унутрашње површине треба да буду направљене од материјала који су монолитни и отпорни на влагу. Вентилациони системи за снабдевање филтрираним ваздухом са позитивним притиском могу да смање ризик од постоперативних инфекција. Пажљив избор локација за довод ваздуха и вентилационих цеви такође могу да смање загађење. Да би се олакшало чишћење, операционе сале треба да имају што је могуће мање фиксне опреме. Остали битни услови су обезбеђење адекватног осветљења, довољно утичница за пратећу опрему; адекватне гасне линије (за инхалациону анестезију и сл.).

Пратеће јединице хирушког блока треба да буду дизајниране за прање и стерилизацију инструмената и за чување инструмената и прибора. У овим јединицама се обично смештају аутоклави. Пожељно је да припремне јединице имају велики лавабо како би се олакшало прање и спречило просипање воде по подовима. Тоалетни простор, као и свлачионице за пресвлачење у хирушку одећу треба да буду на располагању особљу. Било би пожељно да лавабои за хирурге буду опремљени ножном или сензорском славином. Да би се смањило потенцијал контаминације хирушке сале путем аеросола створених током прања, просторија намењена за ту сврху треба да буде физички одвојена.

Јединица за постоперативни опоравак треба да обезбеди све потребе животиња током периода опоравка од анестезије и непосредног постоперативног периода. Она треба да буде постављена тако да омогућава адекватно прање животиње током овог периода. При овоме се требају узети у обзир захтеви везани за неопходну опрему која служи за прање и подршку. Врсте кавеза и опреме за подршку зависе од животињске врсте и оперативне процедуре. Они морају обезбедити основне физиолошке функције, као што су терморегулација и дисање, а уједно се морају лако чистити и одржавати.

У зависности од околности, јединице за постоперативни опоравак за домаће животиње могу бити модификоване просторије за друге намене, али и не морају да постоје уколико се ради у теренским условима. Међутим, мере предострожности се и у овом случају морају предузети у циљу смањења ризика од инфекција и повреда у циљу бржег опоравка животиње и добијања валидних резултата.

## Јединица за изолацију

Јединице за изолацију су дизајниране и конструисане да искључе могућност ширења инфективних агенаса из једног простора у други. Оне могу бити део већег објекта или самосталне јединице. Овакве јединице се користе и за узгој имунодефицијентних животиња, животиња слободних од специфичних патогена (SPF), посебно вредних животиња добијених генетским инжењерингом, као и у другим случајевима када је потребно контролисати микробиолошки статус. Јединице за изолацију су обично опремљене комором са дуплим вратима, као и системима за деконтаминацију (нпр. тушевима) за особље и опрему.

Особље које ради у овим јединицама носи наменску одећу и обућу која је стерилна или за једнократну употребу, као што су кецеље, назувци, рукавице и маске за лице, која се облачи пре уласка. Потрошни материјал, као што је нпр. простирка, преко којег се могу преносити инфективни агенси се аутоклавира или се врши гама озрачивање од стране добављача, док се спољашње површине деконтаминирају на улазу. Пијаћа вода се може аутоклавирати или специфично обрадити (нпр. реверзном осмозом) да би се уклонили инфективни агенси. Кавези и други материјали са којима животиње имају директан контакт требају се стерилисати после прања, а пре поновне употребе. Строго поштовање процедура је неопходно у циљу спречавања контаминације. Само животиње дефинисаног здравственог стања се уводе у ову јединицу, а након напуштања забрањено је увођење без поновног тестирања. Улаз особља је ограничен, а они који имају приступ су обучени у процедурама које умањују могућност контаминације.

Инжењерска решења ових јединица би требала да укључују филтрацију довода ваздуха на високом нивоу (нпр. 95% ефикасни филтери), разлику у притиску између јединице за изолацију у односу на околна подручја, и усмерени проток ваздуха од чистог ка потенцијално контаминираним подручју. У појединим огледима се може користити и специјализована опрема која додатно осигурава изолацију, као што су појединачно изоловани кавези.

## Јединица за имиџинг дијагностику

*In vivo* снимање представља неинвазивну методу за процењивање структуре и функције на нивоу целог организма или ткива и ћелија. Оно омогућава секвенцијално проучавање временских догађаја. Уређаји за ову врсту дијагностике се разликују у технологији која се користи за генерисање слике, структурама које се могу снимати, резолуцији, постојању опасности при раду, као и условима за коришћење. Уређаји могу бити заштићени и не захтевати измене околних структура за сигуран рад, али могу захтевати и додатне бетонске преграде, зидове обложене металом, или друге битне грађевинске карактеристике за сигуран рад или смањивање утицаја на уређаје и активности у суседним просторима. Уређаји за снимање су често скупи и захтевни за одржавање, а могу захтевати специјализован простор за подршку и високо обучено особље за рад. Нарочито треба узети у обзир локацију извора за снимање и простор који може бити угрожен њиме. Без обзира да ли се налази у објекту за смештај животиња или на одвојеној локацији, увек постоји могућност да овај простор представља могућност унакрсне контаминације између различитих група животиња, различитих животињских врста или између животиња



и људи (ако се уређај користи и за животиње и људе). Ово је нарочито значајно због тога што се ови уређаји и пратећа опрема релативно тешко чисте.

Ако се ове јединице налазе изван објекта за смештај животиња, треба развити одговарајуће методе транспорта и путева како би се избегли сви нежељени ефекти транспорта са једне локације на другу. Ако је могуће, животиње не би требало да буду преносене кроз канцеларијски простор и друге просторе у којима бораве људи или преко јавних површина. Поједине методе захтевају да предмет сликања буде непокретан, често у дужим временским периодима током снимања слике. Из овог разлога морају бити доступни и системи за примену анестетика и носећег гаса, као и за скупљање отпадних гасова, и адекватног праћења животних функција животиња.

Одвојено држање гасних резервоара обично је потребно у објектима у којима се користе скенери магнетне резонанце (МР) зато што мора постојати безбедно растојање метала од извора магнетног поља. Избор локације за МР скенере захтева посебну пажњу због своје тежине, магнетног поља (посебно код незаштићених магнета), као и због утицаја металних елемената грађевинског објекта или његових компоненти, посебно оних које нису статичне (нпр. лифтови), а који могу утицати на добијену слику. Већина МР скенера је суперпроводљива и захтева коришћење криогена који могу, у случају цурења, да представљају опасност за особље и животиње. Због овога, просторије са МР скенерима који користе ове гасове морају бити опремљене ламбда сондама и вентилационим системом способним да одстрани инертне гасове.

Многи уређаји за снимање, нарочито они дизајнирани за мале животиње, су самостални и не захтевају посебна прилагођавања просторија. Оперативна конзола уређаја треба да се лоцира даље од самог уређаја за снимање који емитују јонизујуће зрачење. Када нису у употреби, уређаје за снимање, са компонентама које је тешко очистити, треба да заштитити материјалом за једнократну употребу или материјалом који се може ефикасно очистити.

### **Јединица за озрачивање**

Озрачивање лабораторијских животиња може се постићи коришћењем уређаја који емитују гама или икс зраке. Уређаји су обично са уграђеном заштитом па, због тежине заштитног материјала, могу захтевати посебно прилагођено место за инсталацију. Уређаји који емитују гама зрачење су предмет прописа који захтевају поштовање специфичних мера сигурности, надгледања и чишћења.

Приликом избора извора зрачења треба узети у обзир целокупни експериментални протокол. Лоцирање извора зрачења у објекту за смештај животиња може захтевати приступ особља које нормално не би било ту присутно. С друге стране, одвојена локација извора зрачења може захтевати довођење животиње у објекат у којем се обично не налазе. И једна и друга опција имају своје предности и мане и могу директно или индиректно утицати на оглед.

## Просторије за држање опасних материја

Основни циљ постојања ових просторија је смањење или потпуна елиминација могућности излагања лабораторијских животиња, радника, других лица, као и природног окружења потенцијално опасним материјама. Ово се постиже употребом одговарајућих грађевинских и инжињерских решења, развијањем процедура, употребом адекватне опреме али и неким специфичним мерама, као што је вакцинација особља ако је вакцина доступна. Објекти који се користе за проучавање инфективних биолошких агенаса су разврстани у различите нивое биолошке сигурности. Сваки ниво биолошке сигурности животиња (*Animal Biosafety Level* – ABSL) састоји се од комбинације процедура, сигурносне опреме и објеката на основу ризика од потенцијалне инфекције људи.

*Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* (BMBL) из 2009. године дели биосигурносне нивое на следећи начин:

- ABSL-1 садржи агенсе за које није познато да изазивају инфекције људи,
- ABSL-2 садржи агенсе умереног ризика који доводе до болести људи након ингестије или након излагања преко коже или слузокоже,
- ABSL-3 садржи агенсе који изазивају озбиљне и потенцијално смртоносне инфекције и имају потенцијал да се преносе путем аеросола и
- ABSL-4 садржи егзотичне агенсе који представљају висок ризик по живот, за које не постоји доступна вакцина или лечење.

Дизајн објекта, пројектовање, методи саме изградње и коришћени материјали, пуштање у рад и валидација постају комплекснији, а критеријуми све строжи са сваким следећим биосигурносним нивоом.

Објекти у којима се користе биолошки агенси и токсини, који представљају опасност по здравље животиња и биљака или јавног здравља и опште безбедности, морају бити у складу са важећим прописима. Ови прописи предвиђају, између осталих захтева, да је установа регистрована за коришћење одређеног агенса и да се придржава одговарајућих мера безбедности. Специфичне карактеристике објеката, опреме и процедура које се користе зависе, у значајној мери, од тога да ли је одређена опасност честичне или гасовите природе.

Опште карактеристике објеката, које се примењују за све врсте опасности, укључују:

- изолацију животиња и отпада који настаје од њих,
- постојање затворених просторија са одговарајућим улазним системима,
- унутрашње површине које не задржавају прашину и лако се чисте,
- висок ниво измене ваздуха у циљу ублажења загађења радног простора ако се догоди,

- разлику ваздушног притиска како би се осигурало да подручја у којима се налази опасни агенс имају негативан притисак у односу на околна подручја и
- постојање специјализованих система смештаја животиња и одговарајуће пратеће сигурносне опреме.

### **Објекти за бихејвиоралне огледе**

Приликом планирања објекта за испитивање понашања, посебну пажњу треба посветити свим аспектима дизајна, изградње, опреме и начина коришћења, а који могу представљати факторе који неадекватно подстичу чула огледних животиња. То је често неопходно током целокупног периода држања огледних животиња, а посебно током самог периода тестирања и посматрања. Ово подразумева стриктну контролу над аудитивним, визуелним, тактилним и мирисним стимулусима.

Место на коме се налази објекат, као и начин пројектовања и изградње, морају бити пажљиво одабрани да би се умањио пренос буке и вибрација. Бука и вибрације могу настати од саме структуре грађевинског објекта, опреме, или од људских активности. Поред самог интензитета звука, врло велики значај има и његова фреквенција, зато што све врсте огледних животиња немају подједнако развијен опсег фреквенција у коме могу регистровати звук. Исто тако, различите фреквенције могу изазвати и различите физиолошке одговоре код огледних животиња. Ови негативни утицаји буке и вибрација могу се умањити избором одговарајућег грађевинског материјала, техника и опреме. На пример, системе за одржавање микроклиматских услова треба осмислити и изабрати компоненте тако да се умањи стварање буке, укључујући и ултразвучне фреквенције; врата на просторијама у којима су смештене животиње требало би да буду опремљене механизмом који спречава њихово бучно затварање; сви извори буке који нису неопходни требало би да буду смештени изван просторија за смештај животиња; број и динамику кретања особља треба свести на минимум, како у просторијама за смештај животиња, тако и у околним просторијама.

Поједини системи који спречавају пренос буке и вибрација уједно могу штитити и од других непожељних утицаја. На пример, дупла врата са предворјем могу бити корисна не само јер стварају звучну баријеру, већ задржавају и мирисе и светлост од уласка у просторију за смештај огледних животиња. Подне и зидне облоге, које смањују пренос звука, уједно могу спречавати и тактилне и визуелне стимулусе. Оне уједно треба да омогуће постављање одвода и инсталација, као и да обезбеде довољну носивост и покретљивост, на начин на који то неће утицати негативно на само извођење огледа.

Посебну пажњу треба обратити на контролу визуелних стимулуса. Ово је посебно битно у циркадијалним студијама. Избор типа, интензитет и контролу осветљења треба прилагодити врсти огледне животиње и самом дизајну огледа. За ова истраживања често је неопходно обезбедити доста специјализованих система. За оваква истраживања су, такође, обично неопходни објекти који поседују специфичне грађевинске карактеристике.

Херметичка изолација просторија уз контролисано кретање ваздуха, као и обезбеђивање разлике у притисцима ваздуха између простора, може да спречи пренос мириса који могу утицати на активности и на тај начин смањити ризик од измењених одговора у бихејвиоралним студијама.

Када је то могуће, опрема за испитивање треба да буде дизајнирана тако да се омогући површинска дезинфекција између испитивања. Компоненте које се не могу очистити или дезинфиковати, као што су компјутери и опрема за снимање, треба да се налазе у областима у којима је мало вероватан контакт са животињама те треба да буду покривени, или на други начин заштићени када се не користе. Потребно је, такође, обезбедити довољно простора за складиштење апарата и опреме.

Превоз до и из области тестирања може изменити одговор у понашању, па то обавезно треба узети у обзир. Из овог разлога, приликом извођења бихејвиоралних студија, од виталног је значаја да се обезбеде просторије за држање животиња у непосредној близини просторија у којима ће се спроводити сам оглед. Наравно, и ове просторије морају испунити све услове који су неопходни за ову врсту истраживања.

### **Објекти за акватичне организме**

Многе од грађевинских карактеристика које су претходно описане важе за објекте за смештај акватичних врста. Међутим, овде посебну пажњу треба посветити системима који се користе и за одржавање оптималне водене средине. Сложеност ових система зависи од животињске врсте, величине, односно запремине, као и самог огледног дизајна. Сви системи захтевају извор воде, што може захтевати претходну припрему (нпр. УВ стерилизацију, ултрафилтрацију и сл.). Објекти за акватичне врсте, такође, захтевају канализационе одводе одговарајућег броја и капацитета у циљу уклањања отпадних вода из самог резервоара или за одржавање система. Ови одводи треба да онемогуће пролаз животиња или опасних материја у канализациони систем без одговарајућег третмана.

Материјали који се користе за подове, зидове и плафоне требало би да буду отпорани на воду док подови треба да спречавају клизање и могу да издрже оптерећење које је повезано са великим количинама воде. Електрични уређаји или водови треба да буду добро уземљени како би се спречила могућност струјног удара особља и животиња. Опрема која је изложена високом нивоу влаге или корозивима треба да буде од материјала отпорних на корозију. Све компоненте самог простора за животиње, система за одржавање, водоводних инсталација, укључујући и материјале за повезивање компоненти (лепкове и сл.) требало би да буду конструисане од материјала који су нетоксични и биолошки инертни. Систем за одржавање микроклиматских услова треба да спречи нагомилавање влаге на површинама и омогући одржавање одговарајуће температуре.

## 8.7 Системи и опрема за смештај лабораторијских животиња

Смештај огледних животиња подразумева примарни и секундарни смештајни простор. Примарни смештајни простор означава боксеве, кавезе и сандуке, док секундарни смештајни простор означава просторију у којој су они смештени. Постоје два система смештаја:

- подни и
- кавезни.

Подни систем смештаја захтева постојање посебних просторија са боксевима прилагођеним врстама животиња које се у њима држе. На овај начин се могу држати пси, мачке, кунићи и заморци. Ове врсте огледних животиња могу да се држе и у кавезима, појединачно или групно.

### 8.7.1 Кавези

За смештај лабораторијских глодара и кунића углавном служе различити типови кавеза. Кавези се држе на посебним носачима или полицама које могу имати више етажа (Слика 6.). Димензије кавеза треба да буду прилагођене врсти лабораторијских животиња и у складу са законском регулативом.



Слика 6. Носачи и кавези за смештај лабораторијских глодара

Кавези су углавном направљени од нерђајућег челика или отпорне пластичне масе. Кавези од поликарбоната су провидни и отпорни, док су кавези од полистирена и полипропилена мање отпорни на високе температуре. Полипропиленски кавези нису транспарентни. Њихова предност је да обезбеђују приватност лабораторијским животињама, али они не смеју да се поставе на полице изнад нивоа очију особља.

Кавези могу да буду са решеткастим или перфорираним подовима испод којих се налази тацна у којој се сакупља фецес и урин. Такође, под кавеза може бити пун и тада се обавезно користи простирка.

Избор кавеза и кавезног система зависи од огледног протокола. Кавези и кавезни системи могу се поделити на следећи начин:

- кавези у типу кутија за ципеле,
- велики кавези са пуним подом,
- кавези са перфорираним подом,
- метаболички кавези,
- транспортни кавези,
- кавези за фиксацију,
- кавези за оперантно кондиционирање,
- кавези са већим бројем партија,
- флексибилни филм изолатори,
- кавези са филтерима на врху,
- вентилирани кавезни кабинети и појединачно вентилисани кавезни системи.

Кавези у типу кутија за ципеле користе се за ситне глодаре. Ови кавези се углавном праве од пластичних маса. Дрвени сандуци се користе за смештај малих популација лабораторијских глодара. Метаболички кавези служе углавном за истраживања, у којима се сакупљају узорци фецеса и урина или испитује унос хране и воде или размена гасова. Кавези са пуним подом или решеткастим и перфорираним подом користе се за групно држање замораца и кунића. Постоје и наменски кавези као што су транспортни кавези, кавези за фиксацију лабораторијских животиња, кавези за оперантно кондиционирање и сл.

## 8.7.2 Простирка

Простирка мора да задовољава следеће основне захтеве:

- да упија влагу и везује штетне гасове (амонијак),
- да не ствара прашину,
- да није добра подлога за раст микроорганизама,
- да је нејестива, неукусна и без мириса,
- да није штетна по људе и животиње,
- да се лако стерилише и складишти,
- да није запаљива и др.

Контактна простирка се ставља у кавезе са пуним подом и може бити од различитог материјала као што су дрвена струготина (пиљевина), плева од житарица, слама, папирне траке, папирни убриси и сл. (Слика 7.). Неконтактна простирка се ставља у тацне које се налазе испод решеткастог или перфорираног пода кавеза и има облик папирних пелета и папирне пулпе. Постоје и посебне, обогаћене подне простирке у виду јастучића од папира или памука.



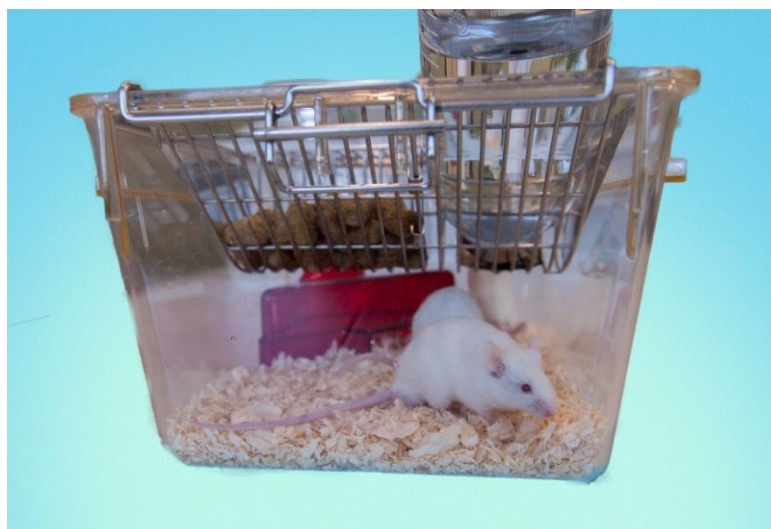
**Слика 7.** Дрвена струготина (пиљевина) као контактна простирка

Простирка за огледне животиње мора да се мења најмање једном у 7 дана, а по потреби и чешће. Пре стављања у кавезе простирка се подвргава процесу стерилизације.

## 8.8 Услови за смештај појединих врста лабораторијских животиња

### 8.8.1 Услови за смештај мишева

Лабораторијски мишеви се држе у групама, а у једном кавезу не би требало да буде више од 30 јединки (Слика 8.). У кавезима је потребно обезбедити око  $180\text{ cm}^2$  површине за једну одраслу животињу, док је по једној женки са младима потребно око  $200\text{ cm}^2$  површине. Висина кавеза треба минимално да буде 12 cm. Кавези требају да буду са чврстим дном, а пошто мишеви не подносе влажну простирку, она мора добро апсорбовати влагу, бити добар изолатор и редовно се мењати. Женкама је за потребе прављења гнезда потребно обезбедити и додатне нејестиве материјале, као што је исецкан папир или памучна вата. Кавези са жичаним подом користе се само када то захтева експериментални протокол.



Слика 8. Лабораторијски мишеви у кавезу

Оптимална температура у просторији треба да буде између 21 и 24 °C, а релативна влажност ваздуха између 50 и 60%.

### 8.8.2 Услови за смештај пацова

Лабораторијски пацови се могу држати групно и појединачно. За једну одраслу јединку је потребно око  $250\text{ cm}^2$  површине, док је за једну женку са младима потребно око  $800\text{ cm}^2$  површине. Минимална потребна висина кавеза је око 14 cm. Лабораторијски пацови се могу држати у металним или пластичним кавезима (Слика 9.).





**Слика 9.** Лабораторијски пацов у кавезу

Оптимальна температура у просторији треба да буде између 20 и 24 °С, а релативна влажност ваздуха око 60%.

### **8.8.3 Услови за смештај замораца**

Заморци се држе у групама у кавезима са чврстим дном. У кавезима је потребно обезбедити око 600 cm<sup>2</sup> површине за једну одраслу животињу, док је по једној женки са младима потребно око 1200 cm<sup>2</sup> површине. Висина кавеза треба минимално да буде 18 cm.

Оптимальна температура у просторији треба да буде између 20 и 24 °С, а релативна влажност ваздуха око 50%. Дневно-ноћни циклус требало би да траје по 14 сати светла и 10 сати мрака.

#### **8.8.4 Услови за смештај хрчкова**

Хрчци се држе индивидуално, а за смештај су најпогоднији пластични кавези, минималне висине од 12 cm. Потребно је обезбедити око 180 cm<sup>2</sup> површине за једну одраслу животињу, док је за једну женку са младима потребно око 650 cm<sup>2</sup> површине. Као простирка се користи дрвена струготина, док се као материјал за гнездо користи исечени папир или сено. За држање хрчака препоручује се амбијентална температура у распону од 20 до 23 °C, док релативна влажност ваздуха треба да буде између 50 и 60%.

#### **8.8.5 Услови за смештај кунића**

За смештај кунића се најчешће користе пластични кавези, основе 75 x 90 cm и висине 30 до 40 cm. Животиње се могу држати индивидуално, и у том случају се мужјаци одвајају одмах након одбијања, док се женке одвајају у узрасту од 12 недеља. Кунићи се могу држати и групно, у мањим групама. За једну одраслу јединку потребно је око 1400 до 3600 cm<sup>2</sup> површине, док је за једну женку са младима потребно од 3000 до 5000 cm<sup>2</sup> површине. Гнездо мора бити довољно велико, а као материјал се користи сено, слама или вата.

Оптимална температура у просторији треба да буде између 15 и 21 °C, а релативна влажност ваздуха између 50 и 60%. Дневно-ноћни циклус требало би да траје по 12 сати.

#### **8.8.6 Услови за смештај гербила**

Гербили се држе у пластичним или металним кавезима са чврстим дном. Као простирка се могу користити дрвена струготина или песак. За једну одраслу јединку је потребно око 230 cm<sup>2</sup> површине, док је за један пар са младима потребно 1300 cm<sup>2</sup> површине. За држање гербила се препоручује амбијентална температура у распону од 20 до 24 °C, док релативна влажност ваздуха треба да буде између 35 и 45%.

#### **8.8.7 Услови за смештај других врста огледних животиња**

Држање других врста огледних животиња мора бити у складу са зоохигијенским захтевима који су дефинисани за одговарајућу врсту, а чије би навођење на овом месту превазишло оквире овог уџбеника.

## 8.9 Оплећењавање смештајног простора

Оплећењавањем смештајног простора стварају се такви услови да животиње у заточеништву могу испољити природне облике понашања и који им омогућавају задовољавање физиолошких потреба. Овим се смањује могућност јављања етопатија – поремећаја у понашању, који се манифестују као стереотипије (бесциљни и нефункционални облици понашања са истим редоследом активности), преусмерени облици понашања, поремећаји реактивности (ареактивност, хипореактивност и хиперреактивност) и др.

Структурно оплећењавање примарног смештајног простора подразумева стављање у кавезе различитих предмета који служе да животиње испоље различите облике понашања које су карактеристичне за врсту (Слика 10.). Ови предмети могу бити преграде, гредице, мердевине, пењалице, котури, тунели и сл. Оплећењавање примарног смештајног простора које мотивише лабораторијске животиње на кретање и манипулисање различитим предметима истовремено повећава и когнитивне способности.



Слика 10. Простор за сакривање у кавезу (означен стрелицом)

Социјално оплећењавање примарног смештајног простора подразумева омогућавање лабораторијским животињама да испоље социјалне облике понашања путем директног физичког, визуелног, олфакторног или аудиторног контакта са животињама исте врсте.

## 8.10 Санитација

Пре сваке нове употребе просторија и опреме мора да се спроведе њихова детаљна санитација. У објектима за смештај огледних животиња спроводи се тростепена санитација:

- преекспериментална (превентивна),
- експериментална (текућа) и
- постекспериментална (завршна).

Примарни смештајни објекти (боксеви, кавези и сандуци) за огледне животиње најмање се једном недељно подвргавају детаљном механичком чишћењу, санитарном прању и дезинфекцији. Ово подразумева прање употребом механичке опреме и воде температуре изнад 83 °C у периоду од 10 минута и применом средстава за дезинфекцију. Након примене средстава за дезинфекцију кавези морају добро да се исперу како на њима не би заостајале резидуе.

Огледне животиње се једном недељно морају пребацити у чисте и дезинфиковане кавезе, а простирка у кавезима мора да се одржава сувом и чистом, тако да ниво амонијака у кавезу не прелази максимално дозвољени ниво. Код мањих огледних животиња простирка се мења једном до два пута недељно, а код крупнијих сваког дана. Сав отпадни материјал, из примарног и секундарног смештајног простора, мора редовно да се сакупља и одлаже у наменске контејнере и редовно односи на прописан начин.

## **9.0 Експериментални поступци**

### **9.1 Обележавање огледних животиња**

Све животиње у огледу морају бити обележене на начин који ће омогућити њихову сигурну идентификацију. Поред овог основног услова, сам начин обележавања мора бити такав да њиме буде у потпуности испоштована добробит животиња, али и да је економски оправдан и релативно једноставан (и за обележавање и за читавање).

Под обележавањем огледних животиња подразумева се обележавање самих животиња (индивидуално обележавање), али и кавеза, односно смештајног простора. Држањем само једне животиње у означеном кавезу омогућава индивидуалну идентификацију, без означавања саме животиње.

Поред напред наведеног, све просторије у институцији у којој се врше огледи потребно је прописно обележити, доделити им одговарајуће бројеве или другу врсту ознаке.

#### **9.1.1 Индивидуално обележавање огледних животиња**

Различити начини обележавања се користе за различите врсте огледних животиња. Не постоји одређено правило којим је утврђено који начин обележавања се мора користити, али је прихваћено да се исти метод обележавања користи у оквиру исте огледне јединице. Ознаке које се користе за индивидуално обележавање огледних животиња могу се поделити на:

- привремене и
- трајне.

#### **Привремене ознаке**

Беле или животиње светлије боје се могу означавати нетоксичним бојама које не бледе брзо. На пример, може се користити алкохолни раствор пикринске киселине за обележавање лабораторијских мишева (Слика 11.). Уобичајно је да се мишеви бојом обележавају по глави, ушима, леђима и ногама, а овакав начин обележавања може трајати два до три месеца. За овакав начин обележавања могу се користити и друге боје, као што је метиленско плаво. Уколико су животиње које се означавају тамнијих боја, пре обележавања бојом длака се може обријати.



**Слика 11.** Обележавање раствором пикринске киселине  
пацова (лево) и миша (десно)

За обележавање лабораторијских глодара могу да се користе маркери за писање ознака по ушима и репу или по длаци. Уколико се обележавање огледних животиња планира за период дужи од седам дана, обележавање маркерима се мора понављати сваке недеље.

Уклањање длаке се такође може користити као самостални начин обележавања. Длака се може уклонити механички, помоћу маказа са заобљеним врхом (шишање) или помоћу жилета (бријање). Овакве ознаке трају до четрнаест дана. Поред механичког уклањања, длаку је могуће уклонити и хемијским путем, помоћу крема за депилацију. Главне компоненте крема за депилацију су натријум-сулфид, калцијум-сулфид и баријум-сулфид. Пожељно је да се пре апликације креме за депилацију длака скрати како би се могла користити мања количина креме. Крема се након наношења оставља 2 до 3 минута, а затим се пере млаком водом и суши газом. Препоручљиво је да се те животиње не укључују истог дана у оглед.

### **Трајне ознаке**

Као вид трајног означавања могу се користити индивидуалне карактеристике код вишебојних (шарених) животиња – тзв. природне индивидуалне ознаке.

Ушне ознаке (маркице) могу се користити за трајну индивидуалну идентификацију. Оне могу бити металне или пластичне, а њихова величина зависи од животињске врсте којој су намењене (за мишеве око 5 mm). Ушне маркице се пре примене морају дезинфиковати (70%-тни алкохол).

Тетовир ознаке се као вид трајног означавања углавном стављају на део тела који није обрастао длакама. Тетовирање се обавља електричном машином, а игла за тетовирање мора бити оштра и стерилна. Обележавање тетовирањем се мора обављати под општом анестезијом. Микротетовирање се врши убризгавањем мастила различитих боја за тетовирање у кожу на ушима или у педални део прстију, стопала.

Микрочипови се имплантирају поткожно у пределу врата или раменог појаса. При имплантацији се користи релативно велика игла, па се овај поступак обавља на животињама код којих је претходно спроведена анестезија. Из лешева уинулих или жртвованих животиња могу да се изваде микрочипови, да се темељно очисте, стерилишу и поново користе. За читавање чипова се користе посебни читачи, а овај вид означавања је погодан за многе животињске врсте укључујући и мишеве. Стандардна величина микрочипа за мишеве износи 2x13 mm, а они се не имплантирају мишевима млађим од три недеље.

Огрлице у различитим бојама, са медаљонима или без њих, могу се користити за обележавање паса и мачака.

Ровашење ушију се може користити као вид трајног обележавања. Ровашење ушију се обавља под анестезијом, помоћу специјалног алата или маказа. На овај начин се не смеју обележавати мишеви млађи од две недеље. При ровашењу ушију, део ткива који се одваја овим поступком може се узорковати и чувати за генотипизацију, чиме се спречава биопсија делова репа у исте сврхе.

Сечење прстију ради индивидуалне идентификације у краткотрајним експериментима забрањено је у већини земаља. Прсти се секу помоћу оштрих маказа, клештима за сечење или скалпелом. На месту сечења претходно се апликује локални анестетик. Ако су мишеви млађи од седам дана, на једној шапи не сме бити одсечено више од два прста. Овај начин обележавања је дозвољен само ако је потребно обавити генотипизацију младунчади пре њиховог залучења или када сечење прстију представља истовремено начин индивидуалне идентификације и начин замене узорковања ткива за генотипизацију биопсијом репа.

### **9.1.2 Обележавање кавеза**

Уколико огледна процедура не захтева индивидуалну идентификацију животиња, погодна је групна идентификација која се врши обележавањем кавеза. На овај начин се сама процедура поједностављује, а животиње нису изложене додатном стресу као при индивидуалном обележавању.

Кавези се обележавају пластифицираним етикетама, које се стављају на врата кавеза (Слика 12.). На овим етикетама је потребно навести: број протокола, податке о издатој дозволи за обављање истраживања, име и презиме истраживача и податке о контакту, име и презиме одговорног лица у институцији у којој се обавља оглед, извор набавке огледних животиња, датум набавке, врсту и ознаку соја, узраст, пол и број огледних животиња, ознаку просторије, третман, датум почетка и планираног завршетка огледа и друге значајне податке.





**Slika 12.** Обележавање кавеза

## 9.2 Фиксација огледних животиња

Фиксација огледних животиња подразумева употребу метода и поступака у циљу ограничавања њиховог кретања приликом извођења одређене експерименталне процедуре. Важно је, већ на почетку, напоменути да је неправилно руковање са огледним животињама узрок значајног стреса и/или бола који, поред тога што су законски и етички неприхватљиви, могу компромитовати цео оглед. Примена аналгетика врло често може довести до промене понашања животиња и утицати на крајње резултате огледа па је зато адекватна фиксација од пресудног значаја. Приликом планирања огледа потребно је да се неопходно руковање са огледним животињама сведе на најмању могућу меру. Успешност фиксације врло често зависи од обучености и искуства особља.

Различите животиње захтевају специфичне методе фиксације. Постоји неколико различитих начина поступања са огледним животињама када је неопходна њихова фиксација, а у зависности од самог огледног протокола.

Физичка фиксација подразумева употребу механичких средстава или држање помоћу руку којима се постиже ограничавање кретања неких или свих животиња ради испитивања, сакупљања узорака, лечења, терапије и експерименталне манипулације (Слика 13.). Животиње се на овај начин фиксирају у краћим временским периодима, обично неколико минута. Ово је најчешће употребљиван начин фиксације и погодан је за велики број експерименталних процедура. Уређаји за физичку фиксацију треба да буду погодни и прилагођени за величину огледне животиње. Они треба да су дизајнирани и да раде на такав начин да максимално умањују неугодност и могућност повреда код огледних животиња, али и код људи



који раде са њима. Уређаји за физичку фиксацију никада не треба да буду стално смештени у просторијама у којима се држе огледне животиње.



**Слика 13.** Средства за механичку фиксацију

На основу дужине трајања, фиксација се може поделити на краткорочну и дугорочну. Краткорочна фиксација огледних животиња обично се користи за добијање узорака (као што је узимање крви), апликацију лекова и различитих материја, вршење одређених прегледа или при поступцима пребацивања, чишћења и сл. Продужена фиксација представља значајан извор стреса за огледне животиње. Уколико огледни протокол захтева овакав поступак, потребно продужено време фиксације треба постепено постићи тако што ће се време фиксације огледних животиња постепено продужавати. На овај начин се оне навикавају на овај поступак и ниво стреса се смањује. Током дужих периода у којима је огледна животиња фиксирана неопходно је вршити праћење њеног општег стања и, у случају значајног погоршања, прекинути фиксацију.

### **Фиксација мишева, пацова и хрчака**

Миш се пре фиксације вади из кавеза тако што се руком хвата за реп, извлачи и ставља на грубу подлогу за коју се миш инстинктивно хвата. Затим се другом, слободном, руком хвата за крзно иза врата и подиже са подлоге. Реп се фиксира између прстију руке (којом се држи за врат). На тај начин миш је фиксиран једном руком, док је друга рука слободна (Слика 14.).



Слика 14. Поступак фиксације миша

Пацов се на исти начин као и миш вади из кавеза и поставља на подлогу. Хватање за крзно иза врата може значајно да узнемири животињу. Уместо тога, пацов се може ухватити око рамена и подићи, при чему постоји опасност од уједања. Да би се ово спречило, палцем треба притиснути доњу вилицу, пазећи да се не угрози дисање.

Приликом фиксације пацова може се користити и кожна рукавица (Слика 15.).



Слика 15. Поступак фиксације пацова

Фиксација хрчка се врши на исти начин као и код пацова.

### **Фиксација заморца**

Заморац није агресивна животиња. Међутим, када се уплаши, он може да трчи великом брзином па га је тешко ухватити у кавезу. Да би се то избегло, животиње се могу умирити пригушеном светлошћу. Заморци се хватају једном руком око рамена и подижу из кавеза, док се другом руком придржава задњи део тела.

### **Фиксација кунића**

Кунићи су плашљиве животиње, али нису агресивне. Уколико се јако уплаше, могу постати агресивни, а изузетно јаки стрес може довести до застоја срчаног рада и смрти. Јако узнемирени кунићи могу се умирити апликацијом дијазепама или кетамина. Кунић се хвата једном руком за крзно иза врата или испод груди (хватајући посебно сваку ногу), док се другом руком придржава задњи део тела и лагано се подиже са подлоге.

Куниће не треба хватати за уши и подизати на тај начин.

### **Фиксација других огледних животиња**

У циљу фиксације осталих огледних животиња (пас, мачка, овца, коза, свиња и др.) користе се одговарајуће методе фиксације у складу са добром ветеринарском праксом.

## **9.3 Апликација лекова и других материја**

Апликација лекова или других материја лабораторијским животињама је често један од најбитнијих делова огледног дизајна. Апликовани могу бити инфективни агенси, разни лекови, вакцине, анестетици и аналгетици, различите материје чије деловање се испитује, дијагностичка средства, електролити, течности, итд. Бројни фактори утичу на одабир начина апликације: врста огледне животиње, узраст и телесна маса, потреба да супстанца делује локално или системски, жељена брзина апсорпције, дистрибуција, метаболизам и екскреција апликоване материје, запремина коју је потребно апликовати, трајање третмана, рН, стабилност, хомогеност, осмоларитет супстанце која ће се апликовати итд. Начин апликације условљен је и тиме да ли се супстанце апликују једнократно или више пута истој животињи. Дозирање, такође, представља важан фактор када се планира оглед. Поред наведеног, увек треба бити свестан и потенцијалних нежељених ефеката везаних за апликацију супстанци, како директних тако и индиректних.

Супстанции и агенси се могу апликовати на два основна начина, у зависности од тога да ли ће та материја деловати локално на месту апликације или ће се ресорбовати. На основу тога разликујемо: локалну (топикалну) апликацију и системску (ресорптивну) апликацију. Системска апликација може бити индиректна или директна (путем инјекција).

На основу начина апликације можемо разликовати апликацију преко коже и приступачних слузокожа, апликацију путем природних отвора и апликацију путем ињекција.

### **9.3.1 Апликација преко коже или приступачних слузокожа**

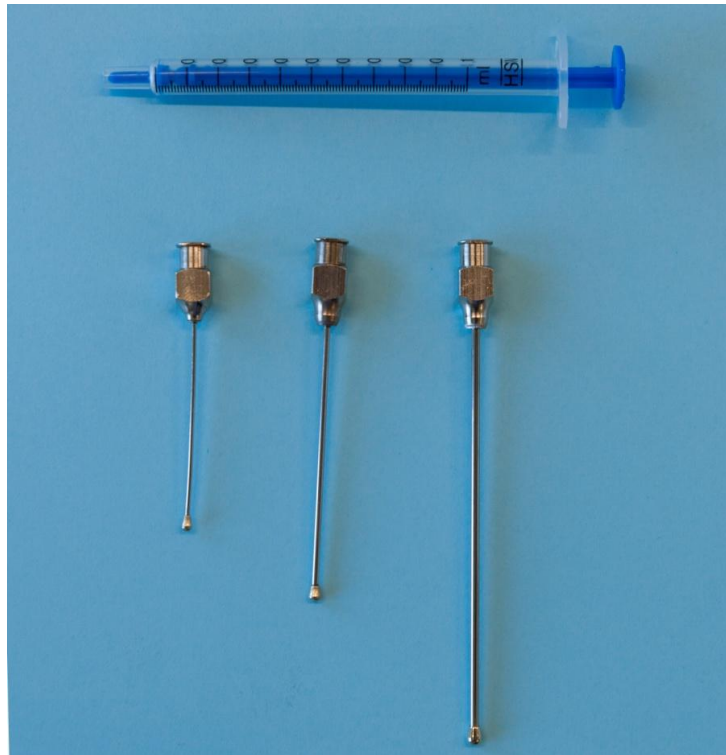
Перкутана апликација је могућа код лабораторијских животиња, али она може имати и негативне последице уколико материја која се аплицира изазива иритацију коже и слузокоже. На овај начин се могу апликовати хидросолубилне материје (у облику водених раствора) или липосолубилне материје (у облику масти или спреја).

### **9.3.2 Апликација путем природних отвора**

Овај вид апликације се може вршити на следеће начин:

- преко уста (перорално),
- преко носних отвора (перназално),
- преко ануса, односно ректума (перанално),
- преко вагине (интравагинално),
- преко млечне жлезде (интрамамарно),
- преко мокраћне бешике (интравезикуларно), итд.

Перорална апликација се може вршити путем хране и воде или путем сонде (Слика 16.). Предност апликације путем хране и воде је што минимално изазива стрес код животиња и релативно је једноставна за извођење. Међутим, главни недостаци овакве апликације су несигурна количина материје која је унета (тачно примљена доза) као и немогућност уношења материја које делују иритантно на слузокожу усне дупље, грла и једњака. Апликација путем сонде представља поступак који изазива већи стрес и захтева фиксацију животиње. У овом случају се могу користити металне или гумене сонде, чији дијаметар одговара врсти лабораторијске животиње.



**Слика 16.** Сонде за пероралну апликацију

Унутрашњи дијаметар сонде не сме бити већи од пречника једњака и разликује се код појединих врста (Табела 1.)

**Табела 1.** Препоручени дијаметар сонди за поједине животињске врсте

| Врста          | Миш | Пацов | Заморац | Зец | Пас | Мачка |
|----------------|-----|-------|---------|-----|-----|-------|
| Дијаметар (mm) | 0,8 | 1–2   | 1,5–2   | 3–5 | 5–7 | 3–5   |

Приликом коришћења металне сонде потребно је користити и отварач за чељуст. Метална сонда треба на свом почетном делу да буде мало повијена и са задебљалим врхом, како би се избегла перфорација. Код зечева, кунића и мачака се уместо отварача за чељуст користи дрвена шпатула која има кружни отвор у средини, док се код паса користи тзв. залогаж. “Залогаж” је обрађени комад дрвета који у свом централном делу има пробијен канал, а фиксира се комадом завоја у устима.

Опасност приликом апликације путем сонде је доспевање садржаја у душник уколико је сонда погрешно пласирана. Уколико дође до апликације у душник, то изазива надражај на кашаљ и може довести до гушења и пнеумоније. Због тога је неопходно увек проверити да ли се сонда налази у једњаку.

### 9.3.3 Апликација путем ињекција (парентерално)

Овај вид представља давање супстанција уз помоћ бризгалице са иглом. Овај вид апликације врше ветеринари или ветеринарски техничари, под надзором ветеринара. За све облике парентералне апликације неопходно је користити стерилне бризгалице и игле, препоручљиво материјал за једнократну употребу. Оваква апликација, углавном, обезбеђује највећу биорасположивост апликоване материје јер се на овај начин избегавају различите сметње везане за ресорпцију у дигестивном тракту, као и ефекат хепатичког метаболизма, који настаје при пероралној апликацији.

Парентерална апликација представља извор бола и стреса за лабораторијске животиње, који је потребно свести на минимум. Начин фиксације треба да буде прилагођен животињској врсти и самом начину апликације. Игле које се користе требају бити адекватне, како се дужим и дебљим иглама не би изазвала непотребна трауматизација ткива. Апликоване материје треба да буду загрејане до собне или телесне температуре зато што апликација расхлађених материја изазива интензивнији бол и може имати и друге нежељене последице. Обавезно се мора водити рачуна и о максималној запремини која се на поједине начине може апликовати, без бојазни да се поремети хомеостаза у организму.

Парентерална апликација може бити изведена на неколико начина:

- интракутано (i.c.) или интрадермално (i.d.),
- супкутано (s.c.),
- интрамускуларно (i.m.),
- интраперитонеално (i.p.) и
- интравенски (i.v.).

Максимална запремина која се може апликовати на парентерални начин зависи од животињске врсте и од самог начина, односно места апликације (Табела 2.).

**Табела 2.** Максимално дозвољени волумени раствора при парентералној апликацији

| Начин апликације<br>(y ml) | Врста животиње и просечна телесна маса (g) |                |               |                  |                 |               |                 |                |
|----------------------------|--|----------------|---------------|------------------|-----------------|---------------|-----------------|----------------|
|                            | Миш<br>(20-30)                             | Пацов<br>(100) | Хрчак<br>(50) | Заморац<br>(250) | Кунић<br>(2500) | Пас<br>(5000) | Мачка<br>(3000) | Голуб<br>(300) |
|                            | s.c.                                       | 0,5–1          | 2–5           | 2,5              | 5–10            | 50–70         | 10              | 5–10           |
| i.m.                       | 0,005                                      | 0,1            | 0,1           | 0,3              | 0,5             | 5             | 1               | 0,5            |
| i.v.                       | 0,5  | 1              | 0,2           | -                | 5–10            | 10–20         | 5–10            | 2              |
| i.p.                       | 1  | 2–5            | 4–5           | 10               | 10–20           | 20–50         | 10–20           | 2              |
| p.o.                       | 2  | 5              | 2,5           | 2–10             | 20              | 100           | 50              | 10             |

Класификација инјекционих игала приказана је у Табели 3.

**Табела 3.** Класификација инјекционих игала на основу дијаметра

| Игла (G)       | 27   | 26   | 25   | 24   | 23   | 22   | 21   | 20   | 19   |
|----------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Дијаметар (mm) | 0,40 | 0,45 | 0,50 | 0,55 | 0,60 | 0,70 | 0,80 | 0,90 | 1,00 |

Дијаметар инјекционих игала које се користе условљен је врстом, односно величином животиње и самим начином апликације (Табела 4.).

**Табела 4.** Тип инјекционе игле (G) у зависности од животињске врсте и начина апликације

| Начин апликације | Животињска врста |       |       |         |       |       |       |        |
|------------------|------------------|-------|-------|---------|-------|-------|-------|--------|
|                  | Миш              | Пацов | Хрчак | Заморац | Зец   | Пас   | Мачка | Мајмун |
| i.c.             | 26               | 26    | 26    | 26      | 26    | 21    | 23    | 24     |
| s.c.             | 26               | 24    | 26    | 24      | 21    |       |       |        |
| i.m.             | 26               | 25    | 26    | 25      | 25    | 21-23 | 25    | 25     |
| i.p.             | 25               | 24    | 25    | 24      | 21    |       |       |        |
| i.v.             | 25               | 24–25 | 27    | 26–27   | 21–23 | 21–23 | 22–24 | 22–25  |



Избор начина апликације зависи од више фактора везаних за тип и циљ огледа. Брзина ресорпције зависи од пута уношења. Најбржи начин ресорпције је интравенски, а затим следе инхалација, интрамускуларна, интраплеурална, интраперитонеална и перорална апликација. Физичко-хемијске особине материје која се апликује, такође, условљавају и пут апликације. На пример, липосолубилне материје се не могу давати интравенски, док се материје које се инактивишу деловањем хлороводоничне киселине не могу давати перорално.

### 9.3.4 Начини апликације код појединих врста огледних животиња

#### Апликација код мишева, пацова и хрчака

Перорална апликација је могућа кроз храну или воду или путем сонде (Слика 17.). Материја која се жели апликовати може се убризгати у мању количину мекане хране која се затим даје животињи да поједе. Уколико су у питању мање палатибилне материје, материје које је потребно прецизно доzirати или које је неопходно апликовати интрагастрично, перорална апликација се врши помоћу флексибилне сонде и бризгалице од 1 ml.



Слика 17. Перорална апликација путем сонде код пацова (горе) и миша (доле)

Супкутана апликација се врши у пределу врата или грудног коша.



Интрамускуларна апликација се врши у *m. quadriceps*. При овоме је неопходно водити рачуна да се апликација врши у дозвољеној запремини и помоћу одговарајуће игле, како би се избегла прекомерна трауматизација мишићног ткива у овој регији.

За интраперитонеалну апликацију је неопходно добро фиксирати животињу. Животињу може фиксирати помоћно лице или се она поставља на плочу за фиксацију. При интраперитонеалној апликацији игла се убада у централну и задњу четвртину абдомена, у продужетку линије задњег екстремитета (Слика 18.). Уколико се ова апликација изводи неправилно, постоји могућност да дође до перфорације мокраћне бешике или убода у јетру.



**Слика 18.** Интраперитонеална апликација код пацова (лево) и миша (десно)

Интравенска апликација се код мишева и пацова врши у латералну репну вену. Уколико су вене слабо видљиве, апликација може бити олакшана потапањем репа у воду загрејану на 35° С. Ово је посебно прикладно код старијих животиња. Интравенска апликација код хрчака врши се у вену сафену.

### **Апликација код замораца**

Перорална апликација се може вршити путем хране или воде или путем еластичне сонде која се, по потреби, уводи до ждрела, једњака или желуца.

Супкутана апликација се изводи у пределу врата или грудног коша.

Интрамускуларна апликација се врши у *m. quadriceps*.

Заморци имају врло мало доступних, површинских вена, па је стога интравенска апликација код њих врло тешка. Поред овога, уколико се животиња помера при апликацији, врло лако долази до оштећења крвних судова. Из овог разлога је врло практично, пре саме апликације, извршити анестезију апликационе

површине помоћу локалног анестетика у облику спреја или креме. Интравенска апликација се може вршити у ушне вене или у брахиоцефаличну вену.

### **Апликација код кунића**

Поткожна апликација се код кунића врши у пределу врата или грудног коша.

Интравенска апликација се врши у спољашњу ушну вену. Пре саме апликације потребно је да се кунић чврсто фиксира, као и да се изврши добра компресија базе ушне шкољке, како би вена постала уочљивија.

Интраперитонеална апликација се врши бочно од средишње линије абдомена, а само место убода треба да буде на подједнаком растојању од ксифоидног продужетка грудне кости и карлице.

### **Апликација код великих огледних животиња**

Приликом апликације код великих огледних животиња, као што су пас, мачка, овца, коза, свиња и др. морају се користити поступци и методе у складу са добром ветеринарском праксом.

## **9.5 Специјални начини апликације код огледних животиња**

### **Апликација у možдане коморе**

Материје се селективно могу уносити у централни нервни систем путем директног убризгавања у možдане коморе. Велики ризик при оваквом начину апликације представља трауматизација možданог ткива. Да би се опасност од ове појаве svela на минимум, користи се техника увођења сталне каниле у možдане коморе мозга пацова (Brakkee, 1979). Ова техника подразумева коришћење белих пацова мужјака, телесне масе око 150 g.

Пацов се прво уводи у општу анестезију помоћу 25%-тног раствора хлоралхидрата који се апликује р.о. Након увођења у анестезију, брије се длака на глави и пацов се поставља на операциони сто у абдоминалном положају. Припрема се оперативно поље и прави рез дужине око 1,5 cm између интерокуларне и интераурикуларне линије. Након пресецања коже и ослобађања лобање од меког ткива, цело операционо поље се суши топлим ваздухом. Помоћу стоматолошке бушилице прави се отвор на лобањи и у њега се увлачи полиетиленска канила промера 45 mm и дужине 11 mm у интервентрикуларни простор. Ако је канила добро пласирана, у њој се појављује цереброспинални ликвор. Канила се фиксира за коштани део лобање помоћу стоматолошког цемента и врх се затвара гутаперком.

Овако постављена канила може функционисати више недеља и пружа могућност увођења раствора директно у мождану комору. Пацови релативно лако подносе ову процедуру и врло брзо се, без постоперативних компликација, опорављају. Обично нормално узимају храну и воду, а опште понашање им није измењено.

### **Метода *pulpaе dentis***

Ова метода омогућава тестирање лекова и помоћних лековитих средстава који се користе у стоматологији за потребе хумане и ветеринарске медицине. Описао ју је Кол (Koll, 1938) за потребе изазивања болног надражаја. Ова процедура се изводи на кунићима којима се оперативном техником омогућава улаз у пулпу. Након отварања, врши се апликација одређене дозе препарата и затварање којим се он трајно фиксира. Кунићи се током огледног периода посматрају, а на крају огледа се врши екстракција зуба и врши патохистолошка анализа.

### **Трајна фиксација интравенске каниле**

Када је потребно вршити хроничну апликацију одређених супстанција *i.v.* путем, током више недеља, месеци и година, примењује се поступак трајне фиксације интравенске каниле. Овај поступак се најчешће спроводи на пацовима, при чему се интравенска канила уводи у репну вену и фиксира се фластером. На овај начин је омогућена врло брза апликација или континуирана инфузија, без сталне трауматизације ткива.

## **9.6 Узимање узорака**

Узимање узорака може се поделити на узимање узорака од живих огледних животиња (*in vivo*) или од жртвованих животиња. Од живих животиња се најчешће узимају узорци крви и излучевина, као што су урин, фецес или млеко, док се од жртвованих животиња узимају различита ткива. Међутим, могуће је и од живе животиње узети узорке ткива путем биопсије.

Постоје универзална начела која важе за све видове узимања узорака за лабораторијске анализе, а то су:

- у циљу спречавања замене узорака све посуде са узоркованим материјалом морају бити недвосмислено обележене;
- узорке који се шаљу у лабораторију мора пратити допис (пропратни акт) са основним подацима о животињи, материјалу и траженим анализама;
- узорци се морају слати у одговарајућем временском року (обично што пре) и на одговарајући начин (прописно упаковани и транспортовани).

### 9.6.1 Узимање узорака крви

Најчешћи и релативно најсложенији је поступак узимања крви. Уколико су у питању велике или немирне животиње, често је потребно користити средство за смиривање – транквилајзер. Промене састава крви услед деловања ових средстава су углавном минималне. Међутим, уколико се примењује анестезија, ове промене могу бити значајне и битно изменити добијене резултате. Уколико је животиња осетљива, на месту где се врши убадање иглом може се нанети локални анестетик, уобичајено путем спреја. Крв се увек узима од одморних животиња.

Само место за узимање крви се претходно мора припремити. Ово подразумева шишање длаке маказама, одмашћивање коже бензином и дезинфекцију алкохолом или јодним препаратима. Мачке су врло осетљиве на јод па се ови препарати не смеју користити код њих. Наношење се врши тако што се дезинфицијенс наноси на комад вате и премазује се од места убода игле ка периферији.

Сав прибор који се користи за узимање и чување узорака крви мора бити стерилан, сув и хемијски чист. Он мора бити припремљен пре самог почетка узимања узорка и у довољној количини. Бризгалице и игле које се користе за венепункцију би требало да имају већу аспирациону способност. Због тога су стаклене бризгалице са металним наставком за игле погодније од пластичних. Наставак за игле би требало да буде ексцентрично постављен како би омогућио пласирање игле под оштријим углом, и мању трауматизацију ткива. Саме игле би требало да буду челичне, а дужина и дијаметар прилагођени животињској врсти. Уместо бризгалица са клипом могу се користити и специјализоване бризгалице које се налзе под вакуумом и које приликом венепункције извлаче довољну количину крви.

За узимање крви најбоље је користити прибор за једнократну употребу. Међутим, уколико се прибор користи више пута, потребно га је стерилисати на одговарајући начин. За ове сврхе се не могу користити течни антисептици, као што је алкохол, већ се примењује сува стерилизација или стерилизација у воденом стерилизатору. Стерилизација се постиже применом температуре од 110 до 120 °C у току два часа или 180 °C у току једног часа. Материјал који се стерилише сувом стерилизацијом мора да буде припремљен тако да је могућа циркулација ваздуха, док се материјал који се стерилише у воденом стерилизатору мора извадити из воде док је она још врућа. Након вађења из воденог стерилизатора, материјал се суши и чува у стерилном платну или стерилној кутији. За чување стерилисаног прибора је најбоље користити стерилне металне кутије цилиндричног облика, које су опремљене одговарајућим затварачем.

Прибор за узимање крви може се силиконисати како би дуго имао глатку површину. Ово се постиже потапањем стакленог прибора у 1%-тни раствор силикона у трајању од пет секунди, а затим се испира дестилованом водом. Прибор од метала, гуме и пластике се потапа у 5%-тни раствор од силикона у трајању од десет минута, а затим се испира дестилованом водом. Силиконисани прибор задржава дуго глатку површину, докле год не дође у контакт са киселинама, након чега силиконисање треба поновити.

Прибор за узимање крви се разликује у зависности од тога да ли је за анализе потребан узорак пуне крви, крвне плазме или крвног серума. За ове потребе постоје посебне бризгалице под вакуумом које садрже антикоагулансе или материје које ће помоћи сам процес коагулације.

Сваки узорак крви мора бити адекватно обележен и мора га пратити пропратни акт (упут) при слању у лабораторију.

Од огледних животиња крв се може узимати једнократно или виšekратно. Количина крви коју је потребно узети зависи од потребних испитивања, а ограничена је максималном количином крви коју је могуће узети за једно узимање од огледне животиње. Ова максимална количина се изражава у милилитрима по килограму телесне масе (ml/kg ТМ) и зависи од врсте огледне животиње (Табела 5.).

**Табела 5.** Максимална количина крви која се може узети за једно узорковање

| <b>Врста животиње</b> | <b>ml</b> | <b>Врста животиње</b> | <b>ml</b> |
|-----------------------|-----------|-----------------------|-----------|
| <b>Миш</b>            | 0,3       | <b>Пас</b>            | 100–500   |
| <b>Пацов</b>          | 2,0       | <b>Мачка</b>          | 20        |
| <b>Хрчак</b>          | 0,3       | <b>Свиња</b>          | 200–500   |
| <b>Заморац</b>        | 5,0       | <b>Овца, коза</b>     | 200–600   |
| <b>Кунић</b>          | 15,0      | <b>Коњ</b>            | 500–700   |
| <b>Зец</b>            | 15,0      | <b>Мајмун</b>         | 20–200    |

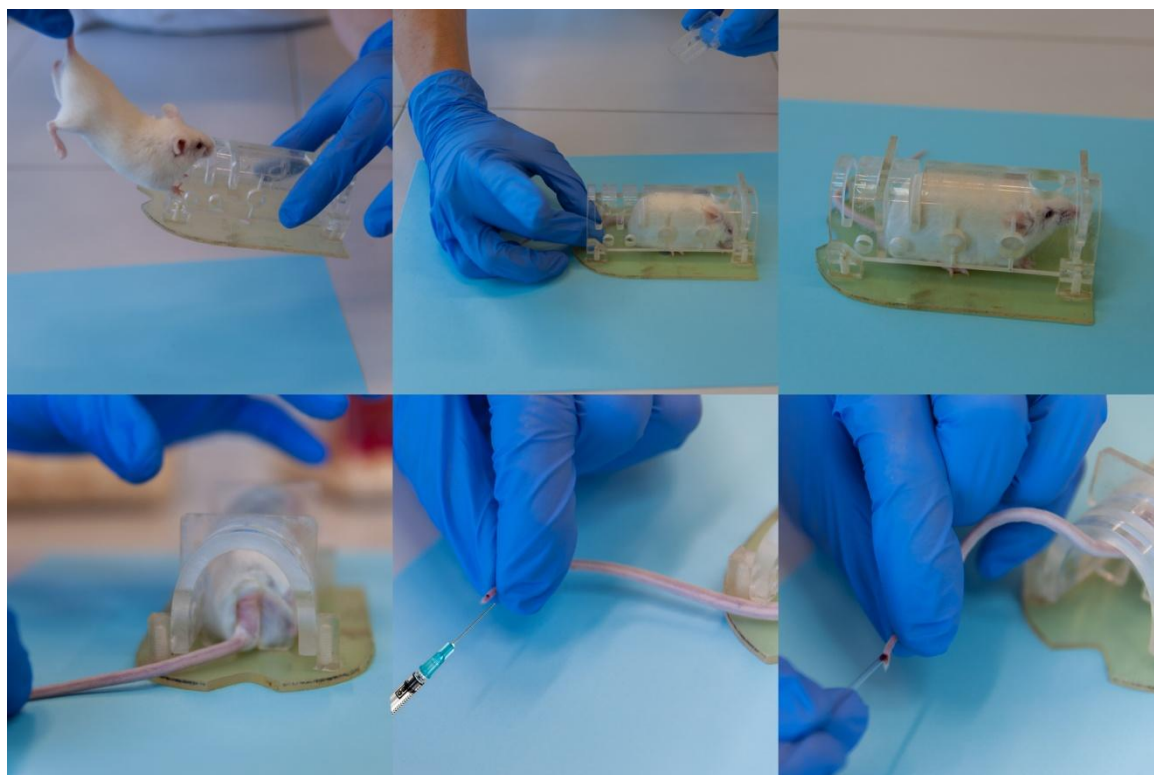
Крв се узима на различитим местима у зависности од врсте животиње и планиране количине крви коју треба узети, што је у вези са бројем и обимом анализа које се раде. Када су потребне мање количине крви (неколико капи), врши се увод иглом или зарезивање ушне шкољке сисара, кресте код живине или репа код пацова. Такође, мање количине крви се код пацова и замораца могу добити сечењем нокта. Веће количине крви се могу добити на неколико начина:

- венепункцијом,
- пункцијом орбиталног синуса,
- пункцијом окципиталног венског синуса,
- пункцијом срца,
- катетеризацијом вене и
- ексангвинацијом (потпуним искрварењем животиње).

Венепункција се изводи на одабраној вени након припремања самог места пункције и компресије, најчешће дигитално, изнад овог места, све док се вена не напуни крвљу и постане јасно уочљива. Након тога, врши се убадање игле под углом од 35 до 40° у правцу тока крви. Да би се спречила аспирација ваздуха у крвни суд као и настанак хематома након вађења игле, кожа се пре убода и након влађења игле повлачи мало надоле. Крв се или увлачи у бризгалицу, прихвата директно у епрувету или се користи уложак који је под вакуумом. Након узимања довољне количине крви, игла се извлачи из вене и прекида се компресија. Место на коме је извршена пункција се компримује ватом натопљеном 70%-тним алкохолом. Уколико је потребно поновно узимање крви од исте животиње, а уколико је оштећена вена, крв се узима са аналогног места на другој страни тела.

Венепункција се код великих огледних животиња обавља релативно лако, док се код малих мора посебно водити рачуна о димензијама игле и количини узете крви. Максимална дозвољена количина узете крви се креће у границама од 0,3 до 5 ml/kg телесне масе.

Венепункција се код мишева, пацова и хрчака врши на *v. coccygealis* (Слика 19.). Код заморца се венепункција врши на *v. jugularis* или *v. auricularis*, а код кунића на *v. jugularis ext.* и *v. auricularis*. Венепункција код коња, говечета, овце и козе врши се на *v. jugularis* пошто се овај крвни суд налази близу коже, великог је пречника и лако се при компресији између места венепункције и срца пуни крвљу. Код паса и мачака крв се добија из *v. brachialis* на предњем екстремитету или *v. saphene* на задњем екстремитету. Узимање већих количина крви код свиња врши се пункцијом венског цефаличног плексуса. Венепункција код живине обавља се на крилној вени.



Слика 19. Венепункција *v. coccygealis* код миша након фиксације



Пункција орбиталног синуса примењује се код малих лабораторијских животиња. Крв се узима помоћу бризгалице са иглом из медијалног очног угла. Приликом узимања крви на овај начин постоји могућност да се узорак контаминира секретом Хардеријанове жлезде као и опасност од крварења, развијања запаљеног процеса и, у тежим случајевима, настанка слепила.

Пункција окципиталног синуса примењује се код птица. Овај синус се налази између главе и првог вратног пршљена. Крв се узима помоћу бризгалице са иглом која се увлачи под углом од  $40^\circ$  до  $45^\circ$  у односу на линију врата.

Кардиопункција (пункција срца) је процедура која се врши на малим анестезираним животињама. Пункција се врши са леве стране, између 2. и 3. међуребарног простора уз грудну кост. Код живине се користи дужа игла која се убада кроз предњи отвор грудне дупље (Слика 20.). Крв се на овај начин узима директно из коморе. Пункција преткомора се не препоручује због веће могућности настанка компликација (срчана тампонада, оштећење система за стварање и спровођење импулса у срцу).



**Слика 20.** Кардиопункција код живине

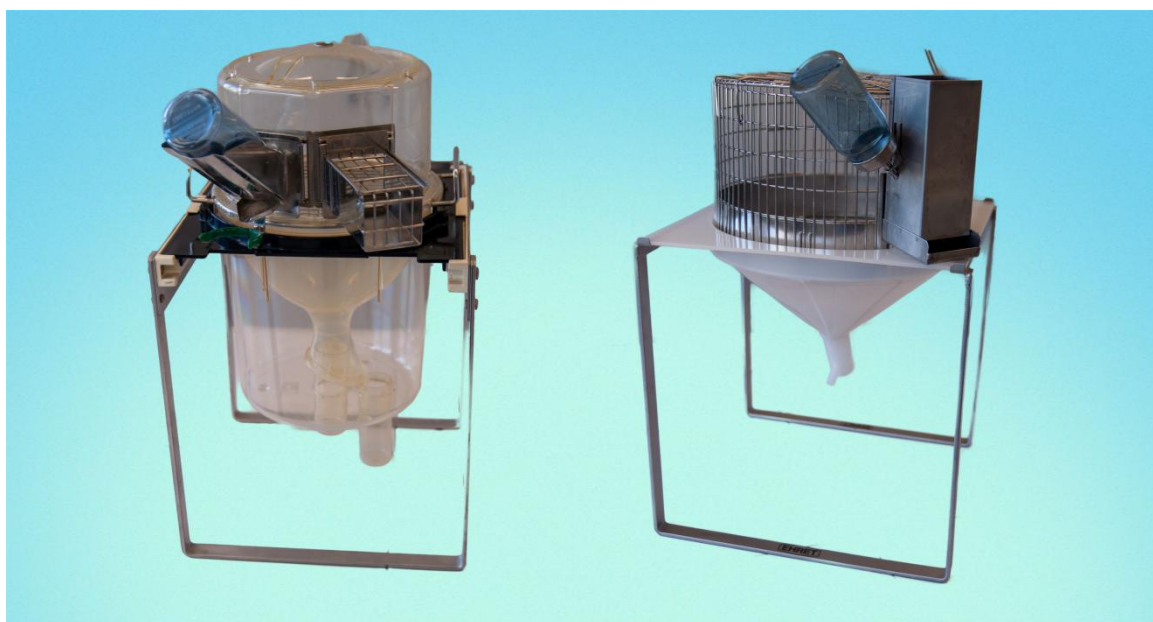
Уколико је потребно виšekратно узимање узорака крви у краћим временским интервалима, врши се катетеризација вене. Овај поступак се врши тако што се прво одабере вена и припреми место, на исти начин као и за венепункцију. Након тога се у вену пласира метална канила кроз коју се увлачи пластични катетер. Између узимања крви се пластични катетер затвара помоћу посебног затварача.

Ексангвинација подразумева потпуно искрварење животиње. Ово подразумева узимање око 50% од укупног волумена крви у организму, односно око 30 мл/кг телесне масе животиње. Ексангвинација се врши искључиво на потпуно анестезираној животињи.

### 9.6.2 Узимање узорака излучевина

Од огледних животиња се могу узимати узорци екскрета (урин и фецес) или секрета (млеко).

Урин се узоркује када се испитује брзина и степен излучивања појединих материја преко бубрега, али и у циљу испитивања дејства појединих материја на уропоетски или неки други органски систем. Фецес се узоркује ради испитивања несварених састојака хране, али и за микробиолошка и паразитолошка испитивања. Узорци урина и фецеса се добијају тако што се мале лабораторијске животиње смештају у специјализоване тзв. “метаболичке кавезе” (Слика 21.). Постоје и метаболички кавези за веће огледне животиње (пас, мачка).



Слика 21. Метаболички кавези

Код појединих огледних животиња се урин може прикупљати и помоћу катетера, при чему се катетер асептично уводи до мокраћне бешике. Овај поступак се лакше изводи код мушких јединки, док је код женских животиња теже лоцирати отвор уретре који се налази на вентралном делу вагине. Код појединих животиња (нпр. мачора) је неопходна седација пре увођења катетера. Приликом избора катетера неопходно је водити рачуна о томе да спољни пречник катетера одговара пречнику уретре. За заморце се користе катетери пречника 0,5 mm, док се за псе користе катетери пречника 3 mm.



За паразитолошки преглед могу се узимати узорци свежег фецеса у стаклену бочицу са широким грлом. Овај материјал се доставља у лабораторију на преглед у року од шест сати зато што се јаја паразита након дужег стајања распадају.

Млеко се узима од музних крава, оваца и коза. Узорковање се врши ручном мужом у чисте лабораторијске посуде. Узорковање млека се обично врши у циљу испитивања степена излучивања неке супстанције у млеко, али се може вршити и у циљу утврђивања здравственог стања млечне жлезде.

### 9.6.3 Узорковање осталих телесних течности

За поједина испитивања могу се узимати узорци ликвора, лимфе, жучи и асцитне течности.

Ликвор (церебро-спинална течност) се узоркује помоћу стерилног прибора, док је огледну животињу потребно седирати и применити локалну анестезију. Пункција се врши помоћу игле са мандреном. Након извршене пункције мандрен се вади и место њега се ставља бризгалица помоћу које се извлачи ликвор. Ова пункција се може вршити на два места:

- у атланта-окципиталном простору (узорак из церебеломедуларне цистерне мозга) и
- у лумбо-сакралном простору (узорак из кичменог канала).

Лимфа се узоркује из главног лимфног суда (*ductus thoracicus*) који лежи испод кичменог стуба и аорте. Овај поступак захтева хируршко отварање абдоминалне шупљине.

Жуч се добија увлачењем каниле у жучовод (*ductus choledochus*) који се улива у дуоденум. Ова процедура захтева анестезију огледне животиње и хируршко отварање абдоминалне шупљине. Уколико је потребно да се узорак жучи узима вишекратно, канила се хируршки фиксира за кожу.

Узорци асцитне течности могу се добити пункцијом абдомена (*paracentesis abdominalis*). Ова процедура је релативно једноставна и врши се на анестезираној животињи. Анестезирана животиња се поставља у бочни положај, припрема се поље за пункцију и затим се иглом врши пробијање коже и абдоминалног зида. При овоме је посебно битно водити рачуна да не дође до оштећења органа у абдомену. Количина асцитне течности која се узоркује не треба да буде већа од 20% телесне масе да не би дошло до компликација (крварења и др.). Узорковање асцитне течности је врло значајно за добијање моноклоналних антитела. Ова антитела се добијају тако што се огледној животињи (пацову) у перитонеалну дупљу имплантира хибридом. Организам затим продукује моноклона антитела која се налазе у асцитној течности.

#### **9.6.4 Узорковање органа и ткива**

Узорци органа и ткива могу се добити приликом обдукције угинуле или еутаназиране животиње или путем биопсије. На овако добијеним узорцима могу се вршити патохистолошка испитивања, али и друге врсте специфичних испитивања, као што су микробиолошка и хемијско-токсиколошка испитивања.

Материјал за патохистолошку анализу се шаље фиксиран у одговарајућем фиксативу (10% формалин, 80–90% алкохол и др.). Уколико су у питању мале лабораторијске животиње могу се узимати цели органи, док се од већих огледних животиња узимају одговарајући делови величине 2x1 cm и дебљине 5–8 mm. Ткивни исечци се стављају у стаклену бочицу са широким грлом у којој се налази фиксатив. На дно бочице се може ставити слој вате. Након стављања узорка, фиксатив се досипа скоро до врха бочице, која се затвара и обележава етикетом.

Материјал за микробиолошки преглед узима се одмах након угинућа или жртвовања животиње, зато што процеси труљења значајно утичу на ове анализе. За ова испитивања могу се узимати органи и ткива, али и разне телесне течности. Када се узоркују органи, њих треба узети без скидања сопљашњег омотача. Уколико се узима само исечак органа, онда се он узима тако да има само једну површину сечења. Материјал се ставља у стерилне посуде које морају бити довољно велике да узорак не додирује поклопац. Узорке треба слати на одговарајући начин и у што краћем року, а без додавања конзерванса. Сви узорци морају бити адекватно обележени и мора их пратити упутница.

За паразитолошки преглед могу се узимати узорци органа и ткива. Када се ради о крвним паразитима, узима се узорак крви од којег се праве крвни размази. Обично се од једног узорка крви прави неколико крвних размаза, који се обележавају, пакују и шаљу у лабораторију.

Узорци за хемијско-токсиколошку анализу узимају се од оних органа и ткива где су изражене промене или где се очекује да је дошло до накупљања токсичне материје. За токсиколошки преглед се може узети узорак желудачног и цревног садржаја, као и делови желуца и црева. Од мањих лабораторијских животиња може се узети цео подвезан желудац и део подвезаног црева у дужини од око 25 cm. Ови органи, или њихови делови, пакују се у посебне стаклене посуде, односно бочице са широким грлом.

#### **9.7 Еутаназија огледних животиња**

Закон о добробити животиња ("Службени гласник РС", бр. 41/2009) дефинише ситуације у којима је дозвољено лишавање животиња живота у члану 15. На основу овог Закона, животиња се може лишити живота на хуман начин ако се користи у научноистраживачке и биомедицинске сврхе. Такође, на основу истог Закона (члан 17.), лишавање животиње живота обавља се на хуман начин, који проузрокује

тренутну и сигурну смрт. Ово се мора обављати уз претходно омамљивање животиње, осим код принудног лишавања живота ради прекида патње и бола насталог услед патолошког стања, повреде или заразне болести.

Након обављене еутаназије, истраживач је дужан да потврди смрт. Степен свесности проверава се палпебралним, корнеалним, односно рефлексом трептања (овај рефлекс не поседују мачке, а изостаје и код других животињских врста третираних курариформним лековима или дисоцијативним анестетичима). Знаци сигурне смрти су:

- престанак дисања и престанак рада срца,
- арефлексија,
- изоелектрична линија електроенцефалограма и
- потпуна атонија мишића након које наступа *rigor mortis* (мртвачка укоченост).

Избор начина еутаназије огледних животиња зависи од више фактора: врсте животиња, броја животиња, циља огледа и вештине и степена обучености особе која обавља еутаназију. Сваки изабрани начин еутаназије мора да испуни следеће услове: да проузрокује смрт животиње без изазивања патње и бола; фиксација животиње, која претходи самом чину еутаназије, не сме да проузрокује патњу и бол; смрт мора да наступи што је могуће брже; степен ризика за особље мора да буде минималан; мора да има што мање штетних физиолошких и психолошких последица за животиње; мора да буде компатибилан са експерименталном процедуром и сврхом експеримента; мора да се обавља релативно лако и једноставно и не сме да ствара санитарне проблеме и негативне еколошке утицаје.

Приликом избора методе мора се водити рачуна да начин еутаназије може директно или индиректно да утиче на добијене резултате. Директне промене су најчешће васкуларне или хистолошке, док је индиректни утицај везан за хипоксију ткива након угинућа животиње. Промене које су последица хипоксије најбрже се развијају у мозгу. У зависности од врсте и типа огледа, огледне животиње се могу жртвовати помоћу неколико метода који се могу поделити на физичке и хемијске.

### **9.7.1 Физичке методе еутаназије огледних животиња**

Физичке методе еутаназије су:

- цервикална дислокација,
- декапитација гиљотином,
- искрварење анестезираних животиња,
- контузија лобање ради проузроковања потреса мозга и омамљивања,

- примена пиштоља за омамљивање и
- примена електричне струје.

Цервикална дислокација подразумева прекидање везе између мозга и кичмене мождине. Ово се постиже помоћу мануелног притиска у задњем делу базе лобање или помоћу трзаја. Ова метода се примењује код мишева и мањих пацова. Цервикална дислокација узрокује брзо наступање несвесног стања и смрти, а крв и ткива нису контаминирана хемијским средствима. Међутим, она је естетски непријатна и може да се примени само на мишевима и мањим пацовима.

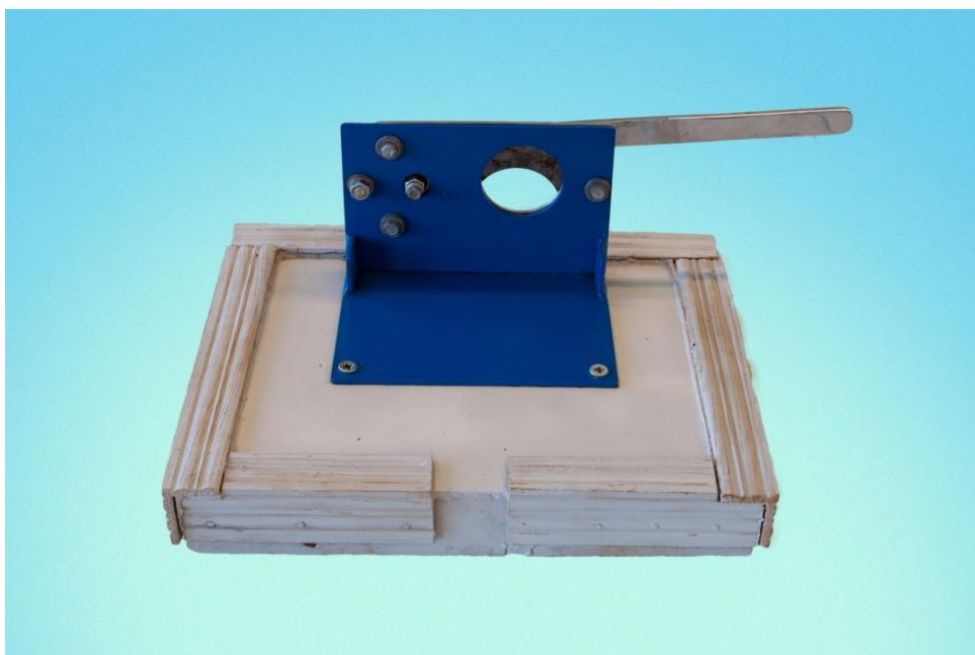
Жртвовање мишева и мањих пацова врши се тако што се миш хвата, помоћу палца и кажипрста, за кожу на потиљку. Након овога се другом руком животиња ухвати за базу репа или задње екстремитете и снажно се повуче.

За жртвовање пацова се уместо палца и кажипрста користи и масат (мала палица). Животиња се прво хвата за реп и поставља на равну подлогу да лежи на трбуху. Након тога се помоћу масата притиска вратни део измађу лобање и првог вратног пршљена, а затим изврши трзај.

Након цервикалне дислокације може се приступити и искрварењу тако што се помоћу маказа или скалпела пресеца кожа и *a. carotis communis*, што врло брзо доводи до искрварења животиње.

Декапитација је поступак брзог и потпуног одвајања главе од трупа огледне животиње уз коришћење гиљотине (Слика 22.). Декапитација проузрокује брзо наступање несвесног стања и смрт, а крв и ткива нису контаминирана хемијским средствима. Поред тога, ова метода је прилично брза и њоме се може жртвовати већи број јединки у релативно кратком временском периоду.

Декапитација је врло непријатна – хватање и фиксирање животиње може да буде врло стресно за саму животињу, а постоји ризик од повреда особе која обавља декапитацију. Етички проблем представља и то што је утврђено да животиње остају свесне више од десет секунди након декапитације, као и што је сам чин декапитације врло болан за животињу. Из наведених разлога је декапитација прихватљива само уз постојање научне оправданости, односно када би било који други начин еутаназије компромитовао добијене резултате.



**Слика 22.** Гиљотина

Искрварење анестезираних животиња је прихватљив начин еутаназije свих огледних животиња. Међутим, зато што искрварењем настаје хиповолемија, која проузрокује осећај јаке анксиозности, оно може да се примени само на анестезираним, односно омамљеним животињама. Поред тога, искрварење се може применити као потврда угинућа животиња које су жртвоване другим методама.

Контузија лобање и потрес мозга не представљају начин еутаназije већ начин омамљивања (довођење животиње у бесвесно стање). Метода се заснива на преносу кинетичке енергије са направе за омамљивање на лобању, што изазива нагло и велико убрзање мозга и ремећење веза између неурона. Након овог начина омамљивања, животиње морају брзо да се жртвују искрварењем, декапитацијом или помоћу хемијских средстава за еутаназiju. Овакав начин омамљивања могу да обављају само веште и искусне особе.

Овај вид омамљивања огледних животиња омогућава узорковање крви и ткива неконтаминираних хемијским средствима, која се иначе користе за еутаназiju. Међутим, естетски је врло непријатна метода. Ако се контузија лобање неправилно изведе, животиња може да буде потпуно свесна и да осећа бол услед јаког ударца.

Пиштољ за омамљивање се најчешће користи за велике огледне животиње. Он се састоји од цилиндра се јаком опругом која на притисак окидача избацује клин. Након забијања клина у чеони део главе животиња је омамљена и одмах пада, док су очувани центри који контролишу рад срца и дисање. На овај начин је могуће извршити потпуно искрварење након пресецања артеријских и венских крвних судова на врату, односно у пределу ждрела.

Електрична струја се користи као физички метод омамљивања великих огледних животиња. Уређај који служи за електрично омамљивање опремљен је електродама у облику јастучића које се постављају у предео између ушију. Врло је

битно да се електроде довољно притисну како би се остварио добар контакт. Након тога се пропушта електрична струја одређеног напона и јачине, што доводи до омамљивања животиње, а затим се приступа искрварењу. Електрично поље не треба прекидати све док не настане смрт животиње зато што се животиња може освестити и постати агресивна.

### **9.7.2 Хемијске методе еутаназије огледних животиња**

Генерално, хемијске методе еутаназије су етички најприхватљивије, посебно ако их обавља искусна и вешта особа, тако да се код огледних животиња не проузрокује непотребан страх и стрес.

Коришћење хемијских средстава за еутаназију представља најбржи и најпозданији начин жртвовања огледних животиња. Ова средства се најчешће апликују интравенски. Међутим, у случајевима када је интравенска апликација средстава за еутаназију неизводљива, могућа је интраперитонеална апликација средстава за еутаназију која не делују иритирајуће и не садрже неуромишићне блокаторе. Овај начин апликације средстава за еутаназију проузрокује чак мањи степен стреса од интравенске апликације. Интракардијална апликација средстава за еутаназију свесним животињама није етички оправдана, а посебно зато што само искусне особе могу без грешке да апликују средство овим путем. Интракардијална апликација средстава за еутаназију оправдана је само на претходно дубоко седираним, анестетисаним или животињама у коматозном стању. Код агресивних и плашљивих животиња понекад је пре интравенске апликације средстава за еутаназију потребно применити седативе.

Од хемијских средстава за еутаназију огледних животиња користе се барбитурати и инхалациони анестетици (етар, халотан, метоксифлуран, хлороформ и угљен-диоксид).

Барбитурати су средства чији се промет посебно контролише. Они узрокују депресију централног нервног система. Најчешће се користи натријум-пентобарбитон. Након интравенске апликације, барбитурати проузрокују дубоку анестезију у року од неколико секунди. Код мишева, пацова, хрчака и замораца дозвољена је и интраперитонеална или интракардијална апликација. Престанак дисања и рада срца настају као последица депресије центара у продуженој мождини. Међутим, могућа је појава терминалног ропца код животиња предозираних барбитуратима.

Инихалациони анестетици представљају ризик за здравље па особље које ради са њима мора да носи посебну заштитну опрему. Када се предозирају, инхалациони анестетици узрокују смрт огледних животиња. Примена етра, халотана и метоксифлурана индикована је код мишева, пацова, хрчкова и замораца. Етар, халотан и метоксифлуран примењују се у затвореном систему са комором или маском. Мишеви, пацови, хрчкови и заморци стављају се појединачно у коморе у којима се налази вата натопљена анестетиком испод перфорираног пода (због иритирајућег деловања). Животиње могу да осете анксиозност и покушају да беже

из коморе. Халотан и метоксифлуран нису запаљиви али је етар запаљив и експлозиван. Халотан је хепатотоксичан, а метоксифлуран нефротоксичан.

Хлороформ је хепатотоксичан и канцероген, а у присуству пламена од њега настаје фосген. Зато хлороформ може да се користи за еутаназију само у условима у којима особље није угрожено.

Угљен-диоксид је тежи од ваздуха и има непријатан мирис, али не представља здравствени ризик за огледне животиње и особље и не ремети структуру ћелија и ткива код еутаназираних животиња. Угљен-диоксид у концентрацији од 60% доводи до брзог губитка свести и смрти. Еутаназија угљен-диоксиdom може да се примени код мишева, пацова, хрчкова, замораца и кунића. Комора која се користи за еутаназију огледних животиња мора претходно да буде напуњена угљен-диоксиdomом и за време еутаназије мора потпуно да буде испуњена овим гасом како у вишим деловима коморе не би била мања концентрација овог гаса.

## 10.0 Принципи производње лабораторијских животиња

Ово поглавље се односи на принципе и технике које се користе при узгоју, односно производњи лабораторијских животиња. Овим пословима се обично баве специјализоване институције које су регистроване за ову врсту делатности. Огледне животиње пореклом из ових институција су високог квалитета, генетски потврђене и слободне од специфичних патогена. Такве животиње се комерцијално набављају и користе за огледе у институцијама које су регистроване за рад са огледним животињама.

### 10.1 Генетичка стандардизација лабораторијских животиња

Генетичка основа лабораторијских животиња јесте један од главних фактора који утиче на експерименталне резултате. На основу њихове генетичке основе, лабораторијске животиње могу се поделити у две групе:

- хомогеничне и
- хетерогеничне.

Генетичка основа хомогеничних слојева је слична, док се код хетерогеничних сојева она разликује. Користећи високи квалитет и стандардизоване животиње у истраживањима, може се свести на најмању меру негативан утицај генетских фактора на квалитет добијених резултата. Резултати добијени на овај начин не само да су тачни и поуздани, већ се могу поновити и проверити.

### 10.2 Инбридинг

Инбридинг подразумева парење између јединки у крвном сродству, обично у распону од седам генерација. Мањи број репродуктивних животиња у групи, узгој у малом простору, диспропорција у броју мушких и женских јединки или избор одгајивача могу изазвати одређени степен инбридинга. Инбридинг може да утиче на животиње на много начина. Генетски, инбридинг обично може смањити хетерозиготну и повећати хомозиготну стопу. Континуирани инбридинг смањује способност прилагођавања и доводи до развијања инбридинг депресије коју карактерише лоша прилагодљивост, смањена виталност и плодност, агрегација штетних гена, повећана учесталост генетских обољења и поремећаји у расту.

**Инбридинг депресија** се може дефинисати као смањена биолошка виталност у датој популацији која је настала као последица парења у сродству. Популациона биолошка виталност се односи на способност да популација самостално преживи и



репродукује се. У принципу, што је већа генетска варијација или генски фонд у оквиру узгојне популације, мања је вероватноћа да се развије инбридинг депресија.

**Коефицијент инбридинга** је мера степена сродства између две јединке које се укрштају. Уопштено, што је већи ниво инбридинга, вредност овог коефицијента је ближа 1, и супротно овоме, што су преци јединки које се укрштају више удаљени, вредност се приближава 0.

### 10.3 Хибридизација

Када се животиња пари са животињом из другог соја, врсте или рода, процес је познат као хибридизација или укрштање. У зависности од родитеља, постоји велики број различитих врста хибрида.

**Једноструки хибрид** настаје укрштањем јединки две чисте линије (као што су инбредни сојеви) и стварањем F1 генерације која се назива F1 хибрид. Укрштањем два различита хомозиготна соја ствара се F1 хибрид који је хетерозиготан. Углавном, F1 генерација је фенотипски хомогена.

**Двоструки хибрид** настаје укрштањем два хибрида F1.

**Ауткросинг** или **аутбридинг** је пракса увођења новог генетског материјала у приплодни сој. То повећава генетичку разноврсност и смањује вероватноћу генетске абнормалности.

**Повратно укрштање** је укрштање хибрида са једним од својих родитеља или јединком која је генетички слична родитељу како би се произвело потомство са генетским идентитетом који је ближи том родитељу. Користи се у узгоју животиња и производњи генских нокаут организама.

**Интеркросинг** је укрштање два соја који имају исто порекло један са другим. Интеркросинг и повратно укрштање често се користе за креирање конгених инбред сојева.

**Популациони хибрид** је резултат укрштања различитих популација.

Хибриди се карактеришу **хибридном виталношћу** као резултатом комбиновања генетског доприноса својих родитеља. Ово је, углавном, последица допуњавања гена и повећања хетерозиготности у популацији. Када је популација мала, долази до губитка генетске разноликости и развијања инбридинг депресије.

Инбред сојеви имају тенденцију да буду хомозиготни за рецесивне алеле који могу бити штетни или производе особину која је непожељна са становишта одгајивача. Хибридна снага, с друге стране, јесте тенденција да хибрид надмаши оба инбред родитељска соја у виталности.

## 10.4 Насумично укрштање

Насумично укрштање је систем где све индивидуе могу бити потенцијални родитељи. То подразумева да не постоје ограничења у парењу у популацији, ни генетска ни бихејвиорална. У генетици, насумично укрштање подразумева случајно парење јединки, без обзира на било коју физичку, генетску или социјалну карактеристику. Дакле, потенцијални родитељи имају једнаке шансе да буду изабрани. Насумично укрштање није исто што и недостатак природне селекције, па оно представља фактор који се подразумева у Харди–Вајнберговом (Hardy-Weinberg) принципу (процеси наслеђивања не мењају учесталост алела и генотипова у узастопним генерацијама, чиме је популација у равнотежи).

## 10.5 Инбред сојеви

Формирање врста је резултат природне селекције, док је настанак соја резултат вештачке селекције. Животиње из истог соја би требало да имају сличан изглед, јединствене биолошке карактеристике, заједничке претке, одређену генетску структуру и довољан број јединки. Сличност генотипа и фенотипа између било која два повезана инбред соја зависи од тога када су одвојени од родитеља и нема никакве везе са доприносом других инбред сојева до њихових родитеља. Познавање порекла инбред сојева је од кључног значаја за биомедицинска истраживања.

Рад на развоју инбред сојева лабораторијских животиња (посебно мишева и пацова) започео је почетком прошлог века др Кларенс Кук Литл (Clarence Cook Little), који је руководио стварањем инбред мишева 1909. године. Ово је резултирало развојем DBA (*Dilute Brown Non-Agouti*) соја мишева. Овај сој је сада у широкој употреби са своја два главна подсоја DBA/1 и DBA/2, који су издвојени у периоду од 1929. до 1930. године. Сојеви инбред мишева су потом почели много интензивније да се развијају. Др Лајонел Стронг (Leonell C. Strong) створио је сојеве C3h и CBA, а др Литл C57 породицу сојева (C57BL, C57BR, и C57L). Многи од најпопуларнијих инбред сојева мишева су развијени током наредне деценије, а неки су врло блиско повезани. На основу униформности митохондријалне ДНК, може се закључити да већина уобичајених инбред сојева мишева највероватније потичу од једне приплодне женке, од пре око 150–200 година.

Многи од најчешће коришћених инбред сојева пацова такође су створени у том периоду. Значајан допринос развоју инбред сојева пацова су дали Кертис и Данинг (Curtis, Dunning) са Института за истраживање рака на Колумбија универзитету. Сојеви који датирају из тог времена укључују F344, M520 и Z61, а касније и ACI, Ach, A7322 и COP. Трајонов (Tryon) рад на селекцији пацова на основу способности за решавање проблема лавиринта довео је до развоја инбред TMB и TMD сојева, а касније и коришћења инбред пацова у експерименталној психологији.

Јединке инбред сојева или F1 хибрида имају исти генотип, који је изогени. Инбред сојеви обухватају:

- уобичајене инбред сојеве,
- коисогене инбред сојеве,
- конгене инбред сојеве,
- рекомбинантне инбред (RI) сојева, и др

За већину лабораторијских животиња, уобичајни инбрид сој (инбред линија, чиста линија) односи се на сој животиња које су добијене континуираним инбридингом браће и сестара или еквивалентним укрштањем, током више од 20 генерација. Инбрид сој је хомозиготан на свим локусима и свака јединка је генетски идентична другој (осим полних разлика). Порекло свих јединки у инбред соју се може пратити до заједничког пара предака. Коefицијент инбридинга ових сојева је већи од 98,6%. Инбридинг може не само повећати хомозиготност гена, већ и детерминисати поједине фенотипске особине. Инбред сојеви животиња се најчешће користе за огледе у којима би требало да се обезбеди максимална могућа поновљивост добијених резултата.

Генетичке промене проузроковане резидуалном хетерозиготности и мутацијама резултирале су формирањем подсоја. Подсој подразумева грану инбред соја која поседује фиксну генетску разлику од других грана. Подсој диференцијација се обично јавља уколико се испуне следећа три услова: формира се између 20. и 40. генерације инбред укрштања, грана је одвојена од других грана за узгој више од 100 генерација, а наследна промена у подсоју је идентификована и последица је преостале хетерозиготности, мутације или генетске контаминације. Номенклатура подсоја треба да се ажурира ако је узрокована генетском контаминацијом јер је наследна разлика у односу на оригинални сој релативно велика. За производњу подсојева могу се користити биотехнолошке методе као што су ембрионска трансплантација или криопрезервација, или се подсој може пренети на другу локацију како би се обезбедило његово очување и узгој.

Производња инбред сојева захтева систем њихове номенклатуре. Већина лабораторијских мишева своје порекло води од *Mus musculus* и *Mus musculus domesticus*. Постоје докази да порекло воде и од *Mus musculus molossinus* и *Mus musculus castaneus*. Поред тога, неки недавно развијени сојеви лабораторијских мишева потичу и од других врста овог рода или других подврста као што је *Mus spretus*. Стога их не треба означавати по називу врсте, већ као лабораторијске мишеве или употребом назива одређеног соја.

Сојеви лабораторијског пацова настали су из врсте *Rattus norvegicus*. Друга врста, *Rattus rattus*, такође се користи као експериментални модел, али није допринела развоју уобичајених сојева лабораторијског пацова.

Називе појединих сојева лабораторијских мишева и пацова потребно је регистровати у одговарајућој бази података. Инбред сој треба да буде јединствено означен кратким симболом састављеним од слова или комбинацијом слова и бројева. На пример, сој мишева: NZB, NZC, C57BL/6; сој пацова: CR, SS. Треба

водити рачуна да се ознаке не поклапају. Инбред сојеви који имају заједничко порекло, али су раздвојене пре Ф20 генерације, су повезани сојеви па симболи треба да одражавају ту везу. Подсојевима се додељују ознаке које се изводе из првобитног соја. Ознака обично означава код лабораторије из које потиче. Примери: IS/Куо – подсој IS соја пацова који потиче са Универзитета у Кјоту.

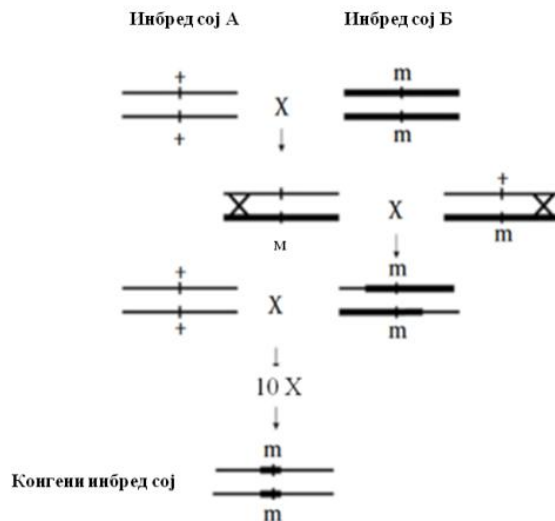
Од подсојева се могу развити нови подсојеви код којих постоје доказиве генетске разлике у односу на оригинални подсој. У овом случају се означавање врши додавањем нове ознаке, али без додавања нове косе црте. Примери: С3Н/НеН, подсој миша створен на Харвелу (Harvell – Н) од Хестон (Heston – Не) подсоја С3Н; SR/JrIrcv, подсој пацова створен на Институту за физиологију Чешке академије наука (Ircv) из Џон Реп (John Rapp – Jr) подсоја SR.

**Коисогени инбред сојеви** се разликују у само једном локусу услед мутације која се догодила у том соју. Сојеви који садрже циљане мутације могу се сматрати коисогеним, као и сојеви код којих је до мутације дошло деловањем мутагених агенаса, мада код њих могу бити присутне и друге геномске промене. Коисогени сој може акумулирати генетске разлике током времена (генетички дрифт), осим ако се периодично не укршта повратно са матичним сојем.

Одржавање мутираног гена зависи од тога да ли је рецесивни или доминантни, као и његовог утицаја на плодност и опстанак животиње. Ако мутација има такве ефекте, морају се за укрштање изабрати хомозигот и хетерозигот, како би се могао одржати коисогени сој. На пример, женке хомозиготи атимичних голих мишева са рецесивним геном немају способност дојења младунаца, што сој чини тешко одрживим. Овај коисогени инбред сој може се сачувати коришћењем хетерозиготне женке која се пари са хомозиготним мужјаком способним за репродукцију. Коисогени сојеви су корисни у проучавању мутација.

Номенклатура коисогених сојева треба да означава оригинални сој и подсој (када је то случај), чему се додаје цртица и ознака различитог алела (италиком). Пример: C57BL/6JEi-*tth*, мутација која изазива мишићни тремор и накривљену главу (*tth*) у C57BL/6JEi соју.

Конгени инбред сој се односи на нови сој који је створен увођењем гена (или одређеног маркера) из донорског соја у инбред сој путем повратног или унакрсног укрштања. Сој који је развијен овом методом сматра се конгеним када је извршено минимално 10 повратних укрштања, рачунајући прву хибридную или F1 генерацију као генерацију 1 (Шема 1.).



**Шема 1.** Стварање конгеног соја

Сој Бе се означава као донорски сој, док се сој А означава као партнерски сој. Партнерски сој мора бити инбредни, док донорски сој може да буде било који, који има ген од интереса, а који се жели увести. Овако настао нови сој има само један ген разлике у односу на оригинални сој. Конгени сојеви који се разликују у хистокompatibilном локусу, па су зато резистентни према графтовима, називају се конгени резистентни (CR) сојеви. Прво успешно стварање конгеног соја извршено је 1948. године, када је Џорџ Снел проучавао гене хистокompatibilности.

Конгени сојеви су означени симболом који се састоји од три дела: пуног или скраћеног симбола партнерског, скраћеног симбола донорског соја и симбола алела који је уведен. Први и други део назива раздвајају се тачком (.), а трећи цртом (-) и пише се италиком. Пример: *B6.AKR-H2K*, сој миша са генетским пореклом C57BL/6 (B6), али које се разликује од тог соја увођењем диференцијалног алела (H2k) изведеног из соја AKR /J.

**Сегрегацијски инбред сојеви** су инбред сојеви у којима се одређени алел или мутација одржавају у хетерозиготном стању. Они су развијени инбридингом (обично укрштањем браће и сестара), али са селекцијом хетерозиготности у свакој генерацији. Сегрегацијски инбред сојеви могу се користити у истраживању и поређењу утицаја нормалних и мутираних гена. Алели на два или више повезаних локуса су сегреговани код ових инбред сојева, што даје основу за генетичку рекомбинацију. Они се, такође, могу користити за проучавање штетних рецесивних мутираних гена, који могу бити смртоносни или доводити до неплодности. Сегрегацијски инбред сојеви су означени као и други инбред сојеви зато што је сегрегацијски локус део стандардног генотипа соја.

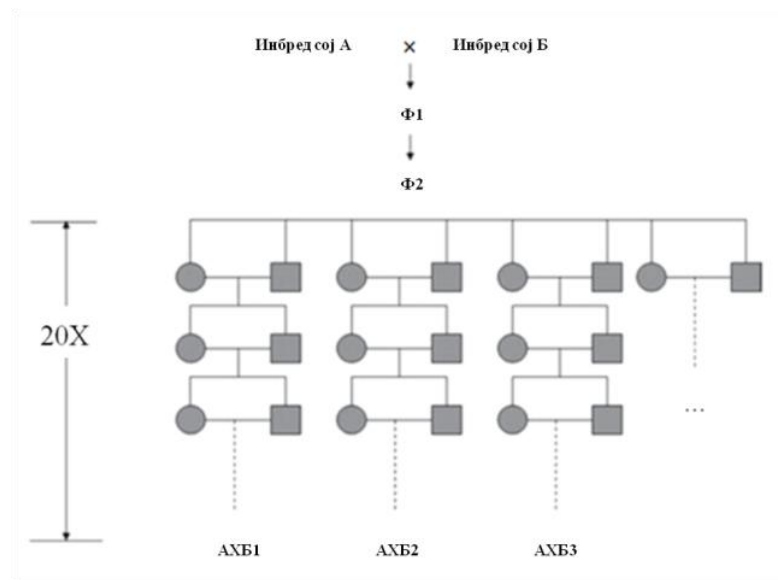
Сличности између коисогених, конгених и сегрегацијских инбред сојева:

- сви су инбред сојеви;
- сви су скоро идентичних генетских карактеристика, изузев одређених гена;
- користе се за проучавање појединачних гена.

Разлике између коисогених, конгених и сегрегацијских инбред сојева:

- начин њихове производње је различит;
- постоје специфичне разлике у односу на сојеве од којих потичу;
- коисогене се разликују од сојева од којих потичу само за један ген;
- конгене животиње се разликују од сојева од којих потичу за одређени хромозомски сегмент (може подразумевати да су уз циљани ген уведени и други повезани гени);
- сегрегацијски сојеви су хетерозиготни, док су сојеви од којих потичу хомозиготни.

**Рекомбинантни инбред (RI) сојеви** садрже отприлике подједнак удео генетског материјала од два инбред соја од којих су настали. Уобичајно, ови сојеви настају укрштањем животиња два инбред соја, током двадесет или више узастопних генерација укрштања браће и сестара (Шема 2.).



**Шема 2.** Добијање рекомбинантних инбред сојева

Уколико се изврши повратно укрштање овако добијене линије, то ће резултати добијањем рекомбинантних конгених сојева. Рекомбинантни инбред сојеви се значајно разликују од сојева од којих потичу. Ово је условљено слободном комбинацијом гена и могућношћу рекомбинације. Ови сојеви се користе за проучавање комплексног полигенског утицаја. Поред тога, рекомбинантни инбред сојеви се користе и за проучавање гена у различитим окружењима. Ови сојеви су прво развијени као сојеви миша, али се сада користе и код других врста као што су пацови, гљивице (*Saccharomyces cerevisiae*), кукуруз итд.

Рекомбинантни инбред сојеви се означавају једнословним или двословним скраћеницама (великим словом) оба родитељска соја тако што се прво наводи сој женске јединке, и између којих се ставља „икс“ (X), без празних простора. Сви припадници сетова који су настали укрштањем два соја се серијски нумеришу, без

обзира на то у којој су лабораторији настали. Пример: BXD1, BXD2 и BXD3, припадници BXD скупа мишјег рекомбинантног инбред соја.

**Рекомбинантни конгени** сојеви настају укрштањем два инбред соја, након чега се врши повратно укрштање (обично два) хибрида са једним од родитељских сојева (сој реципијент). Након тога следи инбридинг, без одабира неког специфичног маркера. Геном таквих инбред сојева ће се састојати од генома соја реципијента проширеног хомозиготним сегментима донора. Учешће генома донорског соја зависи од броја повратних укрштања; два повратна укрштања ће дати, у просеку, 12,5%. Рекомбинантне конгене сојеве треба посматрати као инбред сојеве, када се теоретски коефицијент инбридинга приближно изједначи са стандардним инбред сојевима.

Рекомбинантни конгени сојеви се означавају скраћеницом два соја, писаним великим словима, и то тако што се реципијент наводи први, а скраћенице се раздвајају малим латиничним словом “це”. Пример: CcS1, CcS2 и CcS3, рекомбинантни коисогени сој између BALB/c реципијента и STS донора.

**Консомни сојеви** или сојеви са хромозомском супституцијом настају понављањем повратног укрштања целог хромозома или његовог дела у инбред соју. Као и за настанак конгених сојева, неопходно је минимално десет генерација повратног укрштања, рачунајући F1 генерацију као прву. За аутозома је неопходно извршити прогени тест како би утврдили да није дошло до рекомбинације одабраног хромозома донора са хромозомом реципијента.

Разлика између консомних и конгених сојева огледа се у томе да се код првих врши трансфер целог хромозома или његовог великог дела, док се код других врши трансфер гена, маркера или мањег сегмента који их укључује. Пракса је показала да је понекад немогуће извршити трансфер целог хромозома због леталних ефеката везаних за тај хромозом.

Консомни сојеви се означавају по следећем принципу: ознака соја реципијента-Chr #<sup>ознака соја донора</sup>. Пример: C57BL/6J-Chr 19<sup>SPR</sup>, у сој C57BL/6J је супституисан хромозом 19 од *M. spretus*-а.

**Конпластични сојеви** су они у којима је геном из једра једног соја пребачен у цитоплазму другог соја. Ово је могуће постићи повратним укрштањем (у којем је донор митохондрија увек женски родитељ) или директним трансфером једра у зигот из којег је једро уклоњено. Као и код конгених сојева, неопходно је најмање десет повратних укрштања да би се добио конпластични сој, рачунајући F1 генерацију као прву.

Ознака ових сојева се изводи по следећем принципу: ознака соја донора-<sup>ознака соја примаоца</sup>. Пример: C57BL/6J-mt<sup>BALB/c</sup>, сој добијен укрштањем мужјака C57BL/6J соја мишева са женкама BALB/c соја и даљим повратним укрштањем женских потомака са мужјацима C57BL/6J соја.

**F1 хибриди** су потомци настали укрштањем два инбред соја који се називају родитељски сојеви. Они морају бити различити по својој генетици и биолошким особинама. F1 хибриди се карактеришу следећим особинама:

- генетички су идентични и њихов генотип се може утврдити испитивањем било које јединке тог соја;
- по питању наслеђивања су дугорочно стабилни, као и инбред сојеви;
- фенотипски су конзистентни, као и инбред сојеви.

Постоје одређене разлике између F1 хибрида и инбред сојева, а то су:

- сви F1 хибриди су хетерозиготи, што значи да се они не могу производити међусобним укрштањем, већ настају укрштањем родитељских сојева;
- хибридни вигор F1 хибрида им даје већу способност адаптације на промене у спољашњој средини.

F1 хибриди се у биомедицинским истраживањима користе у испитивањима у којима је потребна већа отпорност на стрес од оне коју поседују инбред сојеви, за испитивање наслеђивања, као сурогат мајке или за добијање јајних ћелија, за проучавање мутација које би изазвале летални исход код хомозигота, за производњу великог броја генотипова (када је потребно поновити оглед на великом броју генотипова).

Означавање F1 хибрида може се вршити пуном ознаком или скраћеним обликом те ознаке. Пример: F1 хибрид миша настао укрштањем DBA/2 мајке и C57BL6/J оца се означава као DBA/2 x C57BL6/J, док је скраћена форма те ознаке D2B6F1.

## 10.6 Аутбред сојеви и затворене популације

Постојање индивидуе је безначајно са аспекта биолошке еволуције, већ свака врста опстаје и развија се везано за групу јединки – популацију. Наследне разлике између индивидуа условљене су различитим генским алелима које оне поседују. Популацију чине јединке које се међусобно могу укрштати. Разлика у наслеђивању између популација условљена је различитом фреквенцијом појединих генских алела. Постоје две групе лабораторијских животиња које нису генетски дефинисане: аутбред сојеви и затворене популације.

**Аутбред сојеви** су генетски недефинисани, што значи да не постоје две идентичне јединке у оквиру соја. Оваква генетска конституција се одржава с намером да се постигне максимална хетерозиготност. Овакав сој настаје аутбридингом кроз најмање четири генерације, а без увођења јединки са стране. На овај начин се одржавају опште генетске карактеристике и хетерозиготност. Аутбред сојеви се држе изоловани од других сојева. Да би се избегао инбридинг, и губитак појединих алела у групи, врши се насумично спаривање. На овај начин се постиже стабилна фреквенција појединих алела.

Хетерозиготност и полиморфизам су обрнуто пропорционални коефицијенту инбридинга. Да би се створио аутбред сој, потребно је имати потпуно познату



генетску позадину, као и довољан број јединки. Поред насумичног укрштања, за одржавање ниског коефицијента имбридинга врло је битан однос мушких и женских јединки. Уколико је овај однос ближи 1:1, коефицијент инбридинга је мањи. С већим бројем женки које долазе на једну мушку јединку расте и коефицијент инбридинга. Генерално правило, за мале групе, јесте да је потребно најмање 25 парова. Због вигора, који је последица хетерозиготности, аутбред сојеви имају више потомака који су виталнији, краћи је интервал између два окота, отпорнији су на болести и генерално се лакше узгајају. Аутбред сојеви имају неке заједничке карактеристике:

- хетерозиготност,
- релативна стабилност у фреквенцији појединих алела (Харди–Вајнбергов закон),
- боље репродуктивне перформансе и отпорност.

Због високе хетерозиготности аутбред животиње су налик људима. Стога су изузетно погодне за испитивања хумане генетике и лекова и токсичности у хуманој медицини. Поред тога, аутбред животиње се лако производе и трошкови њиховог узгајања су обично нижи. Ово их чини нарочито погодним за пилот истраживања и наставу.

Означавају се ознаком соја од којег потичу испред којег се додаје ознака лабораторије, односно институције, у којој се узгајају. Пример: Тас:IRC, IRC аутбред сој који се узгаја у лабораторији *Taconic Farms, Inc.*

**Затворене популације** се одликују ограниченом генетском разноликошћу. Ове популације се не репродукују, ни инбред укрштањем ни селективним укрштањем, у циљу максимизације хетерозиготности, већ се укрштања одвијају између чланова исте популације без икакве селекције. Поред тога, у ове популације се не уводе јединке са стране. Затворене популације омогућавају одржавање мутације која се иначе не може одржати при инбред укрштању због лоших репродуктивних резултата. Овај систем подразумева трајни начин узгајања, а не укрштање у једној генерацији како би се поправили репродуктивни резултати.

Означавање се врши навођењем соја од којег потичу, специфичне мутације и наставка [cc] (*closed colony*). Пример: C57BL/6Тас-*Bmp4tmlBlh*[cc], затворена популација мишева који потичу од C57BL/6Тас инбред соја и носиоци су мутације *Bmp4tmlBlh*.

## 10.7 Упоредне особине инбред сојева, F1 хибрида и аутбред сојева

### Хомозиготност

Хомозиготност карактерише све јединке инбред соја. Међутим, могуће је да постоји “резидуална хетерозиготност” када је генски алел врло значајан за виталност. F1 хибриди су хетерозиготни за све генске локусе који се разликују код

родитељских сојева. Чак и код F2 хибрида су многи локуси, такође, хетерозиготни. Хомозиготност аутбред животиња зависи од њиховог порекла.

### **Изогеност**

Изогеност подразумева да су потомци генетски идентични родитељима. Ово је одлика инбред сојева и условљена је њиховом хомозиготношћу. Постоје неке врло битне особине које су условљене изогеношћу:

- јединке не одбацују ткивне графтове од других јединки које припадају истом соју,

- генетска детерминација једне јединке омогућава, уједно, и генетску детерминацију целог соја и

- могуће је створити генетски идентичне подсојеве.

F1 хибриди су генетски идентични, односно изогени.

### **Дугорочна стабилност**

Једна од главних особина инбред сојева је њихова дугорочна генетска стабилност. За разлику од аутбред сојева, селекција неће изазвати промене у оквиру инбред сојева. Међутим, инбред сојеви нису у потпуности непромењливи. Ове промене су последица мутација, резидуалне хетерозиготности и тзв. генског загађења, као последице нежељеног укрштања. F1 генерација је више генетски конзистентна од инбред соја. Теоријски, ако се мутација не деси на истом локусу код родитељских сојева, она се неће манифестовати у F1 генерацији.

### **Могућност идентификације**

Инбред сојеви поседују, углавном, посебан и јединствен генотип који се може идентификовати преко неких фенотипских особина, као што су боја длаке, прихватање ткивних графтова, биохемијске и имунолошке специфичности и сл. Помоћу ових метода се поуздано може утврдити који инбред сој је у питању. Међутим, до сада није развијен сигуран метод идентификације аутбред сојева. На пример, не постоји ни један поуздан тест којим би се дефинитивно могли разликовати Спраг–Долијев (Sprague-Dawley) сој од Вистар (Wistar) соја пацова.

### **Униформност**

Инбред сојеви се одликују фенотипском униформношћу која се карактерише прихватањем ткивних графтова (коже) унутар соја. Инбред сојеви су погоднији за квантитативна испитивања од аутбред сојева. На пример, поређењем морфологије

доње вилице између мишева инбред и аутбред сојева и F1 и F2 хибрида, нису утврђене значајне разлике између инбред сојева и F1 хибрида, док су значајне разлике утврђене између инбред и аутбред сојева и F2 хибрида. Доказано је да инбридинг проузрокује већу осетљивост на деловање различитих фактора из окружења. Из овог разлога је могућа појава већих фенотипских варијација под различитим утицајима из спољашње средине. Може се закључити да су F1 хибриди униформнији од инбред сојева.

### **Индивидуалност**

Сваки инбред сој представља јединствену комбинацију генетичког материјала, што резултира јединственим фенотипом. Ова особина се означава као индивидуалност. Фенотипска специфичност је врло битна за биомедицинска истраживања и омогућава развијање модела за проучавање болести код људи.

На пример, DBA/2J је инбред сој мишева који се користи за испитивања физиологије кардиоваскуларног и нервног система као и физиологије чула. Његове особине су супротне C57BL/6J инбред соју миша. DBA/2J мишеви у великом проценту пате од губитка слуха у узрасту од три до четири недеље, који постаје озбиљан у узрасту од два до три месеца. Овај сој поседује рецесиван алел који је одговоран за ову патологију. Поред тога, DBA/2J мишеви развијају прогресивне патолошке промене у оку које подсећају на наследни глауком код људи. DBA/2J мишеви нису толерантни према алкохолу и морфину. C57BL/6 мишеви су једни од најчешће употребљаваних инбред сојева мишева. Карактеришу се високом осетљивошћу на гојазност која је изазвана исхраном, тип 2 дијабетеса и артеросклерозу. Код овог соја се јављају висока учесталост микрофталмије и других урођених недостатака ока, ниска густина костију, наследни хидроцефалус, губитак длачног покривача, толеранција на алкохол и морфин, каснији губитак слуха, малоклузија и др. BALB/c сој миша је познат по развијању плазмацитома након апликације минералног уља. Ово омогућава продукцију моноклонских антитела. Код овог соја миша се, касније у животу, развијају примарни тумори плућа и бубрега.

На основу овога се може закључити да сваки инбред сој поседује своју јединствену комбинацију особина. Међутим, не постоје докази да су аутбред сојеви бољи представници целокупне врсте од инбред сојева. Напротив, варијабилност аутбред сојева може озбиљно умањити вредност добијених резултата.

### **Вигор (животна снага и потенцијал)**

У поређењу са F1 хибридима и аутбред сојевима, инбред сојеви имају слабије изражен вигор и репродуктивне перформансе. Инбридинг депресија генерално смањује све перформансе животиња које припадају инбред сојевима. На пример, ако се коефицијент имбридинга код мишева повећа за 10%, то ће смањити просечан број младунаца у леглу за 0,6, а масу женки за 0,58 g у узрасту од 6 недеља. Групе унутар аутбред сојева се разликују једна од друге, што је углавном условљено утицајем инбридинга и хомозиготних гена. Супротна појава од имбридинг

депресије је хетерозис или хибридни вигор, и због овога су хибриди углавном много виталнији.

### Заступљеност сојева

Многи инбред сојеви су широко распрострањени у целом свету, што омогућава да се компаративне студије врше у различитим земљама. Ово је омогућено тиме што се у различитим земљама узгајају генетски идентичне, стандардизоване животиње. На овим инбред животињама могуће је поновити и проверити добијене резултате. За ове сојеве постоје исцрпне информације о њиховом пореклу. Главне особине различитих лабораторијских животиња су дате у Табели 6.

**Табела 6.** Главне особине различитих лабораторијских животиња

| Особина                  | Инбред сојеви    | Аутбред сојеви | Ф1 хибриди  |
|--------------------------|------------------|----------------|-------------|
| Хомозиготност            | Врло висока      | Ниска          | Ниска       |
| Изогеност                | Висока           | Ниска          | Висока      |
| Дугорочна стабилност     | Висока           | Ниска          | Висока      |
| Могућност идентификације | Висока           | Ниска          | Висока      |
| Униформност              | Средња до висока | Средња         | Врло висока |
| Индивидуалност           | Висока           | Ниска          | ?           |
| Вигор                    | Ниски            | Варира         | Врло висок  |
| Заступљеност             | Висока           | Средња         | Висока      |
| Информација о пореклу    | Висока           | Средња         | Висока      |

## 10.8 Контрола генетског квалитета

Контрола генетског квалитета лабораторијских животиња може се посматрати са два аспекта. Први подразумева контролу процеса производње, односно узгајања. Други аспект подразумева успостављање редовног генетског мониторинга. Постоји више метода, директних и индиректних, помоћу којих се може вршити генетски мониторинг. Ове методе омогућавају да се открију промене на одређеним генима код лабораторијских животиња.

### Генетске варијације

Генетски материјал инбред сојева подложен је сталним променама под утицајем генетске контаминације, генетског дрифта и мутација.

**Генетска контаминација** је најчешћи начин промене генетске основе током узгајања, а резултат је укрштања са другим сојевима.

**Генетски дрифт** се односи на насумичне генетске промене које се могу десити током процеса узгоја. Он може бити последица раздвајања резидуалних хетерозиготних гена, што резултира стварањем новог подсоја.

**Мутације** су последица замене, делеције или инсерције одређених нуклеотида у ланцу ДНК, што резултира настанком нових генских алела. Све ове генетске варијације су разлог што је неопходан редован генетски мониторинг лабораторијских животиња. Методи генетског мониторинга се могу поделити, на основу маркера који се прате, на уобичајне и методе којима се прате молекуларни генетски маркери.

### Уобичајни методи генетског мониторинга

Уобичајне методе које се могу користити у одређивању генома инбред сојева подразумевају класична биохемијска, имунолошка, морфолошка или цитогенетичка испитивања. Само једном методом се не може одредити комплетан профил, већ је потребно користити више метода, које се међусобно допуњују.

**Биохемијски маркери.** Протеинске изоформе (нпр. изоензими) су производ експресије различитих алела, који се налазе на истом локусу. Изоензими се могу раздвојити помоћу електрофорезе. На овај начин се могу пратити гени на више локација, односно на више различитих хромозома.

**Имунолошки маркери.** Постоји више гликопротеина на мембранама Те и Бе лимфоцита, који имају значајну улогу у имунолошком одговору. Компоненте комплемента и имуноглобулини такође одражавају генски полиморфизам. Ово омогућава да се серолошке реакције користе као генски маркери. Поред овога, кожни графтови се могу користити у идентификацији гена чији су продукти експресије хистокомпатибилни антигени.

**Цитогенетички маркери.** Свака животињска врста се карактерише одређеним бројем и типом хромозома у једру, која се означава као кариотип. Код мишева овај број износи 40 (20 пари, од којих су 19 аутозоми и један полни хромозом). Након бојења (по Гимзи и квинакрином), ови хромозоми се могу морфолошки анализирати. Хетерохроматин инбред сојева мишева показује генетски полиморфизам.

### **Молекуларни генетски маркери**

Молекуларни генетски маркери подразумевају маркере на нивоу ДНК (ДНК маркере). Постоји веома велики број ових маркера, који може бити од  $10^8$  до  $10^{10}$  по једној индивидуи. Већина од њих су неутралне мутације (без утицаја на фенотип), које су углавном врло стабилне и нису под утицајем окружења у којем се животиње налазе. Неки од ДНК маркера који се користе су:

**Полиморфизам дужине рестрикцијских фрагмената** (енгл. *Restriction Fragment Length Polymorphism – RFLP*), варијација је у хомологним секвенцама ДНК, и односи се на полиморфизам узорака хомологних ДНК молекула из различитих рестрикцијских локација. ДНК узорак се, помоћу рестрикцијских ензима, цепа а рестрикцијски фрагменти се у гел електрофорези раздвајају, у складу са њиховим дужинама.

**Насумична амплификација полиморфне ДНК** (енгл. *Random Amplified Polymorphic DNA – RAPD*) јесте врста PCR реакције у којој су умножавајући сегменти ДНК случајни. За RAPD процедуру ствара се неколико произвољних, кратких прајмера (почетница) са 8–12 нуклеотида, а затим се наставља PCR и амплификација фрагмента. На завршетку обраде насталих узорака из RAPD реакције могу се прикупити профили. RAPD маркери су декамери (дуге 10 нуклеотида) ДНК фрагмената из PCR амплификације насумичних сегмената ДНК. За RAPD анализу није потребно познавање ДНК секвенци циљаних генома јер ће се прајмер негде везати у њиховом низу, али није одређено где тачно.

**Микросателити – понављање једноставне секвенце** (енгл. *Simple Sequence Repeats – SSR* или *Simple sequence length polymorphism – SSLP*) су кратке, некодирајуће секвенце ДНК које се често понављају у геному. Често је више понављања фокусирано на истом генском локусу, а понављање секвенце у микросателиту је врло једноставно. Састоји се од 2–4 нуклеотида који се могу понављати од 10 до 100 пута. Микросателити су најчешћи облик понављања ДНК секвенци.

**Једнонуклеотидни полиморфизам** (енгл. *Single-nucleotide polymorphism – SNP*) означава појаву замене места једног од нуклеотида неким другим нуклеотидом. Последице оваквих промена могу бити различитог обима и облика у посматраном геному или фенотипу.

## 10.9 Микробиолошка стандардизација лабораторијских животиња

Контрола микроорганизама код лабораторијских животиња је неопходна и током њиховог узгоја, као и током самог огледа. Постоји више значајних разлога због којих је ово неопходно.

Главни узрок болести и смрти лабораторијских животиња (током узгоја и током огледа) су инфективне болести. Патогени одговорни за ове болести су вируси, микоплазме, бактерије и паразити. Лабораторијске животиње нису подједнако подложне свим овим патогенима. На пример, мишје богиње су фаталне за неке сојеве мишева, док су други сојеви отпорни. У поређењу са пацовима соја F344, Levis сој пацова је осетљив на *Mycoplasma pulmonis*. C57BL/6 сој мишева је подложнији *Streptobacillus moniliformis* од других сојева мишева. Клинички симптоми се не морају увек појавити након инфекције патогеном, већ се може развити супклинички облик болести.

Бактерије и/или вируси су чести изазивачи респираторних и гастроинтестиналних инфекција. Мешане инфекција вирусима и бактеријама неминовно доводе до тежих облика болести. На пример, респираторни вируси могу утицати на функцију плућних макрофага, инхибирајући њихову способност уклањања бактерија из респираторног тракта, што доводи до упале плућа. Вирус који није узрочник респираторне болести може изазвати секундарну бактеријску пнеумонију. Инфекција реовирусом 3 изазива хепатитис код глодара, али, такође, компромитује њихов имунитет у плућима. И други фактори, осим патогених микроорганизама, могу играти важну улогу у развоју болести. На пример, висока концентрација амонијака ремети функцију цилија у респираторном тракту, ограничавајући уклањање патогених микроорганизама. Због тога се лабораторијске животиње које су без специфичних патогена (SPF) препоручују за биомедицинска истраживања.

У већини случајева животиње не показују клиничке симптоме након инфекције. Међутим, супклиничка инфекција може озбиљно утицати на резултате истраживања. На пример, инфекција сендаи вирусом ремети одговор Бе и Те лимфоцита на антигене стимулусе, повећава ниво интерферона и смањује ниво трећег фактора комплемента у плазми. Вирус хепатитиса миша може инхибирати фагоцитну активност и цитотоксично лимфоцитно дејство, повећати активност аспартат аминотрансферазе (AST), аланин аминотрансферазе (ALT) и многих других ензима јетре у плазми. Током трансплантације тумора животиње се могу инфицирати вирусом који изазива повећање нивоа дехидрогеназе млечне киселине (LDH), узрокујући нагли пораст овог ензима и кортикостероида у плазми и каснијег одбацивања графта. Све ово указује на то да потенцијални инфективни патогени могу озбиљно утицати на резултате огледа. Због тога је познавање популације микроорганизама код лабораторијских животиња од изузетне важности за правилно тумачење добијених резултата огледа.

Зоонозе су инфективне болести животиња (обично кичмењака) које се природним путем могу пренети на људе. Неке од најзначајнијих савремених болести, као што су ебола, салмонелоза и грип, су зоонозе. Зоонозе имају различите начине преноса, директне и индиректне. Када се животиње инфицирају од људи,

онда се то означава као обрнута зооноза. Животиње које се узгајају или су ухваћене у дивљини могу бити преносиоци зооноза, док се SPF животиње сматрају безбедним по том питању. Нарочито су опасне зоонозе које код лабораторијских животиња пролазе у супклиничком облику, док код људи могу изазвати озбиљну клиничку слику. На пример, пацови обично имају латентну инфекцију ханта вирусом, која се може проширити преко респираторног тракта, измета и урина. Људи се могу лако инфицирани директним или индиректним контактом са инфицираним животињама, преко биолошких производа или материјала и опреме. Код људи се развија озбиљна клиничка слика која се карактерише акутним интерстицијалним нефритисом, односно хеморагијском грозницом са бубрежним синдромом. За потребе биомедицинских истраживања лабораторијске животиње се могу намерно инфицирати узрочницима зооноза. Тада се морају користити све мере заштите како би се ограничило ширење тих патогена и инфекција људи.

Серуми, вакцине и други биолошки производи који се користе за људе морају бити безбедни и без узрочника зооноза. Добра произвођачка пракса (енгл. *Good Manufacturing Practice – GMP*) има за циљ да контролише све фазе производње, и да обезбеди сигурне и високо квалитетне производе. SPF животиње се могу користити за процену ефикасности и безбедности биолошких производа. На пример, један од многих аспеката контроле вакцина против вирусних обољења је да се искључи присуство других вируса. У том случају, SPF животињама се након давања ових вакцина врши детекција одговарајућих антитела у серуму.

Лабораторијске животиње се могу инфицирати патогеним микроорганизмима из више извора и различитим начинима преноса. Главни извори инфекције током узгоја животиња и самог огледа представљају остале животиње, производи од животиња, домаће животиње/кућни љубимци, особље и материјал и опрема.

Инфициране лабораторијске животиње су важан извор микробиолошке контаминације. Генерално, превентивна здравствена заштита током огледа је знатно слабија од оне која се спроводи током узгоја лабораторијских животиња. Током огледа животиње из различитих извора се често чувају у истој просторији. Могућа су и преклапања догађаја који треба да буду временски раздвојени. Све то значи да су животиње током огледа вероватно изложене деловању патогених микроорганизма па тај ризик треба узети у обзир приликом прављења плана огледа.

Биолошки материјали обично потичу од лабораторијских животиња. Поред тога, лабораторијске животиње се користе као „средина“ за оне микроорганизме који се не могу култивисати *in vitro*. Све ово може представљати извор контаминације.

Кућни љубимци могу представљати озбиљну опасност по здравље лабораторијских животиња. Особљу које ради на узгајању или изводи огледе на лабораторијским животињама се не препоручује држање кућних љубимаца.

Људи су главни фактор одговоран за пренос болести између лабораторијских животиња. Они служе као преносиоци и привремени домаћини патогеним микроорганизмима, који су контаминирани након контакта са зараженим животињама. Правилан начин спречавања овог вида контаминације је да се ограничи кретање особљу које ради у објектима за различите класе животиња. На



пример, узгајивачи животиња не смеју улазити у лабораторију. Постоји приступ да се низ патогених микроорганизама код људи не могу пренети на животиње. Међутим, иако је ова претпоставка тачна, мора се узети у обзир да је код малог броја животиња могућа привремена производња антитета.

Материјали и опрема могу бити средство преноса патогених микроорганизама. Кавези, пратећа, хируршка и остала опрема могу бити краћи или дужи период извор контаминације. Храна и простирка могу бити контаминирани у току производње и складиштења. Вода и ваздух такође могу бити извор контаминације.

## 10.10 Микробиолошка класификација лабораторијских животиња

На основу присуства микроорганизама, лабораторијске животиње се могу поделити у класе:

- конвенционалне лабораторијске животиње,
- чисте лабораторијске животиње,
- лабораторијске животиње слободне од специфичних патогена (енгл. *specific pathogen free* – SPF),
- лабораторијске животиње без микроорганизама (енгл. *germ free* – GF) и
- гнотобиотске лабораторијске животиње.

### 10.10.1 Конвенционалне лабораторијске животиње

Лабораторијске животиње које се држе у отвореном окружењу уз минималну микробиолошку контролу називају се конвенционалне лабораторијске животиње. Оне нису носиоци узрочника зооноза или смртоносних заразних болести. Конвенционалне животиње су и даље у широкој употреби у биомедицинским истраживањима као и у настави. Ако је микробиолошки статус животиња непознат или сумњив, њих треба третирати као конвенционалне животиње. Зато што се конвенционалне животиње узгајају без икаквог посебног програма превентивне здравствене заштите, оне би требало да прођу кроз карантин пре употребе. Дужина трајања карантина одређује се најкраћим временом потребним за искључење могућности да су те животиње инфициране одређеним проузроковачем болести.

### **10.10.2 Чисте лабораторијске животиње**

Поред узрочника који су искључени код конвенционалних животиња, чисте лабораторијске животиње не носе никакве штетне микроорганизме или микроорганизме који могу да ометају истраживање. Чисте лабораторијске животиње морају бити пореклом од SPF или GF животиња и морају се чувати у изолованом објекту.

Чисте животиње су погодне само за краткотрајне огледе или за одређени део дужих огледа. Оне су здравије од конвенционалних животиња, могу лако достићи квалитет SPF животиња, а мање су подложне оболевању. Чисте животиње се могу сматрати прелазном класом лабораторијских животиња.

### **10.10.3 SPF лабораторијске животиње**

SPF животиње су слободне од специфичних (потенцијалних) патогених микроорганизама. Поред микроорганизама од којих треба да буду слободне конвенционалне и чисте лабораторијске животиње, SPF животиње су слободне од микроорганизама који доводе до обољења или могу ометати истраживачке огледе. SPF животиње воде порекло од GF или гнотобиотских лабораторијских животиња. Сматрају се стандардним лабораторијским животињама, и у широкој су употреби у биомедицинским истраживањима.

Сигурност добијених резултата је већа са SPF животињама због искључивања могућности инфекције. Могућност контаминације представља, у овом случају, главни ризик који расте са повећањем дужине трајања огледа. Геронтолошка истраживања захтевају, обично, употребу SPF животиња зато што оне, углавном, дуже живе од других категорија лабораторијских животиња. SPF животиње се користе и за имунолошке огледе. Поједине огледне животиње се могу узгајати само као SPF животиње или GF животиње. Пример за ово су голи мишеви са дефицитом Те ћелија и мишеви са озбиљном комбинованом имунодефицијенцијом (са недостатком Те и Бе ћелија).

### **10.10.4 GF и гнотобиотске лабораторијске животиње**

GF и гнотобиотске животиње припадају животињама вишег нивоа. GF животиње су слободне (сви њихови делови тела) од свих микроорганизама који се могу детектовати постојећим методама. Гнотобиотске животиње су животиње са потпуно познатим микроорганизмима који су плански додати GF животињама. На основу броја додатих микроорганизама, гнотобиотске животиње се могу поделити на моноксеничне, диксеничне, триксеничне и поликсеничне.

GF и гнотобиотске животиње се могу добити хистеректомијом, царским резом или ембриотрансфером од конвенционалних животиња. Смисао свих ових поступака је да се искључи присуство свих микроорганизама. Хистеректомија се врши пре термина порођаја. Под стерилним условима материца се уклања из донорске животиње и ставља у изолатор преко резервоара са раствором за дезинфекцију. Младунци се потом ваде из материце и хране се вештачки или их хране GF женке у лактацији. На сличан начин се поступа и приликом вршења царског реза, док се ембриотрансфер врши са донора на GF животињу.

Већина животиња које су добијене хистеректомијом и царским резом су GF животиње. Повремено, може се јавити једна или више врста микроорганизама, који су пренети на њих вертикално, преко плаценте. Вертикални пренос подразумева да су микроорганизми директно пренети на следећу генерацију од стране мајка. Ово се дешава када је мајка заражена током трудноће и микроорганизми могу да продру кроз плаценталну баријеру и инфицирају фетус.

Аутохтони микроорганизми су они који се нормално налазе на кожи и слузокожама конвенционалних животиња. Они помажу развој имунитета. Врсте и количина аутохтоних микроорганизама значајно варирају и нису дефинитивно познате. Уопштено, постоји више од 500 врста које се налазе у дигестивном систему код миша. Сваки грам цревног садржаја садржи  $10^{10}$ – $10^{11}$  бактерија. Они са домаћином имају симбиотски однос. У поређењу са конвенционалним животињама, GF животиње немају аутохтону флору и због тога имају низ морфолошких и физиолошких абнормалности. На пример, GF животиње имају увећано слепо црево и тањи цревни зид у поређењу са конвенционалним животињама. Уколико се GF мишевима и пацовима надокнади аутохтона флора, њихово стање ће се нормализовати.

Гнотобиотичке животиње се могу користити за производњу вакцина и у истраживању ефекта бактерија на трансформацију материја које се уносе преко дигестивног тракта. Поред тога, употребљавају се за проучавање ефеката зрачења или других имуносупресора. Због честих инфекција ову врсту истраживања је готово немогуће спровести на конвенционалним животињама, па чак и SPF животињама. Еколошке студије дигестивног система, његовог имуног система и функције нормалне дигестивне флоре скоро су немогуће без гнотобиотских животиња.

Табела 7. приказује особине различитих класа лабораторијских животиња.

**Табела 7.** Особине различитих класа лабораторијских животиња

| <b>Класа лаб. жив.</b>       | <b>GF</b>   | <b>SPF</b> | <b>Чисте</b>    | <b>Конвенционалне</b> |
|------------------------------|-------------|------------|-----------------|-----------------------|
| Инфективне болести           | Не          | Не         | Не              | Могуће                |
| Паразитске болести           | Не          | Не         | Не              | Могуће                |
| Огледни резултати            | Сигурни     | Сигурни    | Скоро сигурни   | Упитни                |
| Потребан број животиња       | Мали        | Мали       | Умерени         | Велики                |
| Статистичка поузданост       | Висока      | Висока     | Добра           | Ниска                 |
| Дуготрајни огледи            | Могући      | Могући     | Могући          | Тешко могући          |
| Морталитет                   | Врло низак  | Низак      | Релативно низак | Висок                 |
| Дуготрајно преживљавање      | 100%        | 90%        | 80%             | 40%                   |
| Стандардизација огледа       | Могуће      | Могуће     | Могуће          | Немогуће              |
| Вредност добијених резултата | Врло висока | Висока     | Добра           | Ниска                 |

### 10.11 Микробиолошки мониторинг лабораторијских животиња

Микробиолошки мониторинг обухвата контролу система баријера и контролу самих лабораторијских животиња. Главни принцип кога се треба придржавати при овом мониторингу је принцип превенције. Све мере које се предузимају се оријентишу на три основне епизоотолошке компоненте:

- изворе инфекције,
- путеве преноса и
- пријемчиве животиње.

Највећи акценат се ставља на периодичан скрининг здравих животиња. Обдукција болесних или уинулих животиња је такође обавезна. У тим случајевима се претпоставља да је болест и/или угинуће узроковано патогеним микроорганизмима, све док се та могућност не искључи у потпуности.

#### Методe мониторинга

Методe мониторинга се могу поделити на четири типа: вирусолошке, бактериолошке, миколошке и паразитолошке. Све ове методe мора да изводи особље које је одговарајуће квалификовано.

**Вирусолошке методе.** Серолошки тестови су погодни за рутинску контролу свих врста лабораторијских животиња. Најчешће коришћене серолошке методе су хемаглутинација, инхибиција хемаглутинације, тест имунофлуоресценције, имуноензимски тест и ELISA. Поред ових серолошких тестова врши се и детекција самог вируса, што укључује изолацију, гајење и идентификацију вируса, детекцију вирусних честица, антигена или нуклеинске киселине.

**Бактериолошке методе** подразумевају изолацију и култивисање патогених бактерија. Неки патогени, као што су *Salmonella typhimurium*, *Corinebacterium kutscheri*, *Bacillus piliformis* и *Micoplasma gallisepticum* могу се потврдити и серолошким тестовима, али је за коначну дијагнозу потребно урадити њихову изолацију. За патогене који се не могу изоловати у вештачком медијуму, као што је *Bacillus piliformis*, дијагнозу треба потврдити патолошким прегледом.

Миколошке методе подразумевају изолацију и култивисање у Сабуровом (Sabouraud) агару. Коже гљивице су узгајају на 25 °С, а гљивице из дубљих ткива на 37 °С. Различите гљивице имају различите карактеристике колонија. Понекад је за коначну дијагнозу потребно извршити биохемијске и имунолошке анализе.

**Паразитолошке методе.** Спољни паразити могу се уочити голим оком. Ови паразити и њихова јаја се могу испитати узорковањем помоћу лепљиве траке. Цревни паразити се могу понекад видети голим оком у фецесу. За детекцију паразита и њихових развојних облика из фецеса могу се користити методе флотације и седиментације. Детекција паразита у крви захтева микроскопски преглед после бојења размаза периферне крви. Детекција паразита у ткивима захтева патолошки преглед циљаног ткива.

Квалитет лабораторијских животиња и огледа који се на њима врше засновани су на потпуном познавању микробиолошког статуса ових животиња. Мониторинг животиња треба да се одвија под надзором ветеринара микробиолога, због специфичних патогена који се могу јавити при раду са овим животињама.

### **Микробиолошки мониторинг гнотобиотских и SPF лабораторијских животиња**

Гнотобиотске лабораторијске животиње носе познату микрофлору, која у потпуности зависи од метода праћења. Другим речима, животиње могу бити означене као GF или гнотобиотске ако се ниједан микроорганизам (осим тачно одређених код гнотобиотских животиња) не може детектовати признатим методама. Могућност вертикалног преноса је веома мала ако гнотобиотске животиње потичу од SPF животиња. Међутим, ако потичу од конвенционалних животиња, опсег мониторинга треба проширити јер се микроорганизми могу пренети и директно. Ако нема доказа који указују на вертикалну инфекцију, даље испитивање може бити ограничено на оне микроорганизме који могу бити присутни услед оштећења баријера (нпр. спорогене бактерије). У серуму животиња добијених хистеректомијом постоје матернална антитела, која се могу детектовати два до три месеца после рођења.

SPF животиње се морају редовно проверавати на присуство патогена. Учесталост мониторинга се креће у распону од два до дванаест пута годишње. Број животиња које се укључују у сваки мониторинг није једнак у сваком случају и генерално варира између пет и двадесет пет јединки. Ово зависи од укупног броја животиња и специфичне ситуације. Просечно, десет животиња или десет узорака

серума је довољно. Број узорка у великој мери одређује могућност откривања контаминације. Ако је 50% од SPF животиња заправо инфицирано, тачност праћења је око 50% ако се пет животиња (величина узорка) испитују. То значи да, уколико је преваленција инфекције мања од 50%, вероватноћа је 95% да неће бити откривена. Међутим, већина патогена је искључена под условима у којима се гаје SPF животиње.

Микробиолошки мониторинг је тежак код SPF животиња које не показују клиничке знакове болести. Многи патогени микроорганизми се могу утврдити само након обдукције. Интерпретација података мониторинга SPF животиња је сложена. Све податке о узгоју и баријерама треба узети у обзир приликом анализирања тих података. Посебан ризик за инфекцију представља процес транспорта животиња те се животиње након транспорта морају наћи под строжијим режимом надзора.

### **SPF животиње у огледу**

Уопштено, животиње у огледу су под слабијим микробиолошким надзором у односу на животиње током узгоја. Из овога произилази да ће животиње највероватније бити инфициране током огледа, а не током узгоја. Током дуготрајних огледа, SPF животиње се држе као конвенционалне животиње. Ово утиче на SPF животиње на многе начине, па самим тиме и на резултате самог огледа. Ово је нарочито важно у огледима у којима се прате укупн број леукоцита и диференцијална крвна слика, ниво имуноглобулина (IgM и IgG) и релативна тежина лимфних органа (тимус и слезина). Ако вредности ових параметара варирају у контролној групи, може се закључити да су SPF животиње инфициране.

## 11.0 Исхрана лабораторијских животиња

Нутритивни статус лабораторијских животиња значајно утиче на њихову способност да достигну свој генетски потенцијал за раст, репродукцију и дуговечност, као и способност да адекватно одговоре на све врсте стресогених фактора којима могу бити изложене. Правилно избалансирана исхрана је важна како за добробит лабораторијских животиња тако и да би се осигурало добијање оптималних експерименталних резултата.

Лабораторијским животињама је потребно преко педесет хранљивих састојака у исхрани, и то у одговарајућим концентрацијама и међусобним односима. На унос хране, апсорпцију хранљивих материја, коришћење и излучивање из организма могу утицати низ физичко-хемијских карактеристика хране, као што су физички облик, сензорне особине, присуство антимикробних материја, хемијских загађивача, као и услова складиштења. Многи биолошки фактори такође утичу на нутритивне потребе лабораторијских животиња. Фактори који утичу на нутритивне потребе су: генетика, узраст, окружење, микробиолошки статус, тип огледа и интеракција хранљивих састојака.

### 11.1 Фактори који утичу на нутритивне потребе

#### Генетски фактори

Генетске разлике међу врстама, расама, сојевима, половима, као и индивидуалним јединкама могу утицати на нутритивне потребе. На пример, недостатак L-гулонолактон оксидазе (кључни ензим потребан за синтезу аскорбинске киселине) код неких врста је очигледно последица генетске мутације. Активност L-гулонолактон оксидазе се разликује између појединих врста глодара, између сојева пацова, као и између полова унутар сојева пацова. Откривено је да појединим сојевима пацова, као код заморца, недостаје L-гулонолактон оксидаза па обавезно, путем хране, морају уносити аскорбинску киселину. Постоје докази да се поједини сојеви мишева могу разликовати у потребама за рибофлавином, пантотенском киселином и другим хранљивим материјама.

Генетске разлике у потенцијалу раста између врста, сојева и полова могу да утичу индиректно на дневне потребе за аминокиселинама и другим хранљивим материјама које се уграђују у поједина ткива.

#### Узраст

Потребе за појединим хранљивим материјама се мењају током различитих фаза животног циклуса, посебно као одговор на раст, гравидитет или лактацију. Уграђивање хранљивих материја у телесна ткива или у производе захтева аминок-

киселине, масне киселине, минерале, глукозу или друге материје, као и повећане количине витамина и повезаних кофактора. Истраживања на домаћим животињама показују да стопе раста и производње млека утичу на нутритивне потребе. Исто важи и за лабораторијске животиње. Међутим, за лабораторијске животиње је доступно много мање података о овим утицајима. Као резултат тога, за већину хранљивих материја тренутно није могуће утврдити посебне потребе за различите фазе живота, код појединих врста лабораторијских животиња.

## **Окружење**

Нутритивне потребе лабораторијских животиња су углавном проучаване под контролисаним условима са минималним дневним или сезонским варијацијама у температури, дневном циклусу или другим условима животне средине.

Изражена промена у овим условима може значајно да утиче на ове потребе. На пример, излагање температурама испод доњег прага температуре термичке неутралности повећава енергетске захтеве јер животиње морају да троше енергију за одржавање константне температуре тела (важи за хомеотермне животиње). Последице повећање уноса хране може омогућити коришћење мање концентрације појединих хранљивих састојака без смањивања њиховог укупног уноса. Висока температура, узнемирујући стимулуси, сукоби у заједници или други фактори животне средине који утичу на смањење уноса хране могу захтевати формулације са већим концентрацијама одређених хранљивих материја да би се обезбедио њихов довољан унос.

Тип смештаја, такође, може да утиче на количину хранљивих материја потребних у исхрани. На пример, лабораторијски глодари држани у поцинкованим кавезима или кавезима са чврстим дном могу имати мању потребу за цинком због доступности цинка из фекалија и резидуа материјала из кавеза.

Растворени минерали у води за пиће (као што је бакар из бакарних водоводних цеви) могу да утичу на количину ових минерала који морају бити унесени путем исхране. Ако лабораторијске животиње једу простирку или неке друге материјале, то може да обезбеди извор неких хранљивих материја али и токсина. У студијама о потребама лабораторијских животиња за материјама које су потребне у врло ниским концентрацијама, чак и довод ваздуха може бити њихов значајан извор.

## **Микробиолошки статус**

Под нормалним условима гајења лабораторијских животиња у њиховом дигестивном тракту постоји популација микроорганизама који синтетишу различите органске састојке, као производе или нуспродукте сопственог метаболизма, укључујући и различите витамине растворљиве у води и аминокиселине. Допринос ових хранљивих материја исхрани домаћина може бити знатан, али варира у зависности од врсте, састава исхране и услова узгоја. Код пацова и мишева највећа микробиолошка активности је у дебелом цреву, а многи од



производа ових микроорганизама нису доступни за домаћина, осим ако се измет поново не уноси у организам (копрофагија), као што је уобичајено за пацова и друге глодаре. Спречавање копрофагије захтева повећање концентрације ових хранљивих материја у исхрани.

Губитак неких или свих симбиотских микроорганизама, код животиња слободних од специфичних патогена и животиња без микроорганизама, значајно ремети синтезу хранљивих материја и, на тај начин, утиче на потребе у исхрани. Прилагођавање концентрације хранљивих састојака као и методе припреме морају се узети у обзир приликом формулисања исхране за узгој лабораторијских животиња без микроорганизама или слободних од специфичних патогена.

### **Тип огледа**

Експериментални поступци могу проузроковати стрес или на други начин утицати на унос хране. На пример, хируршке интервенције или испитиване супстанце могу довести до анорексије, што захтева пружање више укуских састојака у оброку или исхрану са повишеним концентрацијама хранљивих материја, како би се компензовао смањен унос.

Експериментални протоколи који захтевају ограничавање количине хране смањују унос свих хранљивих материја, осим ако у исхрани нису измењене њихове концентрације и међусобни односи.

### **Интеракција хранљивих састојака**

Промене у енергетској вредности оброка обично узрокују промену у уносу хране. Ако се користи високоенергетска исхрана, неопходно је повећати концентрацију појединих хранљивих материја да би се компензовао смањен унос хране. Друге интеракције се јављају између појединих хранљивих састојака, као што је компетитивна ихибиција јонских транспортера између одређених минерала који деле заједничке транспортне системе.

Приликом формулисања исхране, која садржи неубичајне концентрације хранљивих материја, морају се узети у обзир потенцијални ефекти на друге хранљиве материје и извршити одговарајућа прилагођавања, ако је то потребно.

## **11.2 Формулација исхране**

Формулација исхране је процес избора врсте и количине појединих састојака (укључујући витаминске и минералне додатке исхрани), који се користе у производњи и који садрже планиране концентрације хранљивих материја. Избор састојака ће зависити од врсте животиња која се храни и експерименталних и/или производних циљева. Приликом дефинисања концентрације хранљивих материја,

морају се узети у обзир специфичне потребе, могући губици током производње и складиштења, биорасположивост хранљивих материја из појединих састојака у храни и потенцијалне интеракције хранљивих материја.

Разне врсте готових формулација су доступне за употребу код лабораторијских животиња. Избор најприкладније ће зависити од степена потребе контролисања хранљивих састојака, потребе да се дода одређена испитивана материја, могућег деловања микроорганизама из хране, прихватање исхране од животиња и трошкова. Расипање је такође проблем са неким врстама формулације obroka, које може бити и значајна мана ако је потребно квантитативно одредити унос. Идеална формулација исхране за одређену групу лабораторијских животиња зависи од производних и/или експерименталних циљева. Исхрана мора бити довољно укусна да обезбеди адекватну конзумацију хране и нутритивно избалансирана тако да обезбеђује храњиве састојке од суштинског значаја за жељене циљеве. Поред тога, требало би да буде слободна од материја и микроорганизама који могу бити токсични или изазвати инфекцију. Исхрана која се користи у истраживању мора бити лако поновљива како би се осигурало да се резултати могу проценити додатним истраживањима.

Уобичајено је да се исхрана за лабораторијске животиње класификује према степену дефинисаности састава њених састојака. На основу овога, исхрану за лабораторијске животиње можемо поделити на исхрану базирану на природним састојцима и на пречишћену и хемијски дефинисану исхрану.

### **11.2.1 Исхрана базирана на природним састојцима**

Исхрана на бази природних састојака базира се на пољопривредним производима и споредним производима прехранбене индустрије. Најчешће су у питњу интегралне житарице, производи млинске индустрије (нпр. пшеничне мекиње), високопротеинска хранива (нпр. сојино брашно, рибље брашно), минерална хранива (нпр. кречњак, коштано брашно) и други састојци сточне хране (нпр. сушена меласа, луцерка). Комерцијалне формулације за лабораторијске животиње су најчешће на бази природних састојака, али и посебне дијете за огледе могу бити овог типа.

Ова врста исхране је релативно јефтина за производњу и, ако је посвећена потребна пажња избору састојака, укусна за већину лабораторијских животиња. Међутим, варијације у саставу појединачних састојака могу да произведу промене у концентрацији појединих хранљивих материја. Земљиште и временски услови, употреба ђубрива и других пољопривредних хемикалија, берба и процедура складиштења и производње могу утицати на састав појединих састојака. Резултат тога је да не постоје две производне серије хране за животиње које су апсолутно идентичне. Још један недостатак је потенцијал за контаминацију остацима пестицида, тешких метала или другим средствима која могу да угрозе експерименталне податаке.

Овако базирана исхрана је обично незадовољавајућа за огледе за утврђивање деловања микроелемената, токсиколошке студије које су осетљиве на ниске концентрације загађивача или за имунолошке студије на које могу утицати антигени у исхрани.

Формулација исхране на бази природних састојака компликује се чињеницом да сваки састојак садржи много, ако не и већину хранљивих материја, тако да се промена у количини сваког састојка ствара промену и у концентрацији већине хранљивих материја у финалном производу. Због тога није могуће дефинисати тачну концентрацију сваког хранљивог састојка, већ се уместо тога исхрана формулише тако да садржи минималну концентрацију појединих састојака (попут сировог протеина, влакана, масти, калцијума и фосфора) и других хранљивих састојака који се додају путем витаминско и минералних додатака (ВМД).

У исхрани домаћих животиња економски разлози диктирају да се оваква исхрана формулише применом линеарне технике програмирања која обезбеђује минималне и максималне концентрације хранљивих материја, уз минималну цену састојака. Ово је довело до развијања варијабилних формула производа, који се разликују у композицији од шарже до шарже, као одговор на промену цене појединих састојака. Таква исхрана може бити исплатива за држање и узгој лабораторијских животиња, али није погодна да се користи у прехранбеним, токсиколошким или другим врстама огледа који могу бити компромитовани варијацијом појединих састојака.

Алтернативни приступ је развој фиксне формуле у којој врста и количина састојака не варирају од шарже до шарже. Ова исхрана се често означава и као отворена формула исхране зато што се користе конкурентне понуде различитих произвођача. Овако формулисана исхрана може садржати више извора протеина, масти и угљених хидрата, чиме се смањује важност варијације у саставу неког посебног састојка од шарже до шарже. Мноштво састојака, такође, повећава вероватноћу да ће микроелементи од потенцијалног нутритивног значаја (као што су хром, никл, калај) бити обезбеђени у одговарајућим концентрацијама. Ово је нарочито важно зато што ови минерали нису обично укључени у минералне премиксе.

Важно је да се схвати да биорасположивост хранљивих материја може бити нижа у исхрани на бази природних састојака у односу на очекиване концентрације. Фактори који могу да утичу на биодоступност укључују хемијски облик хранљивих материја, састојке који могу да везују хранљиве материје (као што су фитин, танин и лигнин), међусобне интеракције и ефекти прераде. Зато је оправдано обезбедити хранљиве материје у концентрацијама вишим од минималних услова али у сигурном распону. Уобичајена пракса је да се користе веће границе сигурности за посебно лабилне витамине и за минерале.

### 11.2.2 Пречишћена и хемијски дефинисана исхрана

Исхрана која се формулише уз употребу ограниченог броја више пречишћених састојака означава се као пречишћена исхрана. Само релативно чисти састојци, који врло мало варирају у свом саставу, могу се користити за те формулације. Примери таквих састојака су казеин и сојин протеински изолат (као извор протеина), шећер и скроб (као извор угљених хидрата), биљно уље и масти (као извор масноће и есенцијалних масних киселина), хемијски екстрахована целулоза (као извор влакана) и хемијски чисте неорганске соли и витамини.

Концентрација хранљивих материја у пречишћеној исхрани је мање варијабилна и лакше се контролише преко формулације него у храни базираној на природним хранљивима. Међутим, чак и ови састојци могу да садрже променљиве количине хранљивих материја које се иначе налазе у траговима, па огледна исхрана намењена за испитивање њихових дефицита мора бити још рестриктивнија.

Потенцијал за хемијску контаминацију овакве исхране је врло низак. Пречишћена исхрана се често користи у истраживању специфичних дефицита или суфицита одређених хранљивих материја. Главни недостаци ове исхране су да их све врсте лабораторијских животиња не конзумирају радо и да је скупља за производњу од исхране базиране на природним састојцима.

За студије у којима је потребна строга контрола над концентрацијом хранљивих и специфичних састојака битно је да је исхрана базирана на елементарним састојцима, као што су појединачне аминокиселине, специфични шећери, хемијски дефинисани триглицериди, есенцијалне масне киселине, неорганске соли и витамини. Такве исхране се назива хемијски дефинисана исхрана и представља највиши могући степен контроле над концентрацијом хранљивих материја.

Нажалост, хемијски дефинисану исхрану не може лако конзумирати већина врста лабораторијских животињама и обично је прескупа за општу употребу. Иако су концентрације хранљивих састојака у овим смешама теоретски фиксне у време када се производе, биодоступност се може изменити оксидацијом или интеракцијом састојака током складиштења. Хемијски дефинисана исхрана која се може стерилисати примењује се у студијама у којима се захтева одсуство микроорганизама.

Састојци који се користе у пречишћеној и хемијски дефинисаној исхрани имају предност у томе да је, у суштини, сваки извор једног хранљивог састојка или једне класе хранљивих састојака познат, што умногоме олакшава задатак формулације. Сваки састојак мора бити пажљиво одабран на основу чистоће, доследности у снабдевању и саставу и физичко-хемијским својствима. Одлука о томе колико се сваки састојак користи је првенствено у функцији од планиране концентрације хранљивих материја. Мора се обратити посебна пажња на обезбеђивање извора свих есенцијалних хранљивих састојака јер је вероватније да се дефицит одређених микроелеманата јави код овакве исхране него у исхрани базираној на природним састојцима. Границе сигурности изнад потребних концентрација треба да буду умерене и да се односе на потенцијалне губитке

узроковане оксидацијом или другим реакцијама које се могу појавити током и након производње.

Нечистоће представљају велики проблем и при коришћењу пречишћене исхране. На пример, извори протеина могу да пруже променљиве али непознате количине витамина, минерала и есенцијалних масних киселина; скроб може садржати трагове липида и есенцијалних масних киселина; уља могу да садрже витамине растворљиве у мастима. Стога је неопходно да се одаберу тачно одређени састојци ако је потребна строга контрола одређене хранљиве материје. Извори протеина који се користе за производњу исхране, у циљу испитивања дефицита микроелемената, укључују торула квасац за испитивање хрома и селена; лакталбумин за кобалт; казеин за бакар, гвожђе, манган; беланце јаја за цинк. Казеин садржи фосфор, а соја протеин садржи фитин, који везује минерале. Казеин се често екстрахује да се смањи садржај витамина, али и казеин без витамина може имати значајне преостале количине витамина Бе 6.

Хемијски одређена исхрана се формулише коришћењем хемијски чистих (аналитичке чистоће) хранљивих материја, као што су аминокиселине, естри масних киселина, глукозе, витамини и минералне соли. При избору састојака морају се узети у обзир фактори као што су хемијска стабилност и растворљивост (у течной исхрани). Очигледно је да се у овакву исхрану сви есенцијални састојци морају додати појединачно. Доступност различитих хемијских облика хранљивих материја је примарна препрека у формулисању овакве исхране. На пример, облици L-изомера аминокиселина се јављају у протеинима природне хране, док ће D-изомери само неколико есенцијалних аминокиселина омогућити раст пацова. Од њих, само метионин се може користити у било ком облику.

### 11.3 Физички облик хранива

Храна за лабораторијске животиње може бити у различитим физичким облицима. Најчешћи облик у употреби за лабораторијске животиње је пелетирана храна, која се обично формира додавањем воде у смешу основних састојака и затим се калупи (Слика 23.). Величина и облик рупе у калупу одређују облик пелета а ротирајуће лопатице контролишу њихову дужину. Пелете се затим суше док не очврсну. За побољшање квалитета пелета понекад се користе везива. Пелетирана храна је једноставна за руковање, продају, транспорт и коришћење. Поред тога, употребом ове хране се смањује количина прашине у објектима за животиње, спречава се да животиње бирају селективно састојке и минимализује се расипање. Међутим, врло је тешко додати испитиване материје или на други начин мењати пелетирану храну након производње.



**Слика 23.** Пелетирана храна

Екструдирана храна је слична пелетираној, осим што је потиснута кроз калуп под притиском и на високој температури, након што се у њу убризга водена пара, тако да се производ проширује кад изађе из калупа. Екструдирана храна је мање густине од пелетиране и њу преферирају неке животиње (нпр. пси, мачке и човеколики мајмуни). Екструдирана храна се обично не користи за лабораторијске глодаре због повећаног губитака током храњења и већих трошкова производње.

Хранива у облику мешавине се понекад користе јер дозвољавају додавање адитива и испитиваних материја након што је произведена исхрана. Оваква исхрана је често врло неефикасна због велике количине, која може бити расута ако се не користе специјално дизајниране хранилице. Исто тако, може доћи и до раздвајања појединих компоненти под одређеним условима складиштења. Проблем представља и прашина која настаје из хране и може бити опасна ако су додата токсична једињења. Једно од решења овог проблема је да се дода супстрат за желирање и вода и да се оброк формира у виду желатинозне масе – гела, која се може исећи на коцкице за исхрану. Међутим, средства за желирање могу да садрже угљене хидрате и минерале који се морају узети у обзир у формулацијама исхране. Гел исхрана захтева хлађење да би се успорио раст микроорганизама и мора да се користити дневно би се одржала влажност, а тиме и унос хране.

Дробљена исхрана се припрема дробљењем пелетиране или екстудиране хране до честица одговарајуће величине за одређени узраст или величину лабораторијске животиње, укључујући рибе и птице. Дробљење омогућава стварање мањих честица исхране које, теоретски, садрже све састојке присутне и у пелетираној храни. Исхрана дробљеном храном је практична, без проблема који се обично срећу код коришћења мешавина, али се не користи често код глодара.

Течна исхрана је развијена да би се омогућили специфични захтеви попут стерилизације филтрирањем. Течна исхрана се често користи у студијама утицаја

алкохола на коришћење и потребе за одређеним хранљивим материјама. У неким случајевима пречишћена исхрана може имати форму стабилне емулзије када се меша са водом. Неонаталне животиње се такође хране течном исхраном која је првенствено базирана на млечним производима. Као и код гел исхране, мора се водити рачуна о правилном складиштењу како би се избегло развијање микроорганизама.

## **11.4 Производња хране за лабораторијске животиње**

Ефикасна производња хране базиране на природним састојцима захтева капиталне инвестиције у објекте, опрему, и залихе састојака који су најјефтинији када су купљени у расутом стању. Из овог разлога се ова храна за лабораторијске животиње углавном комерцијално производи.

Храну за лабораторијске животиње не треба складиштити у просторима који имају другу намену или где може доћи у контакт са било којим производом који садржи штетне материје, као што су родентициди, инсектициди, хормони, антибиотици, фактори раста и сл. Објекте у којима се складишти и обрађује храна треба одржавати чистим и спречити улазак дивљих глодара, птица и инсеката. Рутинска контрола штеточина је од суштинског значаја.

### **11.4.1 Производња исхране на бази природних састојака**

Почетни корак у производњи хране базиране на природним састојцима је да се самелеу сви састојци до сличне величине честица тако да се могу равномерно измешати и претворити у хомогену смешу. Величина честица зависи од величине отвора на ситиу које се користи у млину. Оптимална величина честица основних састојака зависи од врсте састојака и планираног физичког облика финалног производа. Млевење може побољшати сварљивост састојака, повећањем површине која је изложена дигестивним ензимима. Међутим, млевење такође може да повећа стопу деградације хранљивих материја кроз повећање изложености атмосферском кисеонику и отпуштањем ензима одговорних за аутокаталитичке процесе. Састојци који се користе у великим количинама се директно додају, док се они који се користе у малим количинама, као што су витамини и минерали, додају преко премикса. Премиксе витамина и минерала треба користити одвојено, да би се смањило уништавање витамина услед оксидације катализоване минералима. Премиксе треба припремити са носачем, тако да се додаје довољна количина (нпр. 1% у исхрани) да би се избегле грешке у мерењу и да би се обезбедила хомогена расподела ових састојака. Грешке као што су изостављање састојка или додавање нетачних количина могу се свести на минимум означавањем на контролном листу сваког састојак током процеса производње.

Дужина времена потребна да се сви састојци измешају како би се постигла максимална хомогеност одређена је комбинацијом самих састојака и зависи од бројних фактора, укључујући величину честица, густину честица, брзину миксера и величину миксера. Постоји опасност да, при сувише дугом мешању, дође до сепарације честица у вези са њиховим разликама у густини, физичкој форми и наелектрисању које се јавља у току процеса мешања.

Основна, мешана храна се често пелетира. Састав, количина влаге и топлоте, величина калупа, услови рада и други фактори утичу на величину, тврдоћу и концентрацију хранљивих материја пелета. Током пелетирања може се очекивати извесни губитак лабилних витамина, посебно ако се пелетирање ради на високим температурама. Међутим, топлота процеса пелетирања може и да деактивира неке ензиме, смањи бактеријску популацију у храни и, у неким случајевима, побољша сварљивост хране. Многе врсте радије конзумирају пелетирану храну и, самим тим, повећава се добровољни унос хране. Пелетирање, такође, омогућава смањење расипања.

#### **11.4.2 Производња пречишћене и хемијски дефинисане хране**

Пречишћена или хемијски дефинисана храна се може ефикасно припремити у лабораторији са минималном количином посебне опреме. Сва храна за лабораторијске животиње треба да буде припремљена у објектима који се користе само за ту сврху и под строгим правилима, како би се спречила контаминација или грешке у врсти и количини састојака који се користе. Пречишћена храна може бити пресована у таблете, пелетирана или у облику праха, пасте или гела. Велика пажња се мора посветити обезбеђивању хомогености смеше када се у њу додају испитиване материје.

#### **11.5 Складиштење хране за лабораторијске животиње**

Стабилност састојака хране генерално се повећава како се температура и влажност смањују. Храна која се чува на високим температурама и влажности врло брзо (после пар недеља) може пропасти. Рок трајања било које хране много зависи од услова простора за складиштење. Храна базирана на природним састојцима се чува у климатизованим објектима и треба је искористити у року од 180 дана од дана производње. Храна која садржи витамин Це треба да се користи у року од 90 дана од дана производње. Витамини Це и А су посебно лабилни. Храна која се држи дуже или се налазила под недефинисаним условима околине треба да буде тестирана пре употребе.

Храна у чијој формулацији се не налазе антиоксиданси или са великом количином високо кварљивих састојака (као што су масти) може захтевати посебну обраду или процедуру складиштења.



Стерилна храна је од суштинског значаја за лабораторијске животиње слободне од микроорганизама и слободне од специфичаних патогена, а може се користити и за конвенционално гајене животиње. Аутоклавирање на температурама већим од 100 °С може бити ефикасно у стерилизацији хране, под условом да пара продире у комплетан садржај и у довољном временском трајању. Ипак, прекомерно излагање хране овом процесу треба избегавати јер то повећава губитке витамина и утиче на квалитет протеина. Неки аутоклави омогућавају брзо загревање на високим температурама у вакууму, са последичним смањењем времена експозиције и губитака у хранљивим састојцима. Храна се може стерилисати јонизујућим зрачењем са мање оштећења хранљивих материја него што је случај са топлотном стерилизацијом, под условом да се храна пакује под вакуумом или у азоту и уз минимално присуство влаге. Уобичајно је да се удео термолабилних витамина повећа два до четири пута у храни која ће бити стерилисана топлотом, како би се надокнадили губици током стерилизације.

Исхрана богата липидима захтева одређене мере предострожности приликом формулације и складиштења. Незасићене масти у исхрани подложне су оксидацији, што смањује количину расположивих есенцијалних масних киселина. Стога је додавање антиоксиданаса у овакву храну врло важно. Као додатна предострожност, у циљу смањења разградње, храну треба чувати на температури од 4 °С у контејнеру који је испуњен аргоном или азотом пре затварања. Када се у храни налазе високо незасићена уља (нпр. рибља уља), храну треба мењати на сваких 24 до 48 сати. Поред тога, потребно је у храну додати додатни  $\alpha$ -токоферол (нпр. пет до десет пута већу дозу у односу на храну сиромашну мастима) ради спречавања *in vivo* пероксидације.

## 11.6 Обезбеђивање квалитета и потенцијални загађивачи

С обзиром на значај квалитета исхране за добијање поузданих експерименталних резултата, рутински треба спроводити контролу састава хране за лабораторијске животиње. Иако су случајни пропусти у виду додавања или искључивања појединих састојака ретки, када се догоде могу имати катастрофалне последице. Разлике између очекиваних и стварних концентрација хранљивих материја у храни за лабораторијске животиње могу се јавити као последица грешака у формулацији, губитака лабилних хранљивих материја током производње и складиштења, као и варијације садржаја хранљивих састојака од просечних вредности које су представљене у табелама.

Тестирање је посебно важно када се користе комерцијалне формуле јер концентрације хранљивих материја могу одступати од оних декларисаних од стране произвођача. На пример, зато што комерцијални кукурузни скроб може садржати значајне количине линолеинске киселине, исхрана дизајнирана да изазове недостатак есенцијалних масних киселина је ефикаснија када се уместо скроба користи сахароза. Варијација од серије до серије, у саставу хранљивих материја, може бити значајна чак и у исхрани базираној на фиксној формули од природних састојака. Међутим, неке од ових варијација су можда резултат узорковања или

аналитичке грешке. Варијације у пречишћеној храни, иако у мањем степену, могу бити важне и утицати на резултате огледа.

Узорке за тестирање треба узети из више кеса или контејнера хране за лабораторијске животиње. Мора се посветити пажња у циљу добијања репрезентативног узорка, нарочито ако је дошло до раслојавања или одвајање од честица хране. Анализа хранљивих материја треба да буде спроведена од стране акредитоване лабораторије и треба да обухвати најмање основне састојке (влажу, сирове протеине, етарски екстракт, пепео, влакана) и све храњиве материје од посебног интереса. Неке витамине и друге хранљиве материје је тешко одредити због ниских концентрација, интерференције других једињења или оба разлога.

Присуство хемијских и биолошких загађивача у храни представља главни проблем за токсиколошка и имунолошка истраживања, али може утицати и на друге врсте експеримената. Као нежељене материје и организми у храни за лабораторијске животиње наводе се:

- пестициди,
- штеточине (нарочито инсекти и гриње),
- бактерије, бактеријски токсини и микотоксини,
- природни и биљни токсини,
- продукти разградње хранљивих материја,
- нитрати, нитрити, и нитрозамини,
- тешки метали.

Поред тога, грешке у формулацији или производњи могу резултирати опасним количинама појединих хранљивих састојака, као што су витамини А и Де и бакар, који могу бити токсични у концентрацијама које нису значајно веће од потребних.

Што је већа могућност присуства загађивача и других нежељених материја у храни базираној на природним састојцима, она је неподобнија за одређене врсте истраживања. Међутим, исхрана базирана на фиксној формулацији може изоставити састојке који имају тенденцију да буду посебно променљиви (као што су неки производи од рибе и меса). Ригорозна контрола сировина на конкретне загађиваче може елиминисати већину потенцијалних проблема. Препоручене максималне прихватљиве концентрације хемијских загађивача дефинишу се одговарајућим прописима. Тестирање на поједине загађиваче треба да буде рутинско у токсиколошким истраживањима, а може бити значајно и у другим студијама.

Добра производна техника, одговарајући услови складиштења, хранилице које спречавају фекално и уринарно загађење хране смањиће, али не и елиминисати бактерије и друге биолошке агенсе у храни. Храна је потенцијални извор патогена за лабораторијске животиње. Као што је раније поменуто, поступак за стерилизацију се користи за исхрану лабораторијских животиња без

микроорганизама и без специфичних патогена. Остаци микроорганизама могу бити неприхватљиви у исхрани са ниским нивоима антигена за имунолошке студије па је у овом случају неопходна употреба хемијски дефинисане хране.

## 11.7 Рестриктивна исхрана

Традиционално, максимални раст, производни резултати и потенцијал за размножавање су коришћени као критеријум за вредновање квалитета хране за домаће животиње. Међутим, докази из бројних студија указују да ограничени унос калорија код лабораторијских животиња може имати позитивне ефекте на животни век, учесталост и тежину дегенеративних болести, као и почетак и појаву неоплазија. На основу ових резултата, омогућавање животињама да једу по вољи, уз максимални раст и размножавање, не може бити у складу са циљевима дугорочних токсиколошких истраживања и студија старења. У овим случајевима, важно је да се постигне ограничење уноса енергије код огледних животиња, али без стварања дефицита појединих хранљивих материја.

При оваквој исхрани је потребно повећати концентрацију хранљивих материја у исхрани да би се осигурало да се при ограниченом уносу хране оне ипак уносе у довољној количини. Нажалост, релативно мало информација је доступно о степену у којем енергетски дефицитарна исхрана утиче на потребу за појединим хранљивим материјама.

## 11.8 Исхрана и појење појединих врста лабораторијских животиња

### 11.8.1 Исхрана и појење лабораторијских мишева

Дивљи миш је сваштојед, али је његова исхрана углавном базирана на житарицама и семењу. Већина података о исхрани мишева заснива се на подацима добијеним на основу проучавања пацова и претпоставци да се њихове потребе не разликују значајно. Храна за лабораторијске мишеве се углавном налази у пелетираном облику и у облику ротула. Мишеви се хране *ad libitum*. Приближно је сваком мишу потребно 3 до 4 g хране дневно. Основу исхране мишева чине житарице а већина протеина потиче од рибе, меса, осушеног млека и сојиног брашна. Од масти се користи лој и биљне масти као, на пример, кукурузно уље. У исхрани мишева се често користе и квасци. Витамини и минерали се обично додају у мешавину хране у виду премикса.

Комплетној храни за мишеве обично није потребно додавање других састојака, али се у случају проблема морају додавати дефицитарне материје. То се обично чини прскањем или запрашивањем ротула са раствором дефицитарне материје. Дефицитарна материја се може додавати и кроз воду за пиће, али се у том

случају мора водити рачуна о њеној стабилности. Могуће је додавање антибиотика или других лекова кроз храну, али се тако третиране животиње обично не користе у експериментима.

У хранилицама за мишеве мора увек бити ротула и мишеви их или грицкају или извлаче, а у том случају долази до губитка полупоједене хране која заостаје у кавезу. Ротуле треба да буду стандардна комплетна храна, али су ту могућа одступања која могу угрозити извођење експеримента.

Вода за напајање мишева мора увек бити доступна у виду бочице са цевчицом или помоћу аутоматизоване појилице (Слика 24.). Укупне потребе за водом код мишева су приближно једнаке као и потребе за храном. Потребно је спречити развој бактерија у бочицама за напајање па се из тог разлога у воду може додати HCl у количини 3 милилитра на 3 литра пијаће воде како би се постигао рН од 2 до 2,5. Поред спречавања развоја бактерија, HCl спречава и настанак каменца, а нема штетно деловање чак ни при дугорочној примени.



Слика 24. Бочица са цевчицом за напајање и њено постављање

### 11.8.2 Исхрана и појење лабораторијских пацова

Иако су нутритивни захтеви за лабораторијске пацове више испитани него код других лабораторијских животиња, у зависности од критеријума који се користи за процену, и овде се могу јавити значајне разлике. На пример, количина хранљивих материја потребних за одржавање максималног раста младих пацова може бити различита од потреба за одржавање функционалних параметара, као што су активности појединих ензима. Осим тога, потребе за хранљивим материјама

нису статичне. Оне се мењају у складу са развојем, репродуктивном активношћу и старошћу. Такође, постоје докази о разликама у захтевима између мушких и женских јединки, као и између различитих сојева. Постоји потреба за даљим истраживањима која ће идентификовати изворе варијација у овим нутритивним захтевима.

Количина хране потребна за лабораторијског пацова зависи од њеног квалитета. Одрасли пацов дневно уноси око 14 g квалитетне хране. Уколико је храна лошијег квалитета, дневни унос се сразмерно повећава. Концентрована храна за пацове садржи овас, просо, кукуруз, пшеницу, јечам, семена биљака (сунцокрет, лан), уљану сачму, брашно дехидроване луцерке, хранива животињског порекла и витамине и минерале. За лабораторијске пацове се обично користи брикетирана храна која садржи 20% протеина, до 13% влаге, пепела до 10% и силових влакана до 8%.

Напајање лабораторијских пацова врши се на исти начин као и код лабораторијских мишева, с том разликом што је, сразмерно величини, потребна већа количина воде.

### **11.8.3 Исхрана и појење хрчака**

Као и мишеви и пацови, хрчак је сваштојед. За исхрану хрчка могу се користити пелете које су посебно формулисане за њих, али се може користити и храна намењена мишевима и пацовима.

Напајање се врши на исти начин као код лабораторијских мишева и пацова, с тим да се за хрчка не сме користити стаклени врх појилице пошто га они могу прегрести па је могуће да на тај начин дође до озледе.

### **11.8.4 Исхрана и појење замораца**

Заморци су биљоједи који се хране током целог дана. Врло важна физиолошка карактеристика је да заморци не могу да синтетишу витамин Це па им се он мора додати.

Вода за заморце се мора редовно мењати, а појилице чистити. Давање витамина Це преко пијаће воде је погодан начин и он се додаје у концентрацији од 220 mg/l. Врло је важно да хлорни препарати инактивишу витамин Це па вода која се користи не сме бити хлорисана. Потребне замораца за водом износе 10 ml / 100 g телесне масе.

### 11.8.5 Исхрана и појење гербила

Гербили су сваштоједи и обично се, у лабораторијским условима, хране пелетираном храном која је намењена за мишеве и пацове. Садржај протеина у храни треба да износи од 16 до 22%, док садржај масти не треба да буде велики. Гербили брзо угину ако им није доступна храна из хранилица па је неопходна и допунска исхрана преко пода.

Гербилима вода треба бити стално доступна, а уносе је у количини од 4 до 7 ml на дан. За разлику од недостатка хране, недостатак воде подносе релативно добро.

### 11.8.6 Исхрана и појење зечева и кунића

Зечеви се у лабораторијским условима хране пелетираном храном. Поред ове хране, у исхрани морају бити заступљена и зелена маса, зрнаста храна, као и коренасто биље. Прелаз са једног на други начин исхране мора бити постепен, у току 4–5 дана. Зечеви имају склоност ка гојењу. Због тога се младе јединке могу хранити *ad libitum*, али се за старије категорије храна мора рационализовати.

Напајање зечева је увек *ad libitum*, а дневна потреба одраслих јединки за водом је 6 мл/100 g телесне масе.

### 11.8.7 Исхрана и појење других огледних животиња

Исхрана паса који се користе у огледима треба да буде према дијететским нормативима за псе, а напајање водом је *ad libitum*.

Мачке које се користе у огледима хране се сувом, пелетираном или конзервираном храном за мачке. Оне имају изражену потребу за протеинима анималног порекла, витамином Бе 5, арахидонском киселином и таурином. Младе мачке, старе од два до шест месеци, добијају три оброка дневно, док након шест месеци добијају два оброка дневно. Вода која се користи за напајање мачака сме да буде хлорисана, али не сме да буде киселе електрохемијске реакције.

Исхрана фармских животиња које се користе у огледима мора бити према утврђеним нормативима за узраст и друге специфичности. За животиње које су у природи чисти биљоједи се мора обезбедити свежа кабаста храна (зелена маса) и сува кабаста храна (сено) уз додатак концентроване хране и одговарајуће количине минерала и витамина. Напајање се обично врши *ad libitum* из аутоматских појилица.

Исхрана мајмуна се значајно разликује у зависности од рода којем припадају, зато што су поједини родови чисти биљоједи, сваштоједи или инсективори. За исхрану се могу користити готова комерцијално припремљена храна или се она може намешавати, уз стриктно поштовање нутритивних потреба сваког рода мајмуна.

При исхрани птица које се користе у огледима мора се водити рачуна да ли су оне сваштоједи или биљоједи. Кокош је сваштојед која у својој исхрани користи семенке, биљне плодове, кртоле и зелени део биљке, али и животињску храну као што су глисте, црви и ларве инсеката, као и животињске отпатке. Кокош се у лабораторијским условима храни индустријски произведеном храном за живину одређеног узраста, а напајање се врши помоћу аутоматизованих појилаца за живину. Голубови су биљоједи, гранивори, који се хране зрневљем житарица и семењем других биљака. У лабораторијским условима се за голубове користи индустријски припремљена храна. Исхрана младунаца је специфична. Њих у гнезду родитељи хране тако што из вољке поврате белу масу, тзв. голубије млеко, које је богато протеинима и мастима. Голубови пију често и доста воде па је потребно да им је она увек доступна. Препелица је у природи сваштојед. Од биљне хране користи зрневље житарица, лишће и пупољке биљака, док од хране животињског порекла узима све врсте буба. У лабораторијским условима се храни храном која је богата енергијом и протеинима, а вода мора бити стално на располагању.

## 12.0 Патологија, превентива и санација патологије лабораторијских животиња

Болест (лат. *morbus*) се може дефинисати на више различитих начина. Према једној дефиницији, то је свако одступање од стања здравља и има своје карактеристичне симптоме и захвата цео организам или је ограничен на поједине органе или органске системе. Такође, постоји и дефиниција да је болест поремећај нормалних, физиолошких збивања у организму под утицајем различитих штетних чинилаца или да је болест поремећај грађе и функције ћелија разних ткива, органа и органских система. Најједноставније и можда најприхватљивије је гледиште по којем је болест термин који означава сва збивања у организму која одступају од природног тока живота.

Познавање патологије лабораторијских животиња има вишеструки значај. Прво, основна сврха лабораторијских животиња је, свакако, добијање релевантних података при истраживачком раду. Научна вредност добијених резултата је увек у значајној мери умањена или у потпуности изгубљена уколико је здравствено стање лабораторијских животиња нарушено. Друго, очување оптималног здравственог стања је основни предуслов обезбеђивања добробити лабораторијских животиња. Треће, поједина обољења представљају ризик, како за особље које је у непосредном контакту са овим животињама тако и за ширу популацију људи, али и домаћих и дивљих животиња.

Узроци обољења лабораторијских животиња могу бити различите природе. Ова обољења могу бити урођена (генетска) и/или стечена под дејством различитих етиолошких фактора (инфекције, хемијски и физички фактори, исхрана, гајење и држање и др.). Неадекватна примена експерименталне технике рада, такође, може изазвати читав спектар обољења. Онова свих ових узрока је резултат органске дисфункције која се развија када је исцрпљен адаптивни капацитет организма. То практично значи да је организам изгубио адаптивни капацитет када су неповољни утицаји надвладали капацитете регулаторних механизма. Клиничко обољење, сходно овом размишљању, настаје као резултат интеракције интерних и екстерних фактора.

Болести и патолошке промене код лабораторијских животиња могу се сврстати у следеће групе:

- индукована обољења,
- неиндукована (спонтана) обољења и
- интеркурентна обољења.

**Индукована обољења** су генетски изазвана обољења код инбредних раса (генетски модели). Генетски фактори су од пресудног значаја за развијање појединих обољења, односно за постојање предиспозиције за њих. Пример за ову врсту обољења су генетске линије мишева које су предиспониране за развијање одређених тумора, бубрежних обољења, срчаних обољења и др.



Експериментално изазвана обољења су намерно индукована у циљу испитивања самог обољења, као и дијагностичких, терапијских и других средстава везаних за одређено обољење.

**Неиндукована (спонтана) обољења** се развијају ненамерно, под деловањем фактора који нису контролисани. У појединим случајевима узрок ових обољења остаје непознат.

**Интеркурентна обољења** се развијају за време трајања самог огледа на лабораторијским животињама. Приликом појаве ових обољења мора се водити рачуна о појави морталитета и морбидитета, као и њиховом утицају на валидност самог огледа.

Сама примена експерименталне технике може бити узрок настанка патолошких промена. Неадекватна примена од стране недовољно обученог особља или поједини технички недостаци могу условити развој промена које могу угрозити и сам исход огледа. Ово се може десити у свим фазама рада са лабораторијском животињом, од транспорта, држања и фиксације до апликације испитиваних материја и узимања узорака.

Моделно приказивање функције настанка обољења дао је Крафт (Kraft, 1967) путем следеће релације:

$$D = H + P$$

где је:

D = обољење

H = организам животиње

P = патогени узрочник

Шнајдер (Schneider, 1970) је дао и релацију прогностичког модела:

$$ID = N \times T$$

где је:

ID = инфективна доза потребна да изазове инфективно обољење

N = број патогених микроорганизама

T = време излагања организма деловању узрочника

Болести које настају под дејством различитих етиолошких фактора се могу поделити у следеће групе:

- болести неинфективне природе,
- инфективне болести (чији су узрочници бактерије, гљивице и вируси) и
- паразитске болести (чији су узрочници екто и ендопаразити).

## **12.1 Болести неинфективне природе**

### **Болести везане за узраст**

Бројни фактори утичу на дужину живота лабораторијских животиња. Поред генетских фактора и услова држања (исхрана, смештај, хигијена итд.), на дужину живота утичу и болести које настају услед старења.

Лабораторијски мишеви су посебно осетљиви на хроничне, прогресивне болести које су повезане са променама које настају услед старења. Посебно су осетљиви инбред сојеви у односу на аутбред сојеве. Једна од промена која се често јавља код старијих јединки је амилоидоза, која се најчешће јавља на бубрезима, јетри и цревима. Честе су и дегенеративне промене на срчаном мишићу, гломерулонефропатије, полиартритис, аденом хипофизе и плућа, тумори јетре, панкреаса, тестиса и леукемија. Учесталост појаве ових обољења се значајно повећава након навршених годину дана живота, па би ово требало узети у обзир приликом планирања огледа.

### **Повреде везане за међусобну борбу**

Ово је релативно честа патологија која се јавља код лабораторијских мишева и пацова. Повреде могу бити такве да често доводе и до угинућа великог броја јединки. Животиње се боре обично у току ноћи, а места која су најчешће повређена су глава, леђа и перинеум. Додатна компликација оваквих повреда је врло честа појава инфекција, а може настати и амилоидоза.

Борба се може спречити одвајањем мужјака или држањем животиња у заједничким групама још у периоду док доје.

### **Жвакање длаке**

Ово може представљати проблем у колонијама мишева и пацова у којима се јављају тзв. животиње жвакачи, које нападају друге јединке и чупају им длаку. Када се јави овај проблем у запату, он се препознаје по појави алопеције, најчешће на њушци, глави и средњем делу леђа, док се животиње “жвакачи” препознају по томе што имају неоштећен длачни покривач. На погођеним деловима коже настаје пигментација, али се дерматитис не развија. Након што се животиње “жвакачи” уклоне из кавеза, код нападнутих животиња се длака обнавља у року од два до три месеца.

### **Нутритивне болести**

За исхрану лабораторијских животиња најчешће се користе готови избалансирани оброци у виду пелета, па се ова обољења релативно ретко јављају.

Међутим, ако се животиње дуго времена хране *ad libitum*, може доћи до гојазности, што може резултирати развојем различитих обољења и скраћивањем животног века.

Исхрана свежим намирницама, које нису добро опране може резултирати појавом инфективних болести које најчешће узрокују бактерије из родова *Salmonella*, *Yersinia* и *Bacillus*.

Посебан вид поремећаја који може бити изазван неадекватном исхраном су тзв. метаболопатије. Под овим се подразумева развој обољења као последица измењеног метаболизма под дејством недостатака витамина (хипо- или авитаминозе) и/или микроелемената (инсуфицијенција олигоелемената).

Болести метаболизма се обично јављају у случају када готова фабрички припремљена храна за животиње није избалансирана на прописане нормативе минерала и витамина. Да би се потврдио узрок метаболопатија, потребно је да се коришћена храна у оригиналном паковању пошаље на анализу на садржај витамина и минерала, као и на присуство евентуално токсичних материја.

#### Хиповитаминозе и авитаминозе

Витамины се деле у две групе: липосолубилни и хидросолубилни, а за одржавање оптималног здравственог стања је значајна не само њихова заступљеност, већ и њихов квалитативан и квантитативан међуоднос.

На хиповитаминозу и авитаминозу витамина А нарочито су осетљиви зец и заморац. Код мишева и пацова могу се јавити тремор, епилептични напади, некоординисано кретање, хеми- и параплегија. Поред овога, могу се јавити промене на длаци и кожи (дерматозе), успорен раст, крварења из ректума и вагине. Код мушких јединки може настати и трајни стерилитет.

Поремећаје може изазвати и прекомерно додавање витамина А (хипервитаминоза) која код лабораторијских глодара може довести до деминерализације костију и настанка фрактура као и до појаве аномалија код фетуса.

Код хиповитаминозе или авитаминозе витамина Де долази до појаве рахитиса. Кости постају меке и слабе па се лако ломе. На ребрима се јављају карактеристичне “бројанице”. Долази до кржљавости, алотриофагије, дигестивних и нервних поремећаја.

До хипервитаминозе витамина Де долази ретко пошто су за то потребне дозе од десет до сто пута веће од препоручених. Тада долази до повећане ресорпције калцијума у цревима и деминерализације костију. Ово за последицу има хиперкалцемију и калциурију. Поједина мека ткива (зглобови, срчани мишић, бубрези, плућа, артерије) подлежу процесу калцификације.

Хиповитаминоза и авитаминоза витамина Е доводи до патолошких промена на срцу које могу довести до његове инсуфицијенције. Поред овога, могу се јавити промене и на скелетним мишићима у виду мишићне дистрофије и хијалине

дегенерације. Дегенеративне промене се јављају и у јетри. Јављају се репродуктивни поремећаји (стерилитет код оба пола, абортуси).

Витамин Ка је значајан за синтезу протромбина у јетри па његов недостатак доводи до поремећаја коагулације крви. Бактеријска флора дигестивног тракта синтетише овај витамин па се његова хиповитаминоза или авитаминоза ретко јавља код копрофагних животиња. Поједини родентициди делују као антивитамини витамина Ка па се у случају тровања развијају симптоми дефицита овог витамина.

Витамин Бе 1 (тиамин) је значајан регулатор метаболизма угљених хидрата, протеина и масти и учествује у процесима ослобађања енергије. Симптоми његовог дефицита јављају се у виду јаких конвулзија које су нарочито изражене када се мишеви и пацови држе неколико секунди за реп, јавља се кретање укруг, крварење у можданом ткиву, дегенерација жлезданог ткива тестиса и рани морталитет.

Витамин Бе 2 (рибофлавин) учествује у метаболизму протеина, угљених хидрата и масти и значајан је фактор у процесу оксидације. Услед његовог дефицита јавља се атрофични и хипертрофични епидермит, мијелинска дегенерација кичмене мождине, васкуларизација корнее са појавом улцерација. Могу се јавити и промене на јетри, као и смањена отпорност на инфекцију салмонелама.

Витамин Бе 6 (пиридоксин, пиридоксамин) има вишеструку улогу у процесима дезаминације, конверзије есенцијалних масних киселина и њиховог транспорта, везивања гвожђа у молекул хемоглобина, производњи антитела, као и у реакцијама оксидоредукције. Његов дефицит доводи до повећане раздражљивости, парализе задњег дела тела, некрозе репа, успореног раста и алопеције.

Витамин Бе 12 (кобаламин) је значајан као коензим у метаболизму многих материја, као што су холин, фолна киселина, нуклеинске киселине, пурини и пиримидини. Симптоми дефицита витамина Бе 12 огледају се у успореном расту, атрофији бубрега, а код новорођених младунаца може доћи до раног морталитета.

Витамин Ха (биотин) је значајан коензим за више ензимских система. Недостатак биотина изазива успорен раст, поремећаје репродукције и лактације, појаву алопеције и ахроматрихије.

Фолна киселина је саставни део бројних ензима и тако учествује у синтези протеина, нарочито нуклеопротеида. Недостатак фолне киселине доводи до еритроцитопеније, леукоцитопеније, као и до промена у ћелијама коштане сржи и слезине.

Пантотенска киселина учествује у метаболизму угљених хидрата, протеина и масти, као и у промету енергије. Главне последице недостатка пантотенске киселине огледају се у губитку телесне масе, опадању длаке (нарочито на слабинама и ногама), развоју хемиплегије задњих екстремитета, појави ахроматрихије.

Хиповитаминоза витамина Це (аскорбинске киселине) врло често се може јавити код замораца пошто њихов организам не може да синтетише овај витамин. Услед дефицита витамина Це настаје обољење скорбут, које се манифестује

углавном неспецифичним клиничким знацима. Обично након две до три недеље настаје слабљење, храмање, укоченост задњих ногу са отоцима зглобова (нарочито коленог зглоба), повећана склоност инфекцијама, а могу се развити и симптоми дигестивног тракта у виду пролива. Овакве животиње нису погодне за огледне сврхе. Животиње на крају угину услед исцрпљености организма. Патолошко основа овог обољења заснива се на поремећеном метаболизму колагена. Патоморфолошки налаз се карактерише масовним крварењем у поткожном ткиву, у унутрашњим органима, гингивама и зглобовима (тзв. коленасти зглобови), а у озбиљнијим случајевима могу настати и преломи костију. Често се развија и ентеритис. Промене могу бити условљене и секундарним инфекцијама.

Најбоља превенција обољења је адекватна исхрана замораца са довољном количином витамина Це. Поред овога, заморце је потребно држати у кавезима са чврстим пластичним дном и са довољном количином адекватне простирке. Неопходно је вршити и сталну контролу влажности ваздуха у просторијама у којима се држе заморци. Да би се превенирао скорбут у лабораторијским условима, заморцима треба давати витамин Це у води за пиће у дози од 5 до 10 мг на 100 g телесне масе. Врло је битно да се раствор витамина Це свакодневно прави свеж, зато што се стајањем он губи.

#### Недостатак микроелемената

Биолошки значајни хемијски елементи се деле на макроелементе и микроелементе, односно олигоелементе. Присуство микроелемената је неопходно у исхрани лабораторијских животиња ради одржавања њиховог оптималног здравственог стања и узгојних перформанси. У олигоелементе спадају: гвожђе, бакар, јод, манган, кобалт, цинк, флуор, алуминијум, бор, молибден, селен, кадмијум и хром. Њихова количина у организму, појединачно, износи мање од 100 mg/kg телесне масе. Код лабораторијских животиња је описана симптоматологија која настаје услед недостатка појединих од ових микроелемената.

Гвожђе је токсичан метал, али се његова токсичност спречава везивањем гвожђа са протеинима. Гвожђе има есенцијалну улогу у организму кроз биолошку активност многих протеина у чији састав улази. Сви протеини који садрже гвожђе могу се поделити на протеине који садрже хем и хем-везујуће гвожђе и на протеине који не садрже хем, а везују гвожђе. У овим протеинима гвожђе има централну улогу у транспорту кисеоника и енергетском метаболизму. Дефицит гвожђа доводи до алиментарне анемије са бледим изгледом видљивих слузокожа, слабог прираста, кржљавости, накострешености длаке, смањеног броја младих у леглу.

Бакар има улогу катализатора у процесу везивања гвожђа за хемоглобин и значајну улогу у стварању еритроцита. Поред тога, бакар улази у састав ензима који су неопходни за ћелијско дисање, помаже да организам боље искористи аминокиселину тирозин која делује на пигментацију коже и длаке. Смањена количина бакра доводи до развоја анемије, успореног раста, деформације костију, депигментације длаке, поремећаја репродуктивне функције.

Манган је неопходан за испољавање активности бројних ензима. Недостатак мангана доводи до конгениталне атаксије новорођенчади, услед абнормалног

развоја коштаних делова средњег уха. Код птица се јављају карактеристичне промене на екстремитетима – прозис.

Цинк учествује у бројним ензимским реакцијама и важан је за метаболизам угљених хидрата и протеина. Дефицит цинка изазива опадање длаке у пределу рамена и врата, промене на кожи у виду дерматитиса, мршавости, смањивање активности каталазе у јетри и бубрезима.

Јод у организму има улогу у биосинтези хормона штитне жлезде. Недостатак јода доводи до хипертрофије штитне жлезде која се увећава два до три пута у односу на нормалну. Код новорођених јединки јавља се оток штитасте жлезде (микседем) и ова младунчад су слабо витална и брзо угину.

Селен се дуго сматрао за једну од најотровнијих материја, а биолошка активност му је објашњена када је установљено да је он главни састојак ензима глутатион пероксидазе. Недовољно селена може изазвати некрозе у јетри, едем плућа, мишићну дистрофију, хипертрофију срчане мускулатуре као и изненадна угинућа.

## Неоплазије

Спонтани развој неоплазија је релативно чест код лабораторијских пацова, мишева и кунића, нарочито код старијих јединки. Поред генетских предиспозиција, развоју ових промена доприносе исхрана, хормонски дисбаланс, услови околине и микробиолошки фактори.

Код пацова се најчешће јавља фиброаденом млечне жлезде који се одатле може проширити и на остале делове тела. Тумори су обично бенигни и могу се једноставно уклонити хируршким путем. Старије јединке често оболевају од аденома хипофизе, који се брзо развија и притиска околно нервно ткиво. Ово изазива депресију, атаксију и на крају смрт. Од лимфатичне леукемије најчешће оболева сој *Fisher 344*. Оболене животиње су депресивне. Развија се анемија и иктерус, а патоморфолошким налазом се констатује увећање слезине и јетре. Чести су и бенигни тумори коже (кератоакатоми), полипи ендометријума, тумор интерстицијалних ћелија тестиса, аденома тироиде, тумори панкреаса и надбубрежних жлезда.

Поједине генетске линије мишева су познате по предиспозицији за развијање одређених тумора.

Код кунића се најчешће јавља аденокарцином утеруса, на коме се могу напипати чворићи. Ово изазива репродуктивне поремећаје, а тумор брзо расте, док су његове метастазе најчешће присутне на плућима. Болест се завршава смртним исходом. Код кунића се често развијају и лимфосарком, ембрионални нефром и аденома жучне кесе. Ови тумори се првенствено јављају код младих кунића. Сматра се да је узрок њиховог настанка генетска предиспозиција.

## **Прстенаст реп код пацова**

Ово обољење најчешће погађа млађе јединке, а узрок је ниска релативна влажност ваздуха. Код младунаца који су тек окоћени развија се оток репа у виду прстена. Временом може доћи и до отпадања репа, а обољење се може проширити и на екстремитете. Превенција овог обољења заснива се на одржавању релативне влажности ваздуха изнад 50% и држањем младих у кавезима у којима се користи дубља простирка.

## **Поремећаји у расту зуба**

Поремећаји (малформације) у расту зуба најчешће се јављају код пацова и кунића на предњим зубима. Ови поремећаји се јављају због неадекватног трошења зуба и њиховом последичном прекомерном расту. Разлог неадекватног трошења може бити исхрана сувише меком храном или неправилности у самој вилици. Тада долази до прерастања секутића који расту током читавог живота. Код кунића се сматра да је ова болест наследна и може се запазити у узрасту од три до осам недеља.

Ови поремећаји доводе до отежане исхране јер животиња не може нормално да узима храну. Могу се развити и оштећења језика и унутрашње стране образа. Животиње губе апетит, мршаве, а лучење пљувачке је појачано. Код знапредовалих и тешких случајева може доћи и до угинућа.

Превентива подразумева редован преглед животиња. Секутићи се по потреби могу скраћивати помоћу турпије, а сама процедура је безболна. Препоручује се уклањање оваквих кунића из узгоја, због наследног карактера ове болест.

## **Парализа и пареза**

Ови поремећаји се често могу јавити код кунића услед неадекватног и нестручног руковања или услед међусобних борби. Парализа или пареза се развијају као последица фрактура или ишчашења пршљенова, а може се јавити и немогућност задржавања фецеса и урина због губитка контроле сфинктера.

Поред развијања парализе и парезе, оболеле животиње се могу препознати по запрљаном крзну око задњих ногу. У даљем току болести се развијају декубитуси и уремија. Ток болести се разликује од тежине оштећења кичмене мождине. Код мањих оштећења, кунићи се могу опоравити за неколико дана, али могу имати мање или више изражен поремећај функције ногу.

Терапија за ово обољење је потпорна и састоји се у давању антиинфламаторних глукокортикоида (дексаметазон) који спречавају додатна оштећења услед отицања. Уколико су у питању тежа оштећења и парализа се продужи дуже од две недеље, оболеле животиње је потребно еутаназирати.

## **Канибализам**

Канибализам се често јавља код кунића. Обично се јавља тако што млада мајка убије и поједе своје младе. Узроци ове појаве су различити и могу бити страх, недовољно развијен мајчински инстинкт или последица јаким хладноћа. Ове јединке је потребно изоловати и еутаназирати.

## **Трихобезоари**

Трихобезоари или куглице длаке у дигестивном тракту су честа појава код кунића. Ово је последица тога што се кунићи редовно чисте и на тај начин уносе длаку. У нормалним условима длаке се избацују путем измета, али у неким случајевима може доћи и до њиховог претераног накупљања и стварања лопти од длака. Ови трихобезоари могу довести до зачепљења црева па код ових животиња долази до престанка уношења хране, губитка телесне масе и до угинућа након неколико недеља.

Начин исхране, првенствено количина влакана, значајно утиче на стварање трихобезоара. Сено се састоји од теже и лакше сварљивих влакана. Лако сварљива влакна се разграђују и тако обезбеђују енергију, док теже сварљива одређују брзину кретања хране кроз дигестивни тракт. Када је у obroку мањак ових влакана, брзина кретања хране се успорава. Промена брзине проласка утиче и на брзину пражњења желуца и слепог црева. Ако исхрана кунића није богата влакнима, желудац и црева се споро празне. Што дуже потраје ово стање, то ће се више садржај исушивати и сабијати.

Избацивању трихобезоара путем измета помаже исхрана богата влакнима, првенствено сено и лиснато поврће. Може се и потпуно одстранити пелетирана храна из исхране (када су болесни, кунићи најчешће слабо једу пелете). Ако ово има ефекта, столица се може очекивати у року од неколико дана. Ако је кунић иначе здрав, ретко је потребна операција у оваквим случајевима.

Када се утврде проблеми с варењем, може се применити малт паста. Најчешће се ради о пастама које у свом саставу имају биљна уља и влакна. Својим избалансираним саставом оне стимулирају рад цревне флоре и нормалну перисталтику. Поред овога, може се применити и пробиотик. Сок од ананаса садржи ензим бромелаин који се такође може користити у терапији тако што се животињи даје 10 ml сока путем желудачне сонде, једном до два пута на дан током три дана.

Превенција болести обезбеђује се адекватном исхраном и бољим условима смештаја.

## **Влажни дерматитис**

Ово обољење се манифестује појавом влажне длаке у пределу уста, браде и врата. На овим местима се кожа секундарно може инфицирати бактеријама. Разлози за настајање овог обољења су најчешће везани за аномалије на зубима и вилицы или



за дефицит витамина Це и фолне киселине. Настанку доприносе и лоши услови држања.

## **Прегревање**

На дејство повишене амбијенталне температуре посебно су осетљиви кунџи и заморци. Ово је нарочито изражено уколико су у објекту висока влага и лоша вентилација. Животиње у овом случају постају исцрпљене, убрзано дишу, појачано је лучење пљувачке, а видљиве слузнице су бледе. Ово стање може довести и до угинућа појединих јединки, нарочито гравидних или оних које имају већу телесну масу.

Превенција овог стања може се вршити унапређењем услова држања. Генерално, кавези са жичаним подом су боље решење од оних са чврстим дном. Такође, неопходно је да се влажност ваздуха одржава у границама од 50 до 60% и температура од 15 до 21 °С. Потребно је да се обезбеди добра вентилација и напајање свежом водом.

## **Гравидитетна токсемија и кетоза**

Овај метаболички поремећај се јавља код гравидних женки кунџа и замораца.

Код женки кунџа се јавља најчешће код прворотки на крају гравидитета. Узрок овог поремећаја је негативан енергетски биланс услед гладовања, а томе могу допринети и трихобезоари у дигестивном тракту. Дијагноза се поставља на основу клиничких знакова и патолошког налаза. Оболела животиња је анорексична, очне јабучице су испупчене и долази до респираторних поремећаја. У тежим облицима долази и до угинућа. Патолошки налаз указује на масну јетру и бубреге. Терапија се може спроводити апликацијом инфузије глукозе. Међутим, она је делотворна само у раним фазама обољења.

Код гравидних женки замораца ово обољење се може развити у два облика који имају сличне клиничке знаке: анорексија, спазам мишића и у каснијим стадијумима кома. Оболела животиња најчешће угине у року од четири до пет дана. Разликују се метаболичка или брза и циркулаторна гравидитетна токсемија.

Метаболичка гравидитетна токсемија се јавља у последње две недеље гравидитета, а предиспозицију за овај поремећај представљају стрес и гојазност. Ово стање се може превенирати квалитетном исхраном и адекватним условима смештаја. Лабораторијске анализе мокраће указују на повећано присуство протеина и масти, као и ацидурију. Патолошке промене се манифестују масном дегенерацијом јетре, бубрега и надбубрежних жлезда.

Циркулаторна гравидитетна токсемија се назива и прееклампсија и узрокује је механички притисак гравидне материце на аорту. Овакво стање изазива поремећај циркулације у материци, што може довести до крварења и некрозе у постелици. Код овог поремећаја се јављају промене на јетри у виду леукоцитарне

инфилтрације и некрозе, а долази и до развоја нефроза и крварења у надбубрежним жлездама.

### **Уролитијаза**

Уролитијаза или налаз камења у мокраћним путевима најчешће се јавља код кунића, и то код млађих јединки. Значајан фактор у развоју овог обољења је повећавање рН мокраће на 8,5 до 9,5, што доводи до накупљања калцијум карбоната и фосфата. Овоме доприноси неизбалансирана исхрана са поремећеним односом калцијума и фосфора, недовољно уношење воде, инфекције уринарног тракта, генетске предиспозиције, као и поједини метаболички поремећаји. Ово стање се може лечити променом рН урина (закисељавањем) и смањивањем уношења калцијума путем хране. Озбиљнији случајеви се могу хируршки третирати.

### **Тровање узроковано употребом антибиотика**

Основа овог поремећаја лежи у поремећају популације микроорганизама који се налазе у дигестивном тракту, на шта су нарочито осетљиви заморци и хрчци. Ово је нарочито изражено код примене  $\beta$ -лактамских антибиотика, линкомицина, еритромицина и других. Након њихове примене долази до јаког размножавања бактерије *Clostridium difficile* која производи ендотоксин. На овај начин се развијају врло јаки ентероколитиси који могу довести до угинућа. Клинички знаци се развијају за један до пет дана након примене антибиотика и манифестују се врло тешким проливима и угинућем које може уследити за три до седам дана. Патолошке промене се манифестују у виду едема и крварења на слузници цекума и хиперплазијом слузокоже завршног дела танког црева.

Поједини антибиотици, као што су тетрациклини, хлорамфеникол и сулфонамиди, изазивају блаже поремећаје. У оваквим случајевима је потребно помоћи обнову нормалне популације микроорганизама у дигестивном тракту. То се може постићи апликацијом пола до једне кашике јогурта током трајања терапије.

### **Метастатска калцификација**

Обољење се развија услед таложења калцијума у меким ткивима, као што су плућа, јетра, срце, аорта, абдомен, материца, зглобови и скелетна мускулатура. Узрок овог поремећаја је неодговарајући однос калцијума и фосфора у исхрани, као и дефицит магнезијума и калцијума. Болест се најчешће јавља код мушких јединки старијих од једне године и углавном протиче без клиничких манифестација. Међутим, могу се јавити грчеви мишића, укоченост зглобова, али и бубрежна инсуфицијенција када је проценат угинућа велики.

Превенција обољења се заснива на додавању магнезијума у исхрани (0,35%) и витамина Де (до 6 и.ј.). Поред овога, врло је битан правилни однос калцијума и фосфора у исхрани.

## **Мишићна дистрофија**

Недостатак витамина Е и/или селена може довести до мишићне дистрофије, што најчешће погађа заморце и хрчке. Оболене животиње су слабо активне, укочене, покрети су им ограничени, може се развити коњунктивитис као и поремећаји репродукције. Угинуће може наступити недељу дана након појаве првих симптома. Патохистолошки налаз се карактерише коагулационом некрозом и запаљенским процесима у скелетним мишићима, а може се јавити и дегенерација семеника.

Као превенција овог обољења у исхрану треба додавати витамин Е у количини од 3 до 5 mg на 100 g телесне масе на дан.

## **Шећерна болест**

Шећерна болест се врло често јавља код замораца. Током прве фазе болести нема клиничких знакова, али се након три месеца развија хипергликемија и глукозурија, а нешто ређе и кетонурија. Поред овога, развијају се репродуктивни поремећаји. Патохистолошки налаз се карактерише дегенеративним променама у  $\beta$ -ћелијама Лангерхансових острваца у ендокрином делу панкреаса и масном инфилтрацијом егзокриног дела панкреаса.

Код чистокрвних сојева кинеског хрчка шећерна болест се јавља као наследно обољење. Оболене јединке имају снижен ниво инсулина. Оне губе телесну масу, јавља се полидипсија и полиурија услед осмотског дејства изазваног хипергликемијом. Може се развити и кетонурија.

## **Делимична склероза бубрега**

Делимична склероза бубрега се јавља код замораца и то старијих од годину дана. Настанку ове болести доприноси више фактора: пад имунитета што погодује развоју инфекција, поремећаји крвотока, као и храна богата протеинима. Оболене животиње губе телесну масу, настају отоци и симптоми поремећаја рада бубрега, као што су полиурија, полидипсија и протеинурија. Може се јавити повећање крвног притиска и повећање притиска у крвотоку бубрега. Патоморфолошки налаз карактерише појава већег броја удубљења на површини бубрега.

## **Нефроза**

Нефроза је обољење које се развија услед повећања притиска у крвотоку бубрега. Ово обољење се јавља код хрчака, нарочито код старијих и код женских јединки. Оболене јединке губе телесну масу, долази до симптома поремећаја рада бубрега, као што су полиурија и полидипсија. Код тежих облика може доћи и до угинућа. Патолошким прегледом се може констатовати да су бубрези неправилног облика и са удубљењима на површини. Патохистолошким прегледом се налазе дегенеративне и атрофичне промене на бубрежним каналићима.

## **Полицистично обољење јетре**

Ово обољење се јавља код хрчака старијих од годину дана. Промене су у виду цисти на јетри које су величине око 2 cm које се, најчешће, налазе испод капсуле јетре, а могу се наћи и дубље у јетрином паренхиму. Поред јетре, цисте се могу јавити и на другим органима, као што су панкреас, епидидимис, материца, јајници, надбубрежне жлезде. Цисте имају танак зид и испуњене су жућкастом течношћу. Услед механичког притиска који цисте врше, околно ткиво јетре постаје атрофично.

## **Амилоидоза**

Ово обољење се јавља у великом проценту код хрчака који су старији од 1,5 године или код јединки код којих постоје дуготрајна инфективна обољења. Амилоидоза се чешће јавља код женки него код мужјака. Сматра се да је узрок ове болести генетске природе. У почетној фази нема клиничких симптома, док се касније јављају симптоми поремећаја рада бубрега. Оболене јединке су депресивне, показују анорексију, а длака им је грубља. Патолошки налаз се карактерише увећаном и бледом јетром, бубрезима и надбубрежним жлездама. Поред ових органа, сличне промене се могу наћи и на плућима, слезини, дигестивном тракту, јајницима, тестисима, епидидимису. Сматра се да не постоји специфична терапија, мада је могуће користити парентералну апликацију андрогених хормона код оболелих женских јединки.

## **Срчана обољења**

Срчана обољења су честа код старијих хрчака. Чешће се јављају код женки него код мужјака. Најчешћи поремећај је везан за тромбозу коронарних крвних судова, и то пре свега у левој срчаној комори. Ово обољење се клинички манифестује убрзаним радом срца, отежаним дисањем и појавом цијанозе. Сматра се да га изазивају промене у крви или стаза.

## **Спонтане хеморагичне некрозе централног нервног система фетуса хрчка**

Обољење погађа фетусе хрчка у току последње трећине гравидитета, као и тек окоћене младунце. Долази до рађања слабо виталних или мртвих младунаца. Сматра се да је ово обољење последица дефицитарне исхране мајке, пре свега услед недостатка витамина Е. Патолошки налаз се карактерише крварењем и отоцима у можданом ткиву. Промене у виду отока се могу развити и у мрежњачи и средњем уху, а касније могу наступити и некротичне промене. Када обољење узнапредује, процес се са мозга може проширити и на кичмену мождину. Поред ових промена, код фетуса се може развити и миопатија. Превенција овог обољења састоји се у обезбеђивању адекватног смештаја и исхрани која је прилагођена гравидним женкама.

## **Дерматитис**

Уколико се као простирка за хрчке користи струготина дрвета, код њих се може развити дерматитис. Некротични процеси и улцерације могу се проширити и на екстремитете. Код тежих облика овог обољења развијају се и дегенерација и атрофија ногу.

## **Епилепсија**

Епилепсија се јавља често код гербила, углавном у узрасту од два месеца. Ово обољење се клинички манифестује дрхтањем, грчењем и престанком моторичке активности. Грчеви се могу понављати у периодима од неколико дана и сами напади трају од пола до неколико минута. Ово обољење може довести и до угинућа.

## **Тровање стрептомицином**

Стрептомицин у повећаним дозама код гербила може да изазове неуромишићну блокаду. Поред овога, може изазвати и депресију, парализу, кому и угинуће, које може наступити већ неколико минута након апликације.

## **Хроничне нефропатије**

Хроничне нефропатије се јављају код гербила старијих од годину дана. Ово обољење се клинички манифестује полиуријум, полидипсијом и губитком телесне масе. Патолошки налаз се карактерише неравнинама на површини бубрега, које су резултат фиброзе. Патохистолошки се запажа атрофија тубулоцита у бубрежним каналићима. Код старијих јединки се могу наћи и пијелонефроза, хидронефроза, калцификација бубрега, запаљење мокраћне бешике и мокраћовода. Могуће је да се развије и зачепљење мокраћовода.

## **Цисте на јајницима**

Цисте на јајницима се јављају код старијих гербила. Саме цисте могу значајно варирати у величини, од неколико милиметара до пет центиметара. Оболеле животиње имају отечен абдомен. Развијају се репродуктивни поремећаји који се манифестују рађањем младих са знатно мањом телесном масом од нормалне или неплодношћу. Поред промена на јајницима, код оболелих јединки се могу развити запаљенске промене у материци, цистична хиперплазија слузокоже материце и минерализација мишића у зиду материце.

## 12.2 Инфективне болести

Инфективне болести лабораторијских животиња могу се систематизовати према врсти животиња као и према њиховим узрочницима. На овом месту је потребно напоменути да поједине врсте лабораторијских животиња могу имати нека заједничка обољења, а да поједина обољења могу бити зоонозе и из тог разлога имају посебан значај.

### 12.2.1 Инфективне болести мишева

#### Салмонелоза

Салмонелоза (*salmonellosis*) је обољење које изазивају бактерије из рода *Salmonella*. Поред мишева, од овог обољења могу оболевати и многе друге врсте, укључујући и човека. Већина инфекција мишева пролази у супклиничкој форми. Код клиничких облика инкубација обично траје од два до шест дана. Манифестује се у три клиничка облика:

- акутни, који се карактерише апатијом, инапетенцом, поремећеним општим стањем и јаким проливом,
- субакутни, који се карактерише упорним проливом са примесама крви, и
- хронични, у којем се поред пролива јављају и мукозни коњунктивитис и поремећаји дисања.

Дијагноза се поставља на основу анамнезе, клиничке слике и патолошког и микробиолошког налаза (изолацијом и серолошком типизацијом). Диференцијално дијагностички долазе у обзир Тајзерова болест и стрептобацилоза.

Контрола обољења подразумева стављање нових животиња у карантин од најмање две недеље. Уколико се болест појави, жртвују се животиње из кавеза у којима је болест регистрована, а ако се болест проширила, жртвују се све животиње у запату. Након жртвовања се спроводе мере санитације.

#### Тајзерова болест

Узрочник Тајзерове болести (*morbus Tyzzer*) је *Clostridium piliforme*, који је раније био означен као *Bacillus piliformis*. Тајзерова болест се јавља код многих врста лабораторијских животиња. Ово обољење се само условно може сматрати за инфективну болест. Наиме, оно се јавља као последица стреса при извођењу огледа и имуносупресије.

Супклиничка инфекција је много чешћа у односу на клиничку, а младе јединке су много осетљивије од одраслих. Клинички се најчешће манифестује воденастим проливом, губитком длаке, апатијом и анорексијом, а у тежим облицима може изазвати угинуће. Хронично оболеле животиње представљају извор инфекције.

Патолошке промене се примарно јављају на илеуму и цекуму. Узрочник одатле доспева до јетре, а затим и у остале органе, најчешће миокард. Илеум и цекум су едематозни и хиперемични, док се на јетри и миокарду могу видети некротична подручја.

Дијагноза се поставља хистолошки бојењем по Гимзи, имунофлуоресцентном техником или серолошки (ELISA). Контрола болести се спроводи изолацијом инфицираних животиња и спровођењем хигијенских мера. За уништавање спора може се користити 0,5%-тни раствор хипохлорита.

### **Септикемија мишева**

Узрочник је бактерија *Corynebacterium kutscheri*. Поред мишева оболевају и пацови, а ређе заморци. Обично се јавља као перзистентна супклиничка инфекција, док се клинички манифестује након слабљења имуног система. Клинички се манифестује појавом носног и очног исцетка, диспнејом, артритисом, кожним апсцесима, губитком телесне масе и анорексијом. Након ових симптома се развија септикемија која се врло брзо завршава угинућем услед септичких емболија. Патолошке промене су у виду фокалних апсцеса на јетри, бубрезима, плућима и лимфним чворовима.

Дијагноза се поставља на основу патолошког налаза, изолацијом узрочника и серолошким методама (RVK, ELISA). Третман пеницилином може бити превенција за клинички облик болести, али не елиминише узрочника. Контрола се врши еутаназијом оболелих животиња и спровођењем мера санитације.

### **Инфекције са *E. coli***

*Escherichia coli* се нормално налази у дигестивном тракту, али услед погоршаних услова може доћи до појаве болести. Болест најчешће протиче у хроничној форми са променама у дигестивном тракту. Поред дигестивног тракта, запаљенски процес се може развити и у уrogenиталном тракту, а може доћи и до настанка сепсе.

Дијагноза се поставља на основу епизоотиолошких података, клиничке слике и бактериолошког налаза. Превенција подразумева поштовање свих хигијенских стандарда, док се терапија антибиотцима може користити, али је углавном без великог утицаја на ток болести.

## Артритис

Артритис или мишији реуматизам изазива *Streptobacillus moniliformis*. Поред мишева, ова болест се јавља и код других животињских врста, али и код људи. Инфекција настаје директним или индиректним путем.

У акутном облику болест се карактерише септикемијом која има висок степен морталитета, док се у хроничном облику развија артритис. Промене везане за септикемију манифестују се у виду фокалних некроза на јетри и слезини и увећањем слезине и лимфних чворова. У хроничном току болести екстремитети и реп су зацрвљени и отечени, долази до деформитета и/или ампутације екстремитета и репа (*ectromelia*).

Дијагноза се поставља на основу клиничких симптома, патолошког налаза и изолацијом узрочника. Вакцинација може бити мера превенције. Оболене животиње се жртвују, након чега је потребно извршити мере санитације.

## Инфекције са *P. pneumotropica*

*Pasteurella pneumotropica* изазива обољења код више врста лабораторијских животиња. Инфекција обично протиче у супклиничкој форми, а ако се јави клиничка слика, она се карактерише коњунктивитисом, панофталмитисом, супкутанним апсцесима, булбоуретралном инфекцијом, инфекцијом утеруса и инфекцијом средњег уха. Код пацова се јављаја и маститис.

Дијагноза се поставља бактериолошким или серолошким методама (ELISA). Третман се може вршити окситетрациклином.

## Микоплазмоза

Микоплазмоза (*Mycoplasmosis*) је респираторно обољење које изазива *Mycoplasma spp.* Од микоплазмозе, поред мишева, оболевају и пацови. Клиничка слика се манифестује променама у горњем респираторном тракту и плућима. Патолошки налаз указује на запаљење плућа, док су ваздушни путеви испуњени вискозним ексудатом.

Дијагноза се поставља на основу анамнезе, клиничке слике и на основу патолошког налаза. Култивација узрочника је тешка и не ради се у рутинској пракси. Примена тетрацилина ублажава симптоме, али не доводи до елиминацији узрочника. Вакцинација се може користити као мера превенције овог обољења.

## Мишије богиње

Узрочник је ДНК вирус. Болест се карактерише гангреном, отпадањем једног или више екстремитета, а понекад и осталих делова тела (*ectromegalia*), са високим



степеном угинућа (до 90%). Патолошке промене на унутрашњим органима манифестују се у виду некротичних промена.

Дијагноза се поставља патохистолошким и серолошким методама. У циљу превенције нове животиње се стављају у карантин до три недеље. Уколико се обољење појави, све животиње се жртвују и примењују се мере санитације.

### **Инфекције корона вирусима**

Постоји више сојева корона вируса који се разликују по својој вируленцији. Такође, постоје и разлике у осетљивости појединих сојева мишева према овом узрочнику. Код старијих јединки инфекција обично протиче у супклиничком облику, док се код млађих јавља клинички облик болести са високим степенем угинућа. Клинички се ова инфекција манифестује у три облика:

- инфективни хепатитис, са неспецифичним симптомима и променама на јетри у виду некрозе хепатоцита и појаве мултиједарних, циновских ћелија,
- нервни облик, који се манифестује атаксијом и парезом задњих ногу и променама у виду фокалних некроза мозданог ткива, и
- цревни облик, који се манифестује проливом (мишеви који сисају су прекривени делићима фецеса) и променама у цревима у виду некрозе и хеморагија.

Дијагноза се поставља на основу клиничке слике и патолошког налаза. Потребно је извршити изолацију узрочника код оболелих младунаца и мајки.

### **Инфекције рота вирусима**

Ово обољење се раније означавало као „ензоотски пролив младих мишева“. Узрочник спада у РНК вирусе. Болест највише погађа мишеве у узрасту од једне до три недеље, а до инфекције долази путем хране која је контаминирана изметом болесних јединки.

Клинички се манифестује проливом. Измет се око ануса може стврднути и проузроковати опстипацију и смрт. Оболела животиња брзо слаби. У почетку болести смртност није висока. Каснија фаза болести се карактерише интоксикацијом која настаје као последица распадања цревног садржаја и продирања бактерија из црева у унутрашње органе. Због поремећаја у микрофлори долази до размножавања патогених сојева *E. coli*.

Патолошке промене се карактеришу дилатацијом црева у којима се налази жути садржај. Патохистолошки се уочава вакуоларна дистрофија ентероцита.

Дијагноза се поставља серолошким методама (RVK, ELISA, IFA).

## **Инфекције реовирусима**

Узрочник је РНК вирус. Инфекција настаје феко-оралним путем и аеросолом. Природне инфекције су супклиничке.

Дијагноза се поставља серолошким методама (ELISA).

## **Инфекција сендаи вирусом**

Узрочник је РНК вирус из рода *Paramyxovirus*. Сендаи вирус је врло контагиозан. Инфекција настаје директним или индиректним контактом. Вирусна репликација је ограничена на респираторни тракт. Инфекција се често компликује секундарним бактеријским инфекцијама.

Манифестне инфекције су ретке, а болест протиче у акутном облику. Патолошке промене су у виду некротизирајућег ринитиса и интерстицијалне пнеумоније.

Дијагноза се поставља серолошким методама (ELISA). Болест се може спречити изолацијом младих животиња из узгојних колонија у трајању од једног до два месеца.

## **Полиенцефаломијелитис мишева**

Болест је позната и под називом Тајлерова болест. Узрочник је *Picornavirus*.

Инфекција је врло честа код лабораторијских глодара и обично пролази као инапаратна инфекција. Код младих животиња (од 6 до 10 недеља) болест се клинички манифестује у виду парализа и конвулзија. Код старијих животиња се јавља у виду благих цревних инфекција. Патолошке промене су у виду полиомијелитиса са некрозама.

Дијагноза се заснива на серолошким методама.

## **Лимфоцитозни хориоменингитис**

Лимфоцитозни хориоменингитис (*Choriomeningitis lymphocitosa*) је зооноза, а узрочник спада у групу арена вируса. Код људи се развија обољење које је слично инфлуенци, док код мишева често пролази у латентном облику, али може утицати на резултате огледа. Код мишева се болест клинички манифестује у акутном и хроничном облику.

Акутни облик се јавља код млађих јединки. Патоморфолошки налаз карактеришу спленомегалија, стеатоза јетре и појава ексудата у перитонеалној и плеуралној шупљини. Патохистолошки налаз карактеришу периваскуларне

лимфоцитне инфилтрације паренхиматозних органа, можданих овојница и плексуса хороидеуса.

Код хроничног облика долази до пада имунитета. Код оболелих животиња се развијају запаљенске реакције на унутрашњим органима, нарочито бубрезима. Животиње мршаве, имају грубу длаку, погрбљене су, јавља се асцитес, а у тежим облицима и угинућа. Патолошки налаз се карактерише спленомегалијом, некрозама на јетри и гранулацијама на бубрезима. Патохистолошки налаз се одликује хроничним гломерулонефритисом и периваскуларним лимфоцитним инфилтрацијама и некрозама на унутрашњим органима.

Дијагноза се поставља серолошким методама. У циљу контроле болести потребно је вршити серолошка испитивања, и то у две генерације потомства. Оболеле животиње се жртвују.

### **Тимични вирус**

Узрочник спада у групу херпес вируса. Код млађих јединки долази до аномалија у расту и развоју са угинућима, док код одраслих болест протиче без изражених клиничких манифестација.

Патолошке промене су у виду некрозе тимуса, слезине и лимфних чворова.

Дијагноза се врши помоћу серолошких метода.

## **12.2.2 Инфективне болести пацова**

Постоје болести које су заједничке за мишеве и пацове – салмонелоза, артритис, микоплазмоза, лимфоцитозни хориоменингитис и др. Међутим, постоје и болести које су специфичне за пацове, односно које се код њих манифестују специфичним клиничким симптомима и патолошким променама.

### **Хронична респираторна болест пацова**

Узрочник обољења је *Mycoplasma pulmonis*. Преношење узрочника се одвија интраутерино или путем аеросола. Остали начини преношења нису значајни зато што су микоплазме врло осетљиве на дејство фактора из спољашње средине. Патогено деловање доводи до оштећења епитела респираторног тракта, а секундарно се могу развити бактеријске инфекције. Процес започење у носној шупљини и шири се до плућа, а инфекција може захватити и средње ухо.

Клинички се уочава секрет из носа и очију, јављају се звукови хркања и кијање, а у каснијим стадијумима болести долази до отежаног дисања,

исцрпљености и угинућа. Уколико инфекција захвати средње уво, јавља се увртање и кружни покрети главе.

Патолошки налаз се карактерише ринитисом и фарингитисом, а у каснијим стадијумима и бронхопнеумонијом. У средњем и унутрашњем уву се може наћи мукопурулентан садржај.

Терапијски се може примењивати окситетрацилин.

### **Болест узрокована CAR бацилусом**

*Cillia-Associated Respiratory (CAR) bacillus* узрокује болест сличну хроничној респираторној болести пацова. Узрочник се преноси директним контактом. Клинички знаци су неспецифични, а патолошки налаз се карактерише присуством апсцеса на плућима и ателектазом, док се у ваздушним путевима може наћи гној.

### **Лабиринтис**

Ово обољење изазива више узрочника (микоплазме и бактерије) и карактерише се савијањем тела на једну страну, врћењем у круг и кривим ходом. Оболела животиња тешко успоставља равнотежу. Терапијски се може користити тетрацилин.

### **SDAV (*Sialo-dacryo-adenitis*)**

Узрочник обољења припада групи корона вируса, а означава се још и као Паркеров вирус. Ово је вирусно обољење које се клинички манифестује појачаним сузењем и слињењем, које се повлачи релативно брзо. Јавља се и оток лица и врата. Секундарно може доћи до општећења корнее зато што лезије у сузном каналу доводе до њеног сушења.

Патолошки налаз се карактерише запаљенским процесима у пљувачним и сузним жлездама и поткожном везивном ткиву. Може се развити и пнеумонија.

Већина лезија спонтано пролази за око две недеље. Дијагноза се поставља серолошким методама (ELISA, IFA, RVK).

### **Парвовирусна инфекција пацова**

Узрочник обољења је парвовирус, који се означава и као Килхамов вирус. Вирус се преноси директним или индиректним контактом, док је трансплацентарна инфекција мање значајна.

Клинички се манифестује отоком абдомена, цијанозом скротума, жутицом и угинућима. Тежи облик се јавља код млађих јединки и код њих се могу развити поремећаји у развоју малог мозга, у коме настају трајне промене са клиничком манифестацијом.

Патолошке промене које се јављају су некротизирајући хепатитис, асцитес, енцефалитис, појава жаришних некроза у гастроинтестиналном и репродуктивном тракту, а код младих јединки и атрофија грануларног слоја у малом мозгу.

Дијагноза се поставља на основу патолошког налаза уз патохистолошки преглед малог мозга, применом вирусолошких метода (изолација на ВНК-21 ћелијској култури), као и серолошким методама (ELISA, IFA). Неопходно је вршити серолошки мониторинг лабораторијских колонија пацова у циљу контроле ове болести.

### **Инфективни пролив младих пацова**

Узрочник ове болести је рота вирус. Клинички оболевају младе јединке у узрасту до једанаест дана. Болест се карактерише јаким проливом и дерматитисом у перианалном подручју. Оболене јединке заостају у расту и развоју.

Патолошки налаз указује на атрофију цревних ресица и некрозу цревног епитела. У лумену црева се налази воденаст садржај.

## **12.2.3 Инфективне болести замораца**

### **Псеудотуберкулоза (јерсиниоза)**

Псеудотуберкулоза је болест дивљих и домаћих глодара, дивљих птица и човека. Узрочник је *Yersinia pseudotuberculosis* и *Yersinia enterocolitica*. Инфекција настаје феко-оралним путем, а развоју болести погодују лоши амбијентални услови.

Болест протиче у акутном, субакутном и хроничном облику. Акутни облик карактерише развој септикемије, у субакутном облику се јавља пролив, док се хронични облик карактерише променама у органима и лимфним чворовима који подсећају на туберкулозне грануломе (одатле назив болести – псеудотуберкулоза).

Патолошки налаз се карактерише повећаним лимфним чворовима, ерозивним ентероколитисом и налазом микроабсцеса који се састоје од накупина неутрофилних гранулоцита и колонија узрочника.

Дијагноза се поставља на основу патолошког и микробиолошког налаза. Узрочник се не може доказати у фецесу. Иако су узрочници осетљиви на антибиотике, терапија се не спроводи већ се оболеле животиње жртвују.

## Салмонелоза

Узрочници салмонелозе код замораца су *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium* и *Salmonella Dublin*. Инфекција се одвија путем контаминиране хране, воде или простирке. Предиспонирајући фактори за настанак болести су лоши амбијентални услови и стрес.

Болест протиче у перакутном, акутном и хроничном облику. Перакутни облик карактеришу нагла угинућа, а у акутном облику животиње су депресивне, слабе и отежано дишу. Хронични облик болести се карактерише анорексијом, губитком телесне масе, грубом длаком, коњуктивитисом, проливом или меканим изметом. Јављају се спорадична угинућа, а гравидне женке често побаци.

Патолошки налаз се карактерише конгестијама, фокалним некрозама и отоком јетре, слезине, црева и лимфних чворова. Црева су испуњена течним садржајем и гасом. Код гравидних женки се може јавити и гнојни метритис.

Сигурна дијагноза се поставља бактериолошким методама, а оболеле животиње се не лече, већ се врши изолација и жртвовање, након чега се примењују мере санитације.

## Пастерелоза

Узрочник пастерелозе (*pasteurellosis*) су више врста из рода *Pasteurella*. Клинички се манифестује у три облика:

- перакутни, који карактерише поремећај општег стања са смртним исходом у року од неколико сати,
- акутни, који се развија у току 12 до 24 сата и манифестује се отоком ждрела, поремећајем дисања и цијанозом, и
- хронични, који траје недељама и карактерише се отежаним дисањем, кашљем и отоком зглобова.

Дијагноза се поставља на основу анамнезе, клиничке слике и на основу патолошког и микробиолошког налаза.

## Стрептококна пнеумонија

Узрочник болести је *Streptococcus pneumoniae*. Инфекција се шири респираторним путем, а настанку болести погодују лоши услови држања и стрес. Најчешће се јавља код младих и гравидних животиња, а може протети и као инапаратна инфекција.

Клинички се манифестује респираторним поремећајима. Животиње нагло губе телесну масу, а може се јавити хемоглобинурија. Код гравидних јединки може доћи до побачаја.

Патолошки налаз карактерише пнеумонија, перикардитис, спленитис, метритис, лимфаденитис и појава абсцеса на јетри и јајницима.

Дијагноза се поставља изолацијом узročника. Терапијски се могу користити тетрациклин и хлорамфеникол, али се ипак најчешће врши еутаназија оболелих животиња и детаљна санитација просторија и опреме.

### **Цервикални лимфаденитис**

Узročник обољења је *Streptococcus zooepidemicus*. Инфекција настаје преко лезија у усној дупљи или на кожи. Акутни облик се развија у виду септикемије и долази до угинућа за неколико дана. Код хроничног облика долази до увећања лимфних чворова на врату, а процес може захватити и друге лимфне чворове (аксиларне и ингвиналне). Оболеле животиње тешко дишу и могу бити цијанотичне. Често се може развити и упала средњег уха. Код gravidних животиња може доћи до побачаја.

Патолошке промене код акутног облика су у виду хеморагичног перитонитиса, док се код хроничног облика може наћи гнојно запаљење лимфних чворова. Присуство гноја је могуће утврдити и у грудној и трбушној шупљини, уху и материци, док се мањи апсцеси могу наћи на јетри, перитонеуму и зиду црева.

Сигурна дијагноза се поставља изолацијом узročника. Животиње се могу третирати антибиотицима, али се код тежих случајева еутаназирају. Након еутаназије оболелих животиња неопходно је применити мере санитације.

### **Пододерматитис**

Узročник болести је *Staphylococcus aureus*. Инфекција настаје преко лезија стопала које настају услед лоше подлоге и неадекватних хигијенских услова. Болест је хроничног тока. На јастучићима шапа јављају се отоци и улцерације. Животиње се отежано крећу. Касније може доћи до стварања некроза, крварења и појаве красти.

Терапија се састоји у примени системских антибиотика и локалној апликацији масти на бази кортикостероида.

### **Инфекција корона вирусима**

Инфекција се одвија феко-оралним путем. Клинички се болест манифестује апатијом, анорексијом и проливом. Патолошки налаз се карактерише ентеритисом, док је дигестивни систем испуњен обилним мукозним садржајем.

## **Аденовирусна пнеумонија**

Болест се карактерише високим процентом угинућа пре појаве клиничких симптома. Настанку болести погодују стресна стања. Патолошки се налазе промене на плућима у виду јасно ограничених тамно црвених подручја, емфизема, некротичног бронхитиса и пнеумоније. Ваздушни путеви су испуњени секретом.

## **Леукемија**

Болест је широко распрострањена и најчешће се јавља код младих животиња. Клинички се манифестује лимфаденопатијом, губитком телесне масе, грубом длаком и парализом. Патолошки се налази увећање лимфних чворова, јетре и слезине.

### **12.2.4 Инфективне болести хрчака**

#### **Регионална пролиферација интестиналне мукозе**

Узрочник је *Lawsonia intracellularis* (из рода *Campylobacter*). Болест је позната под називима “влажни реп” и пролиферативни илеитис. Поред хрчка, болест се јавља и код мишева, пацова и кунића. Инфекција се одвија директним контактом, а болест се најчешће јавља код младих животиња које су изложене стресу.

Клинички се болест манифестује апатијом, анорексијом, губитком телесне масе и проливом. Реп је упрљан изметом – „влажан реп“, а може доћи и до пролапсуса ректума. Палпацијом се могу утврдити задебљали сегменти црева, а сам абдомен је истегнут. У акутном току смртност износи и до 90%. Хронични ток је чешћи и животиње су јако слабе и споро напредују.

Патолошки налаз се карактерише илеитисом и колитисом са хиперплазијом епитела. Мезентеријални лимфни чворови су увећани.

Дијагноза се поставља на основу клиничке слике и патолошког налаза. У лакшим случајевима терапија је могућа применом тетрациклина. Тежи случајеви захтевају еутаназију болесних животиња и њихових мајки, као и спровођење мера санитације.



## 12.2.5 Инфективне болести кунића

### Пастерелоза

Узрочници су *Pasteurella multocida*, *Pasteurella haemolytica* и *Pasteurella pneumotropica*. Болест је позната и као хеморагична септикемија кунића. Примарни извор заразе су оболеле животиње, док су секундарни извори храна, вода и предмети који су контаминирани узрочником. Узрочник болести може бити и присутан у организму, а болест се може јавити услед деловања стресогених фактора.

Пастерелоза се јавља у перакутном, акутном и хроничном облику. Перакутни облик карактерише поремећај општег стања са смртним исходом у року од неколико сати. Акутни облик се развија у току 12 до 24 сата и манифестује се отоком ждрела, поремећајем дисања и цијанозом. Хронични облик траје недељама и карактерише се отежаним дисањем, кашљем и отоком зглобова.

Патолошки налаз се карактерише знацима септикемије и фиброзном плеуропнеумонијом. Слузокожа у дисајним путевима је катарално, а понекад и хеморагично упаљена.

Дијагноза се поставља на основу клиничке слике, патолошког налаза и изолацијом узрочника. Терапијски се користе хиперимуни серуми, антибиотици и сулфонамиди. Хронични ток болести се не лечи, већ се оболеле животиње еутаназирају.

### Ринитис

Ово обољење је мултикаузалне етиологије и изазивају га бактерије (из родова *Pasteurella*, *Bordatella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* и *Haemophilus*) и вируси (*rioadenovirus*). Болест се шири директним и индиректним путем.

Клинички се јавља у перакутном, акутном и хроничном облику. Перакутни облик се ређе јавља и карактеришу га изненадна угинућа. У акутном облику животиња слини, кија и отежано дише. Подвлични лимфни чворови су увећани. Могу се јавити и неуролошки симптоми, као што је раздражљивост. Хронични ток се одликује губитком телесне масе.

Патолошким прегледом се налазе запаљенске промене у носу и бронхијама, као и на перикарду. На паренхиматозним органима се уочава паренхиматозна дегенерација.

Дијагноза се поставља на основу клиничке слике и микробиолошким методама. Лечење се спроводи само у почетку болести, применом антибиотика и сулфонамида.

## **Стафилококна инфекција**

Узрочник је *Staphylococcus aureus*. Развоју болести погодују лоши амбијентални услови и дефицитарна исхрана.

Стафилококоза се јавља у акутном и хроничном облику. Акутни облик карактерише септикемија и нагла угинућа. Хронични облик се карактерише развојем гнојних процеса у организму.

Стафилодермија је облик болести који карактерише развој локалних промена у облику апсцеса и флегмона.

Дијагноза се поставља на основу клиничке слике, патолошког налаза и изолацијом узрочника. Апсцеси се могу третирати хируршки уз примену антибиотика.

## **Маститис**

Узрочници маститиса су бактерије из родова *Staphylococcus* и *Streptococcus*. Ова болест је позната и као “плаве груди”. Развоју болести погодују лоши хигијенски услови и исхрана, а најчешће настаје након што млади престану да сисају (након три до четири недеље од окота).

Промене се карактеришу запаљенским процесом на млечној жлезди, поремећајем општег стања, а често може доћи и до септикемије.

Антибиотска терапија се може применити у раном стадијуму болести.

## **Спирохетоза кунића**

Болест се назива и сифилис кунића и трепаноматоза кунића. Узрочник болести је *Treponema paraluis-cuniculi*. Најчешће се преноси полним путем, али се може преносити и другим врстама контакта и преко контаминираних предмета.

Болест се развија у хроничном облику и карактерише се стварањем чворића на полним органима. Гравидне женке могу побацили или окотити авиталну младунчад. Болест након неколико месеци спонтано пролази, али без развијања имунитета.

Дијагноза се поставља на основу клиничке слике и изолације узрочника. Болест се може третирати антибиотиком (пеницилином) и локално применом дезинфицијенса.

## Ентеротоксемија

Ова болест, осим кунића, погађа и хрчке и заморце. Узрочници су *Clostridium difficile* и *Clostridium spiriforme*. Развоју болести могу допринети грешке у исхрани, стрес, као и примена антибиотика. Све ово може довести до промене у микрофлори дигестивног тракта, што може довести до наглог размножавања ових бактерија.

Животиње могу изненада угинути, у року од 24 сата, а болест може трајати и неколико дана, са проливом и без њега. Измет је воденаст, а у њему може бити крви.

Патолошки се налази едематозан и хеморагичан цекум. Некрозе могу бити присутне на унутрашњим органима и на мезентеријалним лимфним чворовима.

Дијагноза се поставља на основу клиничке слике и патолошког налаза. Изолација узрочника се не ради зато што су кластридије део нормалне микрофлоре дигестивног тракта.

## Колибацилоза

Узрочник је ентеропатогена *Escherichia coli*. Овај микроорганизам је нормалан део микрофлоре дигестивног тракта, а опадањем опште одбрамбене способности организма постаје вирулентан. Развоју болести погодује промена рН (алкална реакција) у дигестивном тракту, што доводи до убрзаног размножавања узрочника.

Код младунаца у узрасту од једне до две недеље јављају се тешки проливи и висок степен угинућа. Код кунића у узрасту од четири до шест недеља јављају се проливи, а угинућа настају пет до четрнаест дана од појаве клиничких симптома.

Патолошким прегледом се налазе петехијална крварења.

Дијагноза се поставља на основу клиничке слике и доказом узрочника. Код лакших облика болести могу се давати антибиотици и потпорна терапија, док се у тежим облицима оболеле јединке еутаназирају. Превенција подразумева адекватну исхрану и дезинфекцију објеката и опреме.

## Туларемија

Туларемија је зооноза која се углавном јавља код дивљих животиња са којих се преноси на домаће животиње и човека. Узрочник је *Francisella tularensis*. Болест се јавља сезонски, углавном током пролећа.

Болест има хроничан ток. Инфекција настаје путем респираторног тракта. Узрочник се шири путем лимфе и крви и локализује у паренхимским органима, где ствара грануломатозне промене. Болесне јединке су споре и троме па се могу се лако ухватити.

Патолошке промене које се налазе су плеуритис, пнеумонија и повећана јетра и слезина (има изглед цигарете). Оболеле животиње се еутаназирају и спроводе се детаљне мере санитације.

### **Миксоматоза (*myxomatosis*)**

Миксоматоза је вирусно обољење кунића, а само изузетно зечева. Узрочник је ДНК вирус, род *Leporipox*. Дивљи кунићи и зечеви су најзначајнији извор инфекције која се може ширити директним или индиректним контактом. Најважнији пут ширења у природним условима је преко хематофагних инсеката.

Након инкубације од 7 до 10 дана на улазном месту инфекције развија се папула која прелази у примарни миксом. Касније се на различитим деловима тела јављају чвораста задебљања. Очни капци су слепљени, усне и њушка отеке и глава поприма карактеристични облик – „глава лава“, а отоци се јављају и на другим деловима тела. Смртност може бити и до 90%.

Патолошки налаз карактеришу тумори, едеми и крварења на кожи, срцу и по серози дигестивног тракта. Могу се наћи и хеморагичне лезије на плућима, јетри, слезини, бубрезима и лимфним чворовима.

Дијагноза се поставља на основу клиничке слике, патолошког налаза и серолошким методама (AGID и RVK).

### **Хеморагијска болест кунића**

Узрочник болести је *Calicivirus*. Епизоотије се углавном јављају код кунића старијих од два месеца, док је сисанчад обично отпорна. Болест се обично јавља у јесењем и зимском периоду. Главни извор инфекције су оболеле јединке.

Инкубација је кратка, од неколико сати до три дана. У перакутном току долази до наглих угинућа, док се у акутном јавља хеморагијска септикемија са високим процентом угинућа (до 90%). Јавља се пенушави и крвави носни исцедак, забачена глава, гушење и цвиљење.

Патолошки налаз указује на дистрофију јетре са некрозама у њеном паренхиму. Хиперемеија и хеморагија се јављају на трахеји, плућима и бубрезима, а развија се интерстицијална пнеумонија.

Дијагноза се поставља на основу анамнезе, клиничке слике, патолошког налаза, серолошким методама (AGID, ELISA) и доказом узрочника. Оболели кунићи се еутаназирају и примењују се мере санитације. Могуће је вршити вакцинацију у циљу превенције.

## **Богиње кунџа**

Узрочник болести је *Poxvirus*. Болест се јавља спорадично, али и у облику епизотије.

Клинички се манифестује блефаритисом и кератитисом са мукопурулентним исцетком из носа и очију. Лимфни чворови на глави и врату су увећани. По телу се јављају папуле, које не прелазе у везикуле и пустуле. На слузницама се јављају улцерације. Поред ових, развијају се и неуролошки симптоми (некординисани покрети и парализа појединих група мишића). Гравидне женке могу побацити. Смртност може износити и до 90%.

Патолошки налаз се карактерише папулама и некротичним променама на органима.

Дијагноза се поставља на основу клиничке слике и патолошког налаза. Изолација узрочника је могућа на хориоалантоисној мембрани пилећег ембриона. Кунџи који су преболели стичу имунитет који може трајати до годину дана. Вакцине се могу користити у циљу превенције ове болести.

## **12.2.6 Инфективне болести гербила**

### **Инфекције горњих респираторних органа**

Најчешћи узрочници обољења горњих респираторних органа гербила су стрептококе и стафилококе. Настанку обољења погодују лоши хигијенски услови. Клинички се болест карактерише појавом исцетка из носа и очију, кијањем и отресањем главе. Као компликација се може развити и запаљење средњег уха. Терапијски се може користити окситетрациклин.

### **Носни дерматитис**

Ово обољење је познато и као „црвени нос“, а изазивају га стафилококе. Болест се јавља када су животиње изложене стресу. Клинички се карактерише дерматитисом носа и појавом алопеције изнад горње усне и ноздрва. Јавља се ексудат црвеносмеђе боје (од порфирина). Дерматитис се може проширити и на друге делове. Антибиотска терапија се примењује у случајевима хроничног прогресивног дерматитиса.

### 12.2.7 Инфективне болести осталих огледних животиња

Болести домаћих животиња које се могу користити као огледне животиње су предмет студија ветеринарске медицине, па ће на овом месту бити споменути само инфекција мајмуна, врло опасна зооноза – марбуршка болест.

#### Марбуршка болест

Од марбуршке болести (*morbus Marburg*) не оболевају сами мајмуни, али поједине врсте могу бити трајни носиоци вируса. Те врсте су:

- *Cercopithecus aethiops*,
- *Macaca mulatta*,
- *Saimiri sciureus*.

За људе је ово изузетно опасно обољење, које у више од 50% случајева завршава смртним исходом. За инфекцију људи неопходно је да човек буде у непосредном контакту са крвљу мајмуна. Ово је нарочито значајно за особље које се бави производњом биолошких препарата на овим врстама мајмуна.

Марбуршка болест је први пут регистрована у граду Марбургу (Немачка) 1967. године у Институту за производњу вакцина. У Србији се ова болест појавила исте године у Институту за вирусологију, вакцине и серуме „Торлак“.

### 12.3 Дерматофитозе

Дерматофитозе су гљивична обољења која код лабораторијских животиња најчешће изазивају гљивице из родова *Microsporum* и *Trichophyton*. Њихово деловање се манифестује кроз развој лезија на кожи.

Дијагностика гљивичних обољења коже зависи од типа кожних промена. Када су у питању површинске промене, врши се преглед длаке или кожних скарификата помоћу микроскопа или Вудове УВ лампе. Дијагностика дубоких промена у кожи врши се у специјалистичкој лабораторији за дерматофитозе.

### 12.4 Паразитске болести

Паразитске болести код лабораторијских животиња углавном не представљају озбиљнији здравствени проблем, осим у случајевима када настаје инфестација великог интензитета и већег броја индивидуа. Осим у ретким случајевима,

паразитске болести не захтевају изолацију оболелих јединки и не представљају проблем за дијагностику и сузбијање. Ипак, паразитске болести могу имати и озбиљне последице јер могу изазвати одређене компликације које могу довести до обустављања огледа.

Паразити, поред механичког и токсичног деловања на организам домаћина, одузимају хранљиве материје, а могу бити и вектори за инфективне болести. Лабораторијске животиње могу бити инфестиране приликом директног контакта или индиректно, преко хране, воде и опреме. Овоме погодују лоша хигијена и услови држања у објекту, као и велика агломерација животиња. Правилно држање лабораторијских животиња, адекватна исхрана и напајање, нешкодљиво уклањање измета и простирке, као и друге мере омогућавају бољу контролу паразитских болести.

Паразитске болести се у зависности од узрочника и њихове локализације могу поделити на ектопаразитозе и ектопаразитозе.

#### **12.4.1 Ектопаразитозе**

Ектопаразити изазивају промене на кожи које могу бити различитог степна озбиљности. Они изазивају свраб и узнемиравају животиње, могу изазвати опадање длаке, запаљенски процес и настанак лезија. Приликом дијагностиковања ектопаразитоза мора се водити рачуна о диференцијалној дијагностици са дерматофитозама.

#### **Инфестација мувама**

Муве могу узнемиравати лабораторијске животиње својим зујањем и кретањем по њиховом телу. Међутим, неки од ових инсеката су хематофагни, па се на местима њиховог убода јављају ранице које могу бити улазна врата за узрочнике инфективних обољења.

Да би се сузбила инфестације мувама потребно је поштовање хигијенских мера у објекту, постављање баријера (мрежа) као и примена репелентних препарата.

#### **Инфестација бувама**

Овом инфестацијом су најчешће погођене животиње са дужом длаком. Буве се преносе директним контактом са других животиња, а пси и мачке су стални носиоци ових паразита. Оне својим убодима изазивају свраб, чешање и узнемиреност лабораторијских животиња.

Сузбијање бува се врши третирањем одговарајућим препаратима, при чему је неопходно третирати и објекат.

### **Хематопиноза (*haematopinosis*)**

Хематопинозу изазива *Haematopinus spp.* и још се означава као „вашљивост“. Женка паразита полаже јаја уз корен длаке из којих се развијају ларве. Ове ларве се хране крвљу убодима коже домаћина. Цео развојни циклус траје до тридесет дана. Карактеристична локализација је око очију, иза ушију, по врату, грудима, сапима и бутинама. Клинички се ово обољење манифестује сврабом, који је нарочито изражен ноћу. Инфестиране животиње су узнемирене, под стресом, слабије узимају храну, а може се развити анемија и пад имунитета.

Дијагноза се поставља налазом адултних облика, ларви и јаја која су прилепљена за длаку – гњиде. Сузбијају се инсектицидима. При третману треба водити рачуна да ови препарати не делују на гњиде, па је третман неопходно поновити за 15 дана.

### **Шуга (*scabies*)**

Ово обољење изазивају паразити из фамилија *Psoroptidae*, који живе на површини коже, и *Sarcoptidae*, који продиру у епидермис коже. Болест се карактерише хроничним током.

*Sarcoptes scabiei var cuniculi* (фамилија *Sarcoptidae*) изазива шугу код кунића и зечева, а промене су локализоване на глави, бази ушне шкољке и око очију. Одатле се шуга може проширити и на остале делове тела. Женке буше ходнике у епидермису и ту полажу јаја, а развојни циклус траје до двадесет дана, мада при повољним условима може трајати само осам дана. Паразити узрокују јаку иритацију коже и испадање длаке, а лезије се могу секундарно инфицирати. Ова болест је зооноза.

*Trixacarus caviae* (фамилија *Sarcoptidae*) изазива шугу код замораца. Промене се јављају на кожи врата, рамена, на унутрашњим деловима екстремитета и на абдомену. Карактеришу се јаким запаљењем које је праћено опадањем длаке, хиперкератозом и јаким сврабом.

*Notoedres cati var cuniculi* (фамилија *Sarcoptidae*) изазива шугу код кунића. Промене се налазе на кожи главе, око носа, уста, вилица, по челу, око ушију и на шапама.

*Notoedres muris* (фамилија *Sarcoptidae*) изазива шугу код мишева и пацова. Промене се јављају у ушима.

*Psoroptes cuniculi* (фамилија *Psoroptidae*) изазива шугу код кунића и зечева, а промене се јављају у ушној шкољци. Женке полажу јаја на површини коже, а развојни циклус траје девет до дванаест дана. Симптоми варирају од благих до тежих, када се јавља интензиван свраб, животиње се чешу задњим ногама и окрећу



главу на страну. У ушима се налази жућкасти секрет који се касније стврдне, а кожа је јако запаљена. Оболеле животиње губе на маси а могу се јавити и секундарне инфекције.

Дијагноза се поставља узимањем скарификата са рубова промењених делова коже и микроскопским прегледом. Сузбијање се врши применом антискабичних препарата, при чему се препарат не примењује истовремено на више од половине тела. Поред третирања животиња, потребно је извршити чишћење и прање просторија и опреме врелим раствором дезинфицијенса.

### **Демодикоза (*demodicosis*)**

Демодикоза је ектопаразитоза од које најчешће оболевају хрчак и пас. Изазива је паразит *Demodex spp.* који паразитира у фоликулима длаке и лојним жлездама. Инфестација настаје директно у додиру са оболелом животињом или индиректно преко предмета и опреме.

Развија се у два облика: сквамозном и пустулозном. Сквамозни облик се манифестује појавом беличастих чворића величине проса, кожа је задебљала и из ње испада длака. Из сквамозног облика се развија пустулозни облик, који се карактерише чворићима из којих се може истиснути беличастожућкасти садржај. Компликација може настати услед бактеријске инфекције и тада се стварају пустуле и крусте, а могу се развити и апсцеси.

Дијагноза се поставља микроскопским прегледом садржаја чворића. Сузбијање овог паразитског обољења је прилично тешко пошто не постоји адекватна терапија. Из овог разлога су превентивне мере врло важне.

## **12.4.2 Ендопаразитозе**

Ендопаразитозе лабораторијских животиња проузрокују протозое и хелминти.

### **Кокцидиоза (*coccidiosis*)**

Кокцидиозу изазивају протозое из рода *Eimeria*. Оне паразитирају у дигестивном тракту мишева, пацова и зечева. Инкубација траје 6–9 дана, а клиничка слика је неспецифична. Симптоми су изражени само код младих јединки и манифестују се инапетенцом, анорексијом и дијарејом без примеса крви. Оболеле животиње заостају у расту.

Дијагноза се поставља копролошким прегледом. Оболеле животиње се издвајају и третирају сулфонамидским препаратима. Терапија се примењује код свих животиња у кавезу, односно виваријуму. У циљу превенције кокцидиозе се у храну додају кокцидиостатици.

### **Токсоплазмоза (*toxoplasmosis*)**

Узрочник токсоплазмозе код свих лабораторијских глодара, али и код више других врста домаћих животиња је протозоа *Toxoplasma spp.* Ова болест се јавља и код човека. Инфестација настаје уношењем ооциста, које домаћини ових паразита излучују путем фецеса. Током развоја ове протозое долази до стварања циста у различитим деловима тела. Клиничка слика није карактеристична. Код младих јединки се јавља слабија покретљивост, тремор и дијареја.

Дијагноза се обавља серолошким методама, док се у ткивима угинуле животиње могу пронаћи цисте. Сузбијање се врши еутаназирањем оболелих и сумњивих животиња или запата.

### **Саркоспоридиоза (*sarcosporidiosis*)**

Саркоспоридиозу изазивају протозое *Sarcocystis spp.* код више различитих животињских врста. Од лабораторијских животиња су најчешће погођени миш и пацов. Инфестација настаје пероралним путем. Узрочник ствара цисте у различитим деловима тела. Клинички ово обољење пролази без израженијих симптома, а само се ретко јављају локомоторни поремећаји.

Сузбијање се не врши зато што се болест ретко клинички манифестује.

### **Еперитрозооза (*eperytozoonosis*)**

Ово обољење изазива протозоа *Eperytozoon spp.* и најчешће се јавља код мишева и пацова. Инфестација настаје путем хематофагних артропода. Болест углавном протиче инапаратно. Уколико је животиња под стресом, обољење се може манифестовати у клиничкој форми која се карактерише знацима опште депресије, анорексије појавом крви у фецесу (смеђе-црне боје). Значајно је да, иако инфестација пролази у супклиничком облику, долази до стварања антитела која могу представљати сметњу за укључивање оболелих животиња у огледе.

Дијагноза се врши налазом паразита у крвним размазима, а сузбијање се врши елиминацијом оболелих и сумњивих јединки.

### **Цестодозе (*cestodosis*)**

Развојни циклус ових паразита је индиректан, преко прелазних домаћина. То је разлог што су инфестације са цестодама ретке код лабораторијских животиња.

*Cysticercus pisiformis* је развојни облик пантљичаре пса *Taenia pisiformis* и узрокује цистицеркозу код кунџа и зечева. Инфестација настаје преко хране или

воде. Развија се у виду прозирног мехурића испуњеног бистром течношћу који се најчешће налази испод капсуле јетре, на перитонеуму, мезентеријуму и оментуму.

*Cysticercus fasciolaris* је ларвени облик пантљичаре мачака *Taenia taeniaeformis*. Код мишева и пацова развија се у виду мехурића на јетри. Болест може проицати без клиничких симптома, али се у хроничном облику могу јавити поремећен тријас, жутица и болност при палпацији абдомена.

*Coenurus serialis* се јавља у супкутаном и интермускуларном везивном ткиву код кунића и зечева и представља развојни облик *Taenia serialis*, пантљичаре пса.

*Hymenolepis nana* паразитира у танком цреву мишева и пацова. Прелазни домаћини за ову пантљичару су инсекти који живе на тлу и хране се органским детритусом. У акутном облику се развија катарални ентеритис праћен дијарејом, дехидрацијом и секундарним бактеријским инфекцијама. Хронични облик се карактерише ентероколитисом, панкреатитисом, а може доћи и до опструкције црева. Ово паразитско обољење је зооноза.

Дијагноза цестодоза се поставља на основу налаза јаја у фецесу неком од флотационих метода или на основу патолошког налаза одраслих или развојних облика паразита. Терапија развојних облика се не препоручује, док се за терапију адултних облика препоручује перорална терапија никлозамидом, празиквантелом и мебендазолом.

### **Нематодозе (*nematodosis*)**

Паразити из класе *Nematoda* могу се наћи код лабораторијских животиња. Њихов развој је директан, без прелазног домаћина.

*Passalurus ambiguus* паразитира у цекуму и колону зечева и кунића. Лакше инфестације се не манифестују клинички, док теже узрокују апатију, анорексију дијареју и мршављење. Дијагноза се поставља налазом адултних облика или јаја у фецесу или постмортално налазом адултних облика. Ова врста се може установити методом целофанског отиска ануса.

*Paraspidodera uncinata* паразитира у цекуму и колону код замораца.

*Graphidium strigosum* паразитира у зиду желуца и танких црева код кунића, зеца и пацова. Изазива запаљенске процесе у овим деловима дигестивног тракта, а клинички се манифестује проливом, кахексијом, анемијом, док су у тежим случајевима могућа угинућа.

*Trichostrongylus retortaeformis* је паразит танких црева, а ређе желуца, код кунића и зеца.

*Syphacia obvelata* и *Aspicularis tetrapera* паразитирају у дебелим цревима код мишева и пацова. Болест се клинички манифестује проливом, који је нарочито изражен код млађих животиња. Код старијих јединки болест се развија у хроничном облику.

*Capillaria hepatica* је паразит јетре код мишева и пацова, а ређе кунића. Овај паразит изазива стварање гранулома у паренхиму јетре, док јаче инфестације доводе до хепатитиса и цирозе.

*Trichosomoides crassicauda* паразитира у мокраћној бешици, уретри и бубрезима код пацова.

*Trichinella spiralis* паразитира код већег броја животињских врста и код човека. Када домаћин унесе ларве, које се налазе у мускулатури, оне се развијају до адулта за четири дана. Након оплођења женке полажу ларве у зид црева. Ларве се лимфотоком и крвотоком разносе по целом телу и даље се развијају, најчешће у скелетним мишићима. Инфестација доводи до атрофије цревних ресица, крварења на слузници црева и отока лимфних чворова. Приликом миграције ларви преко срца и плућа могу се развити сметње које могу имати и смртоносан исход. У скелетним мишићима доводе до упале праћене инфилтрацијом еозинофилних гранулоцита и макрофага. Завршна фаза подразумева калцификацију чаура. Клинички се акутни стадијум манифестује променом тријаса, проливом, кашљем, коњунктивитисом, отоком зглобова, појавом пега на кожи леђа и слузокожи уста и отежаним кретањем. У тежим облицима су могућа угинућа. Код живих животиња је могуће извршити серолошку дијагностику (ELISA), док се дијагноза ларви у мишићима може вршити компресионом методом или методом вештачке дигестије.

## 12.5 Мере превенције и санације патологије лабораторијских животиња

Појава обољења код лабораторијских животиња има вишеструки значај и може за последицу имати негативан утицај на сам оглед, али и угрозити здравље и живот других животиња и/или људи. Начин на који ће се поступати у случају појаве обољења код лабораторијских животиња у великој мери зависи од тога да ли се ради о болестима неинфективне или о болестима инфективне природе.

Мере превенције и санације су, свакако, комплексније код болести инфективне природе па је у овом случају потребно предузети следеће мере:

- вршити свакодневно, јутарње, а по потреби и чешће, посматрање животиња;
- издвојити сумњиву групу, односно популацију, у специјализовану просторију – изолацију;
- простор, кавезе и осталу опрему потребно је темељно опрати и дезинфиковати;
- у случају да је обољење захватило већи број животиња или је регистровано у више кавеза, потребно је целу просторију сматрати угроженом;
- уколико су животиње у огледу, такав оглед се мора прекинути;
- у зависности од обољења, приступа се адекватној терапији и/или еутаназији лабораторијских животиња.

Конвенционалне и животиње које потичу из природе, а које се користе у биомедицинским истраживањима, могу бити извор заразе. Примери обољења која се могу проширити на овај начин су хеморагијска грозница и туберкулоза. Ширење биохазарда приликом рада са лабораторијским животињама је, углавном, последица неправилности у раду особља. Ове неправилности су најчешће последица недовољног познавања патогених микроорганизама, лабораторијских животиња и опреме или недовољне вештине и свести при примени ових знања.

Путеви инфекције могу бити различити, директни и индиректни. Пропусти током узгоја, изолације и дезинфекције објеката такође могу повећати ризик од биохазарда. Добра организација, квалификовано особље и стандардизоване животиње и процедуре своде на минимум могућност ширења биохазарда током рада са лабораторијским животињама.

### **12.5.1 Вакцинација и лечење огледних животиња**

Вакцинација огледних животиња обично је ограничена на веће животиње, као што су мачке и пси. Вакцинација (нпр. против мишјих богиња) код глодара је могућа, али су ефекти упитни. Исто тако, вакцинација може изазвати продукцију антитела, која озбиљно могу ометати праћење серолошког индекса. Поред тога, тешко је разликовати да ли је продукција антитела изазвана вакцинацијом или инфекцијом.

Антибиотицима треба заштити вредне огледне животиње када је већ дошло до избијања болести. Међутим, ово је ризично зато што се нормална цревна флора глодара, замораца и кунџа може лако пореметити антибиотицима, што резултира озбиљним здравственим проблемима. Лекови у циљу превенције могу се давати путем хране или воде за пиће, али сваки лек може утицати на резултате истраживања. Третирање заражене животиње се не препоручује. Међутим, неке ситуације, као што су инфекције сендаи вирусом, могу изазвати катастрофалне последице у објекту. Оболене животиње у том случају треба еутаназирати и извршити дезинфекцију, зато што је заштита целог објекта важнија од сваког појединачног истраживања.

## 13.0 Литература

1. Agar N. *Life's Intrinsic Value: Science, Ethics, and Nature*, New York: Columbia University Press, USA, 2001.
2. Čupić V., Katananovski D., Popović N., Palić T. *Osnovi biologije kliničke patologije i terapije nedomestifikovanih kućnih ljubimaca*. Beograd, 1999.
3. Enqi L., Jianglin F. *Fundamentals of laboratory animal science*, CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, USA, 2018.
4. Flecknell P.A., Avril W.P. *Pain Management in Animals*, Philadelphia: WB Saunders, 2000.
5. Hedrich H.J. *The Laboratory Mouse*, Elsevier Academic Press, Boston, MA, USA, 2012.
6. Kanački Z. *Praktikum iz Fiziologije 1*, Poljoprivredni fakultet u Novom Sadu, 2014.
7. Kanački Z. *Praktikum iz Fiziologije 2*, Poljoprivredni fakultet u Novom Sadu, 2015.
8. Kanački Z., Pajić M. *Veterinarska etika*, Poljoprivredni fakultet u Novom Sadu, 2019.
9. Liu E. *Animal Models of Human Diseases*, Second Edition. People's Health Publishing House, Beijing, China, 2014.
10. Liu E. *Laboratory Animal Genetics and Breeding*, Gansu Nationalities Publishing House, Gansu, China, 2002.
11. Liu E., Yin H., Gu W. *Medical Laboratory Animals*, Science Press, Beijing, China, 2008.
12. Manning P.J., Ringler D.H., Newcomer C.E. *The Biology of the Laboratory Rabbits*, Academic Press Inc., San Diego, USA, 1994.
13. Muminović M., Mujezinović I., Smajlović A., Velić R., Omeragić J. *Uzgoj, bolesti i terapija laboratorijskih životinja*, Veterinarski fakultet Sarajevo, BiH, 2006.
14. National Research Council (US) Subcommittee on Laboratory Animal Nutrition. *Nutrient Requirements of Laboratory Animals*, Fourth Edition, National Academies Press, Washington, DC, USA, 1995.
15. National Research Council Laboratory Animal Management. *Rodents*, National Academy Press, Washington, USA, 1996.
16. National Research Council. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animal*, Eighth Edition, National Academy Press, Washington, USA, 2011.
17. National Research Council. *Recognition and Alleviation of Pain and Distress in Laboratory Animal*, Washington: National Academy Press, USA, 1992.
18. Peter M. Rabinowitz, Rafael Y. Lefkowitz, Lisa A. Conti, Carrie A. Redlich, Benjamin J. Weigler. *Occupational Health of Laboratory Animal Workers* (Chapter 30). In: James G. Fox, Lynn C. Anderson, Glen M. Otto, Kathleen R. Pritchett-Corning, Mark T. Whary (eds). *Laboratory Animal Medicine Academic Press* (Third Edition), 2015:1381-1402.
19. Qin C, Wei H. *Laboratory Animal Science*, Second Edition. People's Medical Publishing House, Beijing, China, 2015.
20. Regan T. *The Case for Animal Rights*. New York: Basil Blackwell, USA, 1985.
21. Russell W.M.S., Burch R.L. *The Principles of Humane Experimental Technique*, Methuen, London, UK, 1959.

22. Sharp P.E., LaRegina M.C. *The Laboratory Rat*, CRC Press, New York, USA, 1998.
23. Singer P. *Animal Liberation: A New Ethics for Our Treatment of Animals*, Random House, New York, 1975.
24. Stevanović, Đ. *Biologija i patologija gajenja laboratorijskih životinja*, Dr Stevanović, Beograd, 2003.
25. Stevanović, Đ. *Metode i tehnike eksperimentalnog rada sa laboratorijskim životinjama*, Dr Stevanović, Beograd, 2004.
26. Stevanović, Đ. *Osnovi nauke o laboratorijskim životinjama*, Dr Stevanović, Beograd, 2002.
27. Suchow M.A., Weisbroth S.H., Franklin C.L. *The Laboratory Rat*, Elsevier Academic Press, San Diego, USA, 2006.
28. Suckow M.A., Stevens K.A., Wilson R.P. *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents*, Elsevier Academic Press, Boston, MA, USA, 2012.
29. Van Zutphen L.F.M., Baumans V., Beynen A.C. *Principles of Laboratory Animal Science*, Second Edition. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, Netherlands, 2001.
30. Vučinić, M., Todorović, Z. (urednici) *Eksperimentalne životinje i eksperimentalni modeli*, Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Medicinski fakultet, Farmaceutski fakultet, Beograd, 2010.
31. Wolfensohn S., Lloyd M. *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare, 4th Edition*, Wiley-Blackwell, UK, 2013.

## О ауторима

**Проф. др Зденко Каначки** рођен је 15. августа 1977. године у Панчеву, где је завршио основну школу и гимназију. На Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду уписао се 1996. године, а дипломирао 2002. године са просеком 9,70 и проглашен за најбољег студента генерације. Последипломске, магистарске студије уписао је на Пољопривредном факултету Универзитета у Новом Саду 2002. године, а магистарску тезу одбранио је 2006. године. Докторску дисертацију одбранио је 2011. године на Пољопривредном факултету Универзитета у Новом Саду. Као студент постиптомац и стипендиста Министарства за науку и технолошки развој Републике Србије укључен је у наставни процес и научноистраживачки рад на Пољопривредном факултету Универзитета у Новом Саду. Од 2004. године запослен је на Пољопривредном факултету Универзитета у Новом Саду, на Департману за ветеринарску медицину, у звању асистента приправника. У звање асистента изабран је 2009. године, у звање доцента 2011. године, а у звање ванредног професора за ужу научну област Анатомија, хистологија и физиологија животиња 2016. године. До сада је објавио више од 100 научноистраживачких радова, два практикума и један уџбеник. Као истраживач учествовао је у реализацији шест пројеката. Био је члан и председник је Етичке комисије за заштиту добробити огледних животиња Универзитета у Новом Саду.

**Проф. др Исидора Самојлик** рођена је 1971. године у Новом Саду, где је завршила основну и средњу школу. На Медицински факултет Универзитета у Новом Саду уписала се 1990. године и дипломирала 1996. године. На истом факултету, после успешно завршених магистарских и докторских студија, одбранила је магистарску тезу 2001. године и докторску дисертацију 2008. године. Запослена на Катедри за фармакологију, токсикологију и клиничку фармакологију Медицинског факултета у Новом Саду. Оснивач је и руководилац изборног предмета Огледне животиње и експериментална фармакологија у медицинским истраживањима за студенте медицине и стоматологије, одн. Огледне животиње и експериментални модели за студенте фармације. Била је ментор у изради и одбрани једне докторске дисертације и више мастер радова студената, као и члан у бројним комисијама за одбрану мастер радова и докторских дисертација на Медицинском факултету у Новом Саду. Аутор је и коаутор два факултетска уџбеника, бројних радова и рецензија, као и саопштења на стручним и научним скуповима у земљи и иностранству. До сада је била учесник четири републичка и два покрајинска дугорочна научноистраживачка пројекта. Била је дугогодишњи члан Етичке комисије за заштиту добробити огледних животиња Универзитета у Новом Саду, а у периоду 2013–2016. године била је њен председник, када је 2015. године на Универзитету у Новом Саду организовала обуку Основе рада са огледним животињама.



ISBN: 978-86-7520-514-2

