

# 1. Etické zásady provádění experimentů na zvířatech

Dana Bučková

Užití zvířat v experimentu je úzce svázáno a rozvojem lékařské vědy. Již ve starověkém Řecku byly prováděny pokusy na zvířatech k objasnění některých fyziologických otázek (Corpus Hippocraticum, 400 let př.n.l). Výrazný rozvoj vědy přineslo ovšem až období renesance. Právě z této doby se zachovalo mnoho údajů o experimentální práci na zvířatech (Anatomica de Motu Cordis et Sanguinis in Animalibus, Exercitatio, 1628).

V 18. století pak vzniká první hnutí proti pokusům na zvířatech (Introduction to the Principles of Moral and Legislation, 1789), které nabývá výrazných rozměrů ve Viktoriánské Anglii v 19. století a vede k založení první anti-vivisekcionistické organizace „The Victoria Street Society“. V roce 1876 je také v Anglii přijat první zákon na ochranu pokusných zvířat pod názvem „Cruelty to Animals Act“.

Objevení anestetik v první polovině 19. století přineslo velký pokrok v oblasti experimentů, neboť umožnilo provádět bolestivé zákroky na zvířatech až po znecitlivění. Význam pokusů na zvířatech zdůraznil v roce 1865 ve své knize „Úvod do studia experimentální medicíny“ Claude Bernard (1813-1878), profesor všeobecné experimentální fyziologie v College de France. V jeho knize je již popsán experiment v pravém slova smyslu, jak jej známe dnes.

Jestliže se koncem 19. století začíná objevovat pokusné zvíře jako zvíře „sui generis“, ve 20. století jsou již zakládány chovy laboratorních zvířat, tzn. zvířat chovaných pouze pro laboratorní účely. V období mezi I. a II. světovou válkou jsou odchovány inbrední kmeny myší, potkanů a morčat, které znamenají velký přínos pro experimentální práci, která byla do té doby prováděna na geneticky nehomogenních a nespecifikovaných zvířatech. V této době je již běžně používán termín „laboratorní zvíře“. S rozvojem experimentů a chovů pro tyto účely souvisí potřeba omezit nebo odstranit nehumánní aspekty práce se zvířaty.

V roce 1959 byla definována biology Williamem Russellem a Rexem Burchem, v knize „Principy humánních experimentálních technik“ (Principles of Humane Experimental Technique) tzv. koncepce tří „R“, která dnes patří mezi hlavní zásady odpovědného a rozumného užití zvířat v pokuse. Tři „R“ jsou navíc přijímány řadou ochranných organizací. Tato přesná a srozumitelná formulace zásad pro užití zvířat v experimentu byla velkým přínosem při formulaci legislativy v celé řadě zemí, zákon ČNR 246/92 Sb. (v úplném znění 167/93) nevyjímaje.

Tři „R“ jsou počáteční písmena anglických slov: Reduction, Refinement, Replacement:

### 1. Reduction – Snižování

Jakýkoli postup, který vede k dosažení stejného množství informací za použití nižšího počtu zvířat nebo k maximalizování získaných informací z jednoho zvířete.

### 2. Refinement – Zmírňování

Výraz "zmírňování" znamená upravení všech procedur, které zasahují do života laboratorního zvířete od jeho narození až po jeho smrt. Tím se minimalizuje bolest a utrpení, které zvíře prožívá, a pozvedá úroveň jeho života.

### 3. Replacement – Nahrazování

Náhrada zvířat v pokusech technikami „in vitro“, videozáznamem, filmy, matematickými modely atd. Zvířata mohou být nahrazována těmito alternativami, pokud je dosažený výsledek na stejné nebo vyšší kvalitativní úrovni ve srovnání s pokusem na zvířeti.

Tři „R“ k naplnění svého obsahu vyžadují značný obsah znalostí a praktických zkušeností získaných odpovídajícím vzděláním a praxí. Tím jsou splněny podmínky nejen pro odpovídající kvalitu prováděného výzkumu, ale i pro odpovědné užití laboratorních zvířat. Odpovídající vzdělání je vyžadováno i Radou Evropy v konvenci na ochranu obratlovců užívaných pro experimentální a vědecké účely z roku 1985. Je zde uvedeno, že osoby provádějící experimenty, nebo se jich účastníci, musí mít odpovídající vzdělání a výcvik. Ve stejném smyslu hovoří i US Animal Welfare Act z roku 1986. Také zákon ČNR 167/93 vymezuje v §17 nutnost odpovídajícího vzdělání pro pracovníky, kteří řídí a kontrolují experimenty.

Podmínky použití zvířat k pokusným účelům v ČR upravuje zákon č.246/1992 na ochranu zvířat proti týrání (ve znění zákona 162/1993 Sb., 167/1993 Sb., 77/2004 Sb.) a vyhláška ministerstva zemědělství č.311/1997 Sb. o chovu a využití pokusných zvířat. Tyto zákony stanovují podmínky pro ochranu zvířat v hospodářských a zájmových chovech, volně žijících a pokusných zvířat. V části zákona pojednávající o podmínkách chovu a ochrany pokusných zvířat jsou zahrnuty níže uvedené body (zkrácené znění):

## **Účel zákona**

Účelem zákona je chránit zvířata, jež jsou živými tvory schopnými pociťovat bolest a utrpení, před týráním, poškozováním jejich zdraví a jejich usmrcením bez důvodu, pokud byly způsobeny buď i z nedbalosti člověkem.

## **Ochrana pokusných zvířat**

Za pokusy na zvířatech se považují:

- ověření vědecké domněnky a získání nových poznatků
- stanovení diagnózy
- vývoj a ověření biologického produktu včetně zjištění jeho účinku a získání výrobku tohoto charakteru
- testování

- použití zvířete v rámci pokusného zkoumání jeho reakcí
- výuky

Pokusy se smějí provádět jen na pracovištích, kterým bylo Ústřední komisí pro ochranu zvířat uděleno oprávnění (akreditace), mají potřebné odborně způsobilé pracovníky a zařízení vyhovující pro příslušný druh a množství pokusných zvířat (zvířetník). Pokusy mohou být povoleny pouze po ověření, že při současném stavu nelze zajistit poznatky nebo jejich využití jinými metodami a způsob provedení musí být eticky opodstatněn.

Opodstatněné důvody experimentu na zvířeti:

- poznání, prevence a léčba nemocí, studium fyziologických stavů a funkcí člověka nebo zvířete
- studium poškození zevního prostředí
- základní a vyhledávací výzkum
- ověřování nezávadnosti látek
- výroba sér, očkovacích látek, diagnostických souprav, jiných biologických materiálů a léků
- zachování a rozmnožování živého materiálu pro vědecké účely
- výuka na středních a vysokých školách, v postgraduálním studiu především v oblasti medicíny a přírodních věd, pokud nelze účelu dosáhnout jinak.

Pokusy se musí provádět na zvířatech k těmto účelům chovaným, odpovídajících kvalitou, definovaných a standardizovaných z hlediska genetického, zdravotního stavu a podmínek jejich životního prostředí. Toulavá a zaběhlá domácí zvířata nesmějí být k pokusům používána. Osoby provádějící pokusy na zvířatech jsou povinny zabezpečit, aby nebyla zvířeti působena bolest většího rozsahu než je nevyhnutelné vzhledem k účelu pokusu, provádět pokusy v místním nebo celkovém znecitlivění (ledaže by účel pokusu anestézii vylučoval), používat zvířata k pokusům pouze jedenkrát, pokud není opakování součástí pokusu, zajistit přiměřenou péči o zvířata, připravovat a plánovat pokusy předem, snažit se minimalizovat množství potřebných zvířat a provádět usmrcování zvířat bez utrpení a bolesti (důvodem k usmrcení zvířete je ukončení pokusu na pokusném zvířeti). Řídit a kontrolovat pokusy na zvířatech jsou oprávněni lékaři, veterináři a osoby s jiným vysokoškolským vzděláním biologického směru, pokud k tomu mají potřebné zkušenosti a osvědčení příslušným orgánem ochrany zvířat.

Orgány ochrany zvířat

- ministerstvo
- ústřední komise (jmenuje ministr zemědělství po dohodě s ministrem životního prostředí)
- orgány veterinární správy (městské, krajské)
- ústřední orgány státní správy a Akademie věd České republiky
- odborné komise jednotlivých pracovišť.

V dalších částech zákona jsou specifikovány podmínky pro chovná a uživatelská zařízení,

podmínky péče o zvířata, podmínky využití zvířat, evidence zvířat, složení a činnost odborných komisí, atd.

## 2. Bezpečnost práce v praktických cvičeních ústavu patologické fyziologie

Šárka Kuchtíčková

### 1. Laboratorní řád

#### a) Obecná pravidla

Posluchači jsou povinni chodit na cvičení včas, podle rozvrhu praktických cvičení.

Posluchač je povinen dbát pokynů vyučujícího k bezpečné práci v laboratoři.

Během pobytu v laboratoři musí mít posluchač pracovní plášť, popřípadě vhodnou pracovní obuv. Pokud to vyžaduje charakter práce i ochranné brýle, štít a rukavice.

K práci používá posluchač vyhrazený prostor a přidělené pracovní pomůcky, za něž osobně odpovídá.

Z osobních věcí si do laboratoře posluchač přináší pouze pracovní deník, psací potřeby a skripta.

Po ukončení práce posluchač uvede své pracoviště do původního stavu, umyje a odevzdá svěřené pomůcky.

V laboratoři smí posluchač vykonávat jen práce související s náplní cvičení pod dohledem asistentů.

V laboratoři je zakázáno jíst, pít a kouřit.

Každé poranění nahlásí posluchač vyučujícímu.

Posluchač je povinen třídit odpad podle pokynů vyučujícího.

#### b) Práce v chemické laboratoři

Všechny manipulace s látkami dýmavými, dráždivými, těkavými, zdraví škodlivými je nutné provádět v digestoři.

Při práci s hořlavými kapalinami je nezbytné vypnout v okolí do bezpečné vzdálenosti všechny zdroje plamene.

Posluchačům je zakázáno odnášet cokoli z prostorů laboratoří.

Po ukončení pokusu je třeba zkontrolovat uzavření plynu, vody a vypnout všechny elektrické spotřebiče. Rovněž je třeba zkontrolovat, zda jsou uzavřeny nádoby s chemikáliemi, zvláště těmi,

se kterými se pracovalo.

### **c) Práce s biologickým materiálem a laboratorními zvířaty:**

Všichni posluchači jsou povinni být očkováni proti tetanu a hepatitidě typu B.

Všechny práce spojené s prací s laboratorními zvířaty musí posluchač vykonávat po seznámení s pracovním protokolem a pod dohledem asistenta.

Při manipulaci s laboratorním zvířetem u tohoto nevyvolávat nešetrným a agresivním zacházením stres.

Při práci s biologickým materiálem jsou posluchači povinni používat ochranné rukavice a další ochranné pomůcky dle instrukcí vyučujícího.

Tekutý odpad je shromažďován do určených nádob nebo výlivek. Pevný odpad je shromažďován ve speciálním kontejneru umístěném v laboratoři.

### **d) První pomoc při úrazech**

Každé zranění, úraz i nevolnost je třeba ihned ohlásit vyučujícímu.

Poranění se evidují do deníku úrazů.

#### **Zasažení kyselinami a hydroxidy**

Postižené místo ihned opláchneme velkým množstvím tekoucí vody a u kyselin neutralizujeme 2% roztokem hydrogenuhličitanu sodného. K neutralizaci postiženého místa u hydroxidů použijeme 1% roztok kyseliny octové nebo 2% roztok kyseliny borité.

#### **Poranění očí leptajícími látkami**

Oči ihned důkladně opláchnout velkým množstvím vody. Neutralizaci u očí neprovádíme. Přiložíme sterilní krytí. Toto zranění si vyžaduje odborného lékaře.

#### **Požítí kyselin**

Co nejdříve postiženému podat neutralizační prostředek ( suspenze oxidu hořečnatého v ledové vodě) a ihned vyvolat zvracení. Vyhledat lékařskou pomoc.

#### **Požítí hydroxidů**

Postiženému podáme co nejrychleji vypít větší množství 1% kyseliny octové, ledově ochlazené nebo větší množství citrónové šťávy. Pokusíme se rychle vyvolat zvracení. Vyhledáme odbornou pomoc.

#### **Požítí jiných látek**

Je nutné tyto látky co nejdříve dostat ze žaludku. Jako dávidlo může sloužit nasycený roztok kuchyňské soli. Je nutné vyhledat odbornou pomoc.

#### **Řezné a bodné rány**

Při tomto poranění necháme krev zprvu odtéci, tím se vyplaví nečistoty . Ránu ošetříme desinfekčním prostředkem, sterilně překryjeme. U ran většího rozsahu vyhledáme odbornou pomoc.

#### **Poranění očí**

Oko převážeme sterilním obvazem s měkkou podložkou, aby se zabránilo pohybu víčka a vyhledáme odbornou pomoc.

#### **Otrava jedovatými látkami a plyny bezvědomím**

Postiženého vyneseme na čerstvý vzduch a necháme ležet ve stabilizované poloze a vyčkáme příchodu lékaře. Je-li postižený v bezvědomí a nedýchá, zahájíme ihned umělé dýchání.

#### **Mdloba**

Postiženého uložíme v klidu, uvolníme těsný oděv. Je-li obličej rudý, podložíme hlavu mírně nahoru. Je-li bledý, uložíme hlavu mírně dolů a zvedneme nohy. Na čelo přikládáme studený obklad, zajistíme dostatečný přívod čerstvého vzduchu , kontrolujeme dech a srdeční činnost. Dle závažnosti voláme lékaře. V případě, že postižený nedýchá, zavádíme umělé dýchání.

#### **Úrazy elektrickým proudem**

Pokud se postižený stále dotýká elektrického vedení, je třeba nejdříve vypnout proud. V případě, že postižený nedýchá, zahájíme ihned umělé dýchání a neprodleně přivoláme lékařskou pomoc.

# 3. Laboratorní zvířata používaná v experimentu

Šárka Kuchtíčková

## 1. Typy kmenů

a) **Outbrední populace**

Každý jedinec takového souboru je geneticky jedinečný a tudíž odlišný od ostatních. Outbrední populace nejsou geneticky definované, i když mohou mít některé společné rysy (např. kmeny potkanů Wistar). Outbrední zvířata stejné kolonie mohou být geneticky rozdílná a naopak outbrední zvířata různých kolonií (tj. i různých jmen) mohou být geneticky podobná. Výhodou outbredních populací je vysoká produktivita, tedy i levnost a snadná dostupnost.

b) **Inbrední kmeny**

Inbrední kmen je produkci 20 a více páření bratr x sestra, kdy všichni jedinci jsou odvozeni od jediného páru. Generace F1, která vzniká křížením dvou inbredních kmenů, je také souborem geneticky totožných jedinců, kteří nejsou homozygotní, jsou heterozygotní ve všech lokusech, ve kterých se rodičovské kmeny liší.

c) **Kongenní a koisogenní kmeny**

Dva kmeny jsou koisogenní tehdy, jestliže se mezi sebou liší v jediném lokusu jako následek bodové mutace v diferenčním lokusu. Jejich výhodou je možnost exaktního studia biologických účinků tohoto lokusu.

Dva kmeny jsou kongenní tehdy, jestliže se liší v určitém lokusu a přilehlé malé části chromozomu. Kongenní kmeny jsou produktem opakovaných (obvykle nejméně 12) zpětných křížení.

d) **Rekombinantní inbrední kmeny**

Jsou odvozeny opakovaným sourozeneckým křížením od generace F2 dvou inbredních kmenů. Příslušníci rekombinantního kmene jsou pak opakováním jedné kombinace F2.

e) **Mutantní kmeny**

Tyto kmeny jsou nositelem definované mutace. Ta může být buď patologické povahy a takový kmen slouží jako biomodel nebo může jít o mutaci v rámci vnitrodruhového polymorfismu. Takový kmen pak slouží ke studiu charakteru a výzkumu polymorfismu ve sledovaném lokusu. V současné době lze získat kmeny s definovanou mutací v genomu - tzv. knock-out technologie.

f) **Transgenní kmeny**

Vznikají přenosem a integrací určitého sledovaného genu do genomu zygoty definovaného kmene. U vzniklých transgenních organismů je možno za definovaných podmínek studovat biologickou funkci přeneseného genu.

## 2. Rozdělení laboratorních zvířat z hlediska genetického



a) **Isogenní zvířata**, tj. geneticky identická ( kmeny inbrední a odvozené a F1 hybridy, vzniklé křížením inbredních kmenů)

b) **Neisogenní zvířata**, tj. geneticky neidentická ( outbrední kmeny a randombrední populace)

V první skupině se snažíme zajistit genetickou uniformitu zvířat, nejčastěji úzkou příbuzenskou plemenitbou (často za účelem fixace genu), v druhé skupině je cílem zachovat co největší genetickou heterogenitu vyloučením příbuzenské plemenitby.

### **3. Rozdělení laboratorních zvířat z hlediska mikrobiálního osídlení, resp. přítomnost či nepřítomnost patogenních zárodků.**

Konvenční zvířata obvykle chovaná v „otevřených“ zvěřincových zařízeních bez bariéry s neznámým a obvykle nekontrolovaným mikrobiálním osídlením, nebo kontrolou zaměřenou pouze na přítomnost zárodků přenosných na člověka.

SPF zvířata (specified pathogen free) nebo také za bariérou chovaná zvířata, která byla v izolátoru úmyslně osídlena definovanou mikroflórou, umístěna za bariéru a jsou kontrolována na přítomnost náhodně získaných nežádoucích mikroorganismů.

SPF technologie má odrážet průběžnou mikrobiální kontrolu v chovné kolonii s následnou specifikací přítomných a nepřítomných zárodků. Tento systém má vyloučit přítomnost specifikovaných (potenciálních) patogenních mikroorganismů.

Gnotobiologická zvířata získaná hysterektomií a chovaná v izolátoru bezmikrobní technologií, prokazatelně prostá všech dalších forem života (germ free nebo axenická), nebo záměrně osídlena jedním, dvěma či více mikroorganismy (mono-, di-, polyxemická zvířata).

# 4. Práce s laboratorními zvířaty. Příprava zvířete k pokusu.

Dana Bučková

## 1. Cíl

Seznámit se s manipulací s laboratorním zvířetem, provést anestézii, laparotomii a naučit se základní chirurgické techniky - suturu, ligaturu a kanylaci. Seznámit se s topografií orgánů dutiny břišní u laboratorního potkana.

## 2. Materiál a metody

Skleněné akvárium s víkem pro inhalační narkózu, inhalační anestetikum, váhy, anestetická směs (20 dílů 1% Narkamonu a 1 díl 2% Rometar), operační stolek, operační kazeta obsahující injekční stříkačky a jehly, nůžky, pinzety, peán, oční rozvěrač, šicí materiál, jehelec, chirurgické jehly, gázu a tampony, jodová tinktura.

## 3. Postup

Zvíře uchopíme palcem a ukazováčkem za ocas, vyzvedneme z klece hlavou dolů a rychle je umístíme do skleněného akvária.

### a) Anestézie

Na papírovou vatu na dně akvária nalijeme cca 20ml inhalačního anestetika a uzavřeme akvárium víkem. Nejprve pozorujeme excitaci, pak zvíře pomalu usíná. Můžeme pozorovat dilataci zornic, nystagmus, nepravidelné dýchání. S prohlubující se narkózou mizí nejprve víčkový, později rohokový reflex a zužují se zornice. Ve fázi chirurgické narkózy se zastavují pohyby hmatových chlupů na čenichu. V tomto stádiu je nutno vyjmout zvíře z akvária, aby nedošlo k dechové zástavě a smrti (varovnými příznaky je nepravidelné povrchní dýchání a dilatace zornic). Zvíře vyjmuté z akvária zvážíme a podle aktuální váhy zvířete vypočítáme dávku anestetika, která má být zvířeti podána.

### 0,5ml směsi Narkamon/Rometar na 100g váhy zvířete.

Vypočítanou dávku natáhneme do stříkačky, nasadíme jehlu a aplikujeme formou intraperitoneální injekce. Při aplikaci drží jeden student zvíře za kůži na hřbetě břichem nahoru a mírně natáhne druhou rukou dolní končetinu zvířete. Druhý student pak provede vpich skrze kůži a břišní stěnu mírně laterálně zhruba ve výši pupku. Po proniknutí do dutiny břišní se stříkačka sklopí a zavede ještě asi 1 – 2 cm do peritoneální dutiny a injikuje se celá dávka anestetika. Vyčkáme nástupu anestézie (cca 5 min) a poté zvíře fixujeme na operační stolek. V

případě potřeby můžeme v průběhu operačního výkonu prodlužovat narkózu přidáním 1/4 - 1/2 vypočtené dávky anestetika.

#### **b) Provedení laparotomie**

Při operačním zákroku se snažíme dodržet maximální čistotu. Zvíře fixujeme na operačním stolku v poloze na hřbetě. Nejprve připravíme operační pole - ostříháme srst v mediální části břicha od processus xiphoideus po symfýzu a desinfikujeme kůži jodovou tinkturou. Laparotomii provedeme ve dvou vrstvách. Operatér s asistentem nadzvednou pinzetami v mediální rovině v úrovni pupku příčně kožní řasu, kterou operatér nůžkami prostříhne a rozšíří operační řez kraniálně k processus xiphoideus a kaudálně k symfýze. Stejným postupem pronikneme přes břišní stěnu v linea alba. Okraje rány zarouškujeme a naložíme rozvěrač.

#### **c) Ligatura v. cava**

Nalezneme břišní aortu a podél ní probíhající v. cava inf. Jemnou tupou pinzetou opatrně oddělíme obě tyto cévy od sebe v místě odstupu aa. renales. Pomocí peanku tupě odpreparujeme v. cava od spodiny, opatrně podvlečeme pomocí zahnuté pinzety návlek a zauzlíme několika chirurgickými uzly.

#### **d) Kanylace v. jugularis**

Nůžkami rozstříhneme kraniokaudálně kůži cca 1 cm laterálně od manubrium sterni tak, aby byla viditelná v. jugularis externa v místě, kde se zanořuje pod m. pectoralis. Cévu nepreparujeme! Jehlu zavedeme kraniálně přes m. pectoralis do v. jugularis tak, aby hrot jehly při jejím mírném zvednutí lehce prosvítal tenkou stěnou žíly, tím se přesvědčíme o jejím správném zavedení. Do vény velmi pomalu aplikujeme požadovanou látku nebo fyziologický roztok.

#### **e) Sutura**

Operační ránu uzavřeme ve dvou vrstvách. K šití použijeme silonové vlákno, pro šití břišní stěny více zahnutou jehlu, pro šití kůže jehlu rovnější. Jehla je během šití fixována v jehelci. Nejprve šijeme stěnu břišní spolu s peritoneem, a to pokračovacím stehem, v tomto případě použijeme návlek délky cca 30 – 40 cm. První steh naložíme na kraniálním konci rány a uděláme dvakrát uzel na kratším konci vlákna. Dále pokračujeme delším vláknem, stehy klademe asi 0,5 cm od sebe, 2 – 3 mm od okraje rány. Jednotlivé stehy musí asistent operátora ihned dotahovat a nit mít pod neustálým napětím. Poslední steh neutahujeme a smyčku použijeme k zauzlení jako druhý konec.

Kožní řez šijeme jednotlivými stehy asi v 0,5 cm vzdálenostech. Uzly klademe při jednom okraji rány nad kůží (ne ve středu rány). Po skončení sutury ránu desinfikujeme jodovou tinkturou, zvíře umístíme do klece na břicho a necháme jej v klidu a teplém prostředí.

## **4. Závěr**

Stručný popis topografie břišní dutiny u potkana, popř. srovnání s topografií člověka.

# 5. Anestésie laboratorních zvířat

Šárka Kuchtíčková

## 1. Úvod

Nové poznatky a pokrok v lékařských i biologických vědách je trvale spojen s pokusy na laboratorních zvířatech.

V současné době se hledají a už i aplikují alternativní metody, aby se minimalizoval počet laboratorních zvířat uvedených do pokusů. Nicméně řada experimentů se bez zvířecího modelu neobejde.

Z toho důvodu volba vhodného druhu pokusného zvířete, správná manipulace s ním a především volba vhodného způsobu anestézie výrazně ovlivňuje jak průběh experimentální práce, tak její výsledky. Výběr vhodného způsobu anestésie závisí na celé řadě faktorů. Je nezbytné přihlídnout k:

1. Povaze chirurgického výkonu (zda se jedná o akutní nebo chronický pokus) a tomu i přizpůsobit hloubku anestézie a analgezie
2. Znalosti vlivu anestetik na sledované pokusné parametry
3. Druhově specifickým rozdílům v citlivosti a dávkování anestetik u jednotlivých druhů laboratorních zvířat
4. Technickému a personálnímu vybavení laboratoře

## 2. Příprava pokusného zvířete před anestésii

Velmi důležitým předpokladem úspěšného provedení celkové anestézie je zhodnocení zdravotního stavu pokusného zvířete.

K zamezení předoperačních i pooperačních komplikací, zejména zvracení, a k odlehčení zažívacího traktu a krevního oběhu je vhodné, aby zvířeti před pokusem byla na určitý časový úsek odejmuta potrava. Voda musí být samozřejmě k dispozici a je eventuálně odejmuta až těsně před pokusem.

Pozor! U malých laboratorních zvířat je dlouhodobé hladovění spojeno s nebezpečím vzniku hypoglykémie a acidózy.

### *Úprava stavu hydratace*

Zjistíme-li příznaky dehydratace, provádíme infuzní terapii krystaloidními roztoky v dávce 10ml/kg/hod. V případě nedostupnosti žíly můžeme podat subkutánně depo Ringerova roztoku v dávce 20-30ml/kg. Takováto zvířata do pokusů nezačleňujeme. Naopak sledujeme jejich

zdravotní stav a pokračujeme v terapii.

### ***Premedikace***

K zabránění výskytu bradykardie, bronchospasmu a k omezení slinné sekrece podáváme atropin v druhově specifických dávkách, 10-15 minut před zavedením samotné anestézie.

### ***Sedace***

K snadnější manipulaci se zvířetem, nebolestivým výkonům a zklidnění potenciální agresivity nebo k premedikaci před celkovou anestézií můžeme použít některá sedativ (propionylpromazin, dehydrobenzperidol, xylazin)

### **Celková anestézie**

V zásadě rozeznáváme dva způsoby celkové anestézie.

1. Injekční anestézie, při které je v tekutině rozpuštěné anestetikum injikováno intravenózně, intramuskulárně, subkutánně nebo intraperitoneálně.
2. Inhalační anestézie, při které jsou vdechována za pomoci inhalačních zařízení plynná nebo tekutá anestetika.

## **3. Injekční anestézie**

Jako vstupní cestu do organismu můžeme volit intravenózní – i.v., subkutánní-s.c., intramuskulární-i.m. nebo intraperitoneální – i.p. aplikaci. Způsob podání je pak rozhodující v dávkování, rychlosti a nástupu účinku i pro jeho délku. Při i.m., s.c. nebo i.p. injekci dochází k aktivní resorpci anestetika tkáněmi nebo přes peritoneum. Rychlost resorpce je závislá od způsobu aplikace, od místa aplikace, a od stavu krevního oběhu. Při i.v. injekci se dostává anestetikum přímo do krevního oběhu a odtud do CNS.

### ***Subkutánní aplikace***

Provádíme do volných tkání krku, mezi lopatky nebo stěny hrudní. Resorpce farmaka je opožděná. Tento způsob aplikace je používán při premedikaci anebo k podání depot tekutin při úpravě stavu hydratace.

### ***Intramuskulární aplikace***

Je velmi často používaná k anestézii laboratorních zvířat, zejména králíků a morčat. Dáváme přednost aplikaci do musculus quadriceps nebo do musculus gastrocnemius hluboko do stehenní svaloviny.

### ***Intraperitoneální aplikace***

Tento způsob anestézie je výlučně prováděn u malých hlodavců. Zvíře přitom držíme v šikmé poloze hlavou dolů a injikujeme do horního kvadrantu hypogastria. Je možný ještě jeden způsob podání farmak intraperitoneálně za pomoci asistenta, a to tak, že premedikované zvíře uchopíme za volnou kůži na krku bříškem nahoru, mírně natáhneme zadní nožičky, čímž napneme břišní stěnu a poté aplikujeme injekčně farmaka skrze kůži a břišní stěnu mírně laterálně zhruba ve výši pupku kolmo na stěnu. Po proniknutí do břišní dutiny se jehla sklopí a zavede asi 1 cm a provádíme vlastní aplikaci. Při tomto podávání anestézie musíme brát v potaz velikost a uložení

jater, která by mohla být nesprávně vedeným vpichem poškozena. Tento způsob aplikace náleží zkušeným experimentátorům.

### ***Intravenózní aplikace***

Farmaka aplikujeme do povrchově ležících vén zvířete. U králíka používáme véna antebrachii nebo vena saphena, velmi dobře přístupná je véna marginalis auricularis.

U morčete je punkce obtížná. V úvahu přichází ušní véna nebo véna antebrachii. U některých druhů laboratorních zvířat připadají k úvahu pro aplikaci ocasní vény. U laboratorního potkana připadá v úvahu ocasní véna. Úspěch aplikace do těchto cév je závislý na zručnosti a zkušenosti experimentátora, proto raději volíme jiný způsob podání anestézie.

### ***Manipulace a imobilizace laboratorních zvířat, způsoby podání farmak.***

#### **Myš laboratorní (*Mus musculus var. alba*)**

Myš zvedáme z boxu za kořen ocasu a ihned ji pokládáme na drsnou podložku. Jestliže ji uchopíme pouze za špičku ocasu, začne po něm šplhat a může nás kousnout. K intraperitoneální aplikaci uchopíme myš za volnou kůži v šijové krajině palcem a ukazovákem a ocas držíme mezi čtvrtým a pátým prstem. Zvíře pak obrátíme do polohy na zádech. S myší manipulujeme velmi jemně. Hrubé zacházení vyvolá stres, který může modifikovat následný účinek anestetik a mění tak spolehlivost pokusu.

Nejčastěji podáváme anestetika ***intramuskulárně*** do svaloviny stehna nebo ***intraperitoneálně*** asi 2-3 mm laterálně od pupku. ***Intravenózní injekce*** vyžaduje značnou zručnost a praxi. K punkci užíváme nejčastěji laterální ocasní vénu nebo dorzální metatarzální vénu. Přístup k véně usnadní správné držení, ohřátí myši pod infračervenou lampou a ponoření ocasu do vody teplé 40-50°C na jednu až dvě minuty. Při opakovaném podávání je třeba cévu preparovat a kanylovat.

#### **Laboratorní potkan (*Rattus norvegicus var. alba*)**

S potkanem je třeba manipulovat klidně a bez váhání, protože při zkusmých trhavých pohybech rukou se potkan snadno poleká, cítí se ohrožen a může zaútočit. Při přenášení držíme potkana palcem a ukazovákem levé ruky za ocas, asi v polovině jeho délky, rychle vyzvedneme z klece s hlavou visící dolů a položíme na podložku nebo pravé stehno. Nyní palcem a ukazovákem pravé ruky uchopíme zvíře za volnou kůži v krajině šíje a přetočíme na záda. Jestliže potkana uchopíme pouze za ocas, má tendenci podobně jako myš po ocase šplhat a mohl by nás nepříjemně pokousat.

Při druhé metodě uchopíme zvíře dlaní pravé ruky přes hřbet s palcem kolem krku a pod bradou tak, že nás nemůže v žádném případě kousnout. U zlých, divokých nebo nemocných potkanů používáme kožené rukavice. Při punkci ocasní žíly můžeme potkana zabalit do roušky nebo ručníku, lze použít i speciální odchyťový a odběrový box.

***Subkutánní injekce*** podáváme do volné kůže v oblasti šíje, ***intramuskulární injekce*** do skupiny stehenního svalstva. ***Intraperitoneální aplikaci*** podáváme zvířeti v poloze na zádech.

*Zvíře přitom držíme v šikmé poloze hlavou dolů a injikujeme do horního kvadrantu hypogastria. Je možný ještě jeden způsob podání farmak intraperitoneálně za pomoci asistenta a to tak, že premedikované zvíře uchopíme za volnou kůži na krku bříškem nahoru, mírně natáhneme zadní nožičky, čímž napneme břišní stěnu a poté aplikujeme injekčně farmaka skrze kůži a břišní stěnu mírně laterálně zhruba ve výši pupku kolmo na stěnu. Po proniknutí do břišní dutiny se jehla sklopí a zavede asi 1 cm a provádíme vlastní aplikaci. Při tomto podávání*

*anestézie musíme brát v potaz velikost a uložení jater, která by mohla být nesprávně vedeným vpichem poškozena. Tento způsob aplikace náleží zkušeným experimentátorům.*

Pro **intravenózní aplikaci** používáme nejčastěji ocasní vény. Tato je u mladých jedinců snadno přístupná, protože kůže na ocase není zrohovatělá. U starších jedinců je třeba tyto zrohovatělé vrstvy odstranit a ponořit ocásek do teplé vody, aby se žíla dilatovala. Úspěch aplikace do těchto cév je závislý na zručnosti a zkušenosti experimentátora. Při opakovaném podávání je třeba cévu preparovat a zakanylovat.

### **Morče (*Cavia porcellus*)**

Manipulace s morčetem je velmi snadná. Morče uchopíme zezadu palcem a ukazovákem kolem krčních partií a ostatní prsty ho svírají kolem hrudníku. Přední končetiny morčete vyčnívají mezi našimi prsty. Druhou rukou podpíráme jeho zadní část.

**Intravenózní aplikace** farmak u morčete je poměrně obtížná. Je závislá na praxi a zkušenosti experimentátora. V úvahu připadá ušní marginální véna po předchozím tření boltce ukazovákem a palcem a po dilataci xylenem. Dále je k dispozici véna cephalica a dorzální metatarzální véna. Použití intraperitoneální cesty podání anestetik je u morčete pro malou vzdálenost mezi stěnou břišní a břišními orgány dosti riskantní. Především hrozí poranění jater a močového měchýře. **Subkutánní injekce** se používá zřídka, většinou pro premedikaci a doplnění depot tekutin. Kůži hřbetu morčete je obtížné shrnout v řasu. **Intramuskulární injekce** se podává do svaloviny stehna a tato aplikace je nejrozšířenější.

### **Králík (*Oryctolagus cuniculus*)**

Většina králíků je krotká a neagresivní, ale mohou se vyskytnout jedinci, kteří škrábou, koušou nebo kopou. Při nešetrné manipulaci se uvolňují katecholaminy do oběhu v masivním množství, což činí králíka citlivějším na srdeční arytmie a ohrožuje se tak průběh anestézie, dále prudké vymrštění zadních nohou může vést k fraktuře páteře s následnou ireverzibilní paralýzou končetin.

Ke zvířeti v boxu nebo kotci proto přistupujeme klidně, poklepáváme jemně prsty nad jeho hlavou a ušima a před zvednutím k němu promlouváme klidným monotónním hlasem. Jednou rukou uchopíme králíka za volnou kůži o oblasti lopatek, zatímco druhou ruku ho hladíme podél hřbetu až sklouzneme pod jeho zadní končetiny. Teprve potom vyzvedneme králíka z boxu a přitiskneme k tělu. Králíka nikdy nepokládáme na kluzkou podložku, kde je značně nejistý a podléhá panice. **Intramuskulární aplikace** se provádí hluboko do stehenní svaloviny musculus quadriceps a musculus gastrocnemius nebo do musculus humeri přední končetiny. **Subkutánní injekce** aplikujeme do volné kůže v oblasti lopatky. Kůže je zde velmi volná a snadno se z ní vytvoří kožní řasa. **Intravenózní injekce** podáváme nejčastěji do marginální žíly. Asistent stojí za králíkem a palci drží ucho skloněné směrem k anesteziologovi. Zadní část těla zvířete se přitom opírá o jeho hrudník. Svými předloktími pak asistent fixuje králíka po obou stranách. Oběma prsty působí kompresi marginální ušní žíly při bázi ucha. Místo vpichu volíme co nejdál, abychom v případě neúspěšného pokusu mohli provést další punkci o něco proximálněji. V laboratořích, kde se s králíky rutinně manipuluje, je často k dispozici odběrový box, který umožní zafixování králíka a snadnou manipulaci s ním i jedné osobě.

### **Přehled injekční anestézie u jednotlivých laboratorních zvířat.**



## **MYŠ**

### Sedace:

Dehydrobenzperidol 3mg /kg i.m.; délka účinku 60 minut

### Injekční anestézie:

Ketamin 100mg/kg i.m.,i.p. + xylazin 16 mg/kg i.m., i.p. , délka chirurgického stadia anestezie 90 minut = 0,1-0,2 ml/10g ž.v.i.p.

Ketamin 200mg/kg i.m., i.p.

Ketamin 200mg/kg i.m. + diazepam 5 mg/kg i.m.

## **LABORATORNÍ POTKAN**

### Sedace:

Dehydrobenzperidol 0,8 mg/kg i.m.

Diazepam 2,5 mg/kg i.m.

Atropin 0,05mg/kg s.c., i.m. 30 minut před výkonem k minimalizaci slinné a bronchiální sekrece (zvláště u anestézie diethyletherem a ketaminem)

### Injekční anestézie:

Pentobarbital 20mg/kg i.p.

Ketamin 100mg/kg i.m.,i.p. + xylazin 16 mg/kg i.m., i.p. = 0,5 ml/100g ž.v.i.p.. Nevýhodou je zvýšená diuréza. Délka účinku 60 – 90 minut.

## **MORČE**

### Sedace:

Xylazin 4mg/kg i.m., délka účinku 10-15 minut, dosažená sedace je velmi slabá. Hrozí zvracení.

### Injekční anestézie:

Ketamin 150 mg/kg i.m. + xylazin 5 mg/kg i.m., délka chirurgického stadia anestézie 40 minut. Spánek po anestezii 2-4 hodiny.

## **KRÁLÍK**

### Sedace:

Diazepam 5-10 mg/kg i.m., délka účinku 3-4 hodiny, mírná sedace.Vhodné i k premedaci ke ketaminové anestézii.

### Injekční anestezie:

Ketamin 50-70 mg/kg i.m. + xylazin 4- 5 mg /kg i.m. K prodloužení anestézie je možno ketamin/xylazin zředit fyziologickým roztokem v poměru 1:3. Délka chirurgického stadia anestézie kolísá od 45-60 minut, spánek po anestézii 45-75 minut.

Pentobarbital 25-40 mg/kg i.v., malá terapeutická šíře, možnost výskytu dechové deprese.

Thiopental 25-30 mg/kg i.v., stadium lehké chirurgické anestézie 10-20 minut.

## **4. Inhalační anestézie**

Představuje u zdravého zvířete nejlépe říditelnou celkovou anestézii a je v principu proveditelná u všech druhů laboratorních zvířat.Její nejjednodušší provedení spočívá ve vdechování par



anestetik v boxu.

Dále lze pokračovat maskou a pro nejlepší zajištění dýchacích cest v průběhu inhalační anestézie je tracheální intubace, popřípadě u akutních stavů tracheostomie.

Nejčastěji používaným inhalačním anestetikem je diethylether, halotan a methoxyfluran.

Anestézii můžeme udržovat pomocí směsi oxidu dusného a kyslíku v poměru 1:1 a 0,5-1% koncentrací methoxyfluranu.

Malou nevýhodou inhalační anestézie je ten fakt, že zvířata v inhalačních boxech reflexivně zadržují dech, a tím pádem může dojít k řadě komplikací souvisejících s respiračním a oběhovým systémem.

### **Resuscitace**

Během aplikace anestetik může dojít u vybraných skupin laboratorních zvířat ke komplikacím. Jedná se většinou o zástavu dechu.

Při intravenózním podání barbiturátů k tomuto dochází u králíků. Vytažením jazyka zprůchodníme dýchací cesty a jemnou masáží hrudníku a břicha se pokoušíme nastartovat respiraci. Při déletrvajícím zástavě dýchání musíme králíka zaintubovat a řízeně ventilovat čistým kyslíkem.

Podobné je to u laboratorního potkana při inhalační anestézii v boxu. Cyanóza sliznic, uší a v interdigitálních oblastech svědčí pro ohrožení respiračním selháním. Ihned musí následovat energická opatření, neboť potkani špatně tolerují apnoe a vzápětí nastává i srdeční zástava. Umělá respirace záleží na jemném foukání vzduchu nebo lépe čistého kyslíku do dutiny ústní za pomoci katetru. K obnově respirace u potkana může pomoci i jemná masáž hrudníku. Občas pomůže i houpání zvířete hlavou dolů.

### **Péče o laboratorní zvířata po celkové anestézii**

- Je nutné zajistit dokonalou ventilaci. Tracheální rourku odstraňujeme až po návratu polykacího reflexu.
- Dbát na udržování správné teploty těla, aby nedošlo k hypotermii. Používáme infračervené lampy nebo elektrické dečky. Teplotu zevního prostředí udržujeme na 25°C.
- Při delším přespávání měníme polohu
- Probouzející se zvířata by měla být izolována a chráněna před možností poranění a vzájemného napadení.
- Vodu k pití podáváme až po návratu do reflexní polohy.
- Po chirurgických výkonech dbáme na podávání malých dávek analgetik k profylaxi neurogenního šoku, k prohloubení dýchacích pohybů, ke zlepšení celkového stavu a v neposlední řadě z etických důvodů.

### **Euthanázie**

Euthanázie ke uspání zvířete s minimem jeho duševního a fyzického utrpení. Metody euthanázie dělíme na fyzikální a chemické. Výběr metody se řídí především druhem laboratorního zvířete, počtem zvířat určeným k euthanázii, důvodem k usmrcení a cílem následných vyšetření.

Mezi fyzikální metody patří a to zejména u malých hlodavců zlomení vazů a dekapitace. Jsou rychle proveditelné, ale méně estetické.

Z chemických metod je to podání injekčních nebo inhalačních anestetik, kterými zvíře předávkuje.

Jsou to barbituráty nebo speciálně k tomuto účelu určený připravený a komerčně dodávaný

kombinovaný přípravek T61. Z inhalačních anestetik se používá ether nebo halothan.

Příklady počítání dávek u laboratorních zvířat:

Laboratorní potkan váha 250 g Dávka 0,5 ml/100g

Výpočet:

Podání  $25:2=12,5$  .....**1,25 ml**

Králík váha 2,70 kg Dávka: Diazepam 5 -10mg/kg

Amp a 2ml 10mg/ml

**Podání 2,7 ml**

Dávka: Narkamon 5% 60mg/kg

Lag a 50 ml 50 mg/ml

Výpočet:  $2,7 \times 60\text{mg/kg} = 162:50(\text{mg/ml})=$  **3,24 ml z 5% Narkamonu**

Dávka: Rometar 2% 5 mg/kg

Lag a 50 ml 20mg/ml

Výpočet:  $2,7 \times 5\text{mg/kg} = 13,5 : 20(\text{mg/ml})=$  **0,67 ml z 2% Rometaru**

**Celkem ve stříkačce směs 3,24 ml 5% Narkamonu a 0,67 ml 2% Rometaru.**

# 6. Průměrné hodnoty nejčastěji sledovaných parametrů u dospělých laboratorních zvířat

Šárka Kuchtíčková

## 1. Laboratorní myš

|                           |                        |
|---------------------------|------------------------|
| Hmotnost                  | 20-90g                 |
| Teplota                   | 37,1 °C                |
| Srdeční frekvence         | 480-740 t/min          |
| Arteriální tlak krve      |                        |
| -systolický               | 95-140 mmHg            |
| -diastolický              | 20-90 mmHg             |
| Dechová frekvence         | 84-230 d/min           |
| Množství krve             | 7,6% tělesné hmotnosti |
| Doba srážení krve         | 1-3 min                |
| Počet erytrocytů          | 4,7-12,5 mil.mm-3      |
| Hematokrit                | 41%                    |
| Počet leukocytů           | 10 tis.mm-3            |
| - neutrofilní granulocyty | 20-30%                 |
| - bazofilní granulocyty   | 0-1%                   |
| - eozinofilní granulocyty | 0-1%                   |
| - lymfocyty               | 35-90%                 |
| - monocyty                | 0-3%                   |
| Počet trombocytů          | 350 tis.mm-3           |
| Hemoglobin                | 148g/l (105-160 g/l)   |

## 2. Laboratorní potkan

|                        |                         |
|------------------------|-------------------------|
| Hmotnost               | 200-500 g               |
| Teplota                | 37,3°C                  |
| Srdeční frekvence      | 260-600 min-1           |
| Dechová frekvence      | 66-210 min-1            |
| Arteriální krevní tlak |                         |
| - systolický           | 90-100 mmHg             |
| - diastolický          | 80 mmHg                 |
| Množství krve          | 5-8 % tělesné hmotnosti |
| Doba srážení krve      | 2-4 min                 |
| Počet erytrocytů       | 5,5-10 mil.mm-3         |
| Hematokrit             | 46%                     |
| Počet leukocytů        | 12,5 tis.mm-3           |

|                           |                      |
|---------------------------|----------------------|
| - neutrofilní granulocyty | 18-36%               |
| - bazofilní granulocyty   | 0-1%                 |
| - eozinofilní granulocyty | 1-4%                 |
| - lymfocyty               | 65-75%               |
| - monocyty                | 1-6%                 |
| Počet trombocytů          | 600 tis.mm-1         |
| Hemoglobin                | 145g/l (130-150 g/l) |

### 3. Laboratorní králík

|                           |                           |
|---------------------------|---------------------------|
| Hmotnost                  | 1,5-6 kg                  |
| Teplota                   | 38,5°C                    |
| Srdeční frekvence         | 180 min-1(130-300)        |
| Dechová frekvence         | 53 min-1(38-55)           |
| Množství krve             | 5% živé tělesné hmotnosti |
| Doba srážení krve         | 5-7 min                   |
| Počet erytrocytů          | 6,3 mil.mm-3              |
| Hematokrit                | 39,8%                     |
| Počet leukocytů           | 5,2-12 tis.mm-3           |
| - neutrofilní granulocyty | 8-50%                     |
| - eozinofilní granulocyty | 1-3%                      |
| - bazofilní granulocyty   | 1-8%                      |
| - lymfocyty               | 20-90%                    |
| - monocyty                | 1-4%                      |
| Počet trombocytů          | 0,130 – 1 mil.mm-3        |

# 7. Pomůcky

Šárka Kuchtíčková

## 1. Úvodní praktikum. Práce s laboratorním zvířetem

### Pomůcky:

Akvárium s víkem pro inhalační narkózu, váhy a závaží.

Ether pro narcosi, anestetická injekční směs ( 10 ml Narkamon 1% + 0,5 ml Rometar 2%).

Operační stůl, operační kazeta obsahující injekční stříkačky s jehlou pro narkózu a aplikaci farmak, nůžky, pinzety anatomické, peán, oční rozvěrač, šicí materiál, jehelec, chirurgické jehly, gázu a tampony.

Fyziologický roztok, jodová tinktura.

## 2. Alloxanový diabetes

### Fáze A: Vyvolání experimentálního diabetu

#### Pomůcky:

Akvárium s víkem pro inhalační narkózu, váhy a závaží .

Ether pro narcosi, anestetická injekční směs (10 ml Narkamon 1% + 0,5 ml Rometar 2%).

Roztok alloxanu ve fyziologickém roztoku (13mg/ml).

Operační stůl, operační kazeta obsahující injekční stříkačky s jehlou pro narkózu a aplikaci farmak, nůžky, pinzety anatomické, peán, šicí materiál, jehelec, chirurgické jehly a tampony.

Fyziologický roztok, jodová tinktura.

### Fáze B: Glukózový toleranční test

#### Pomůcky:

Akvárium s víkem pro inhalační narkózu, váhy a závaží.

Ether pro narcosi, anestetická injekční směs (10 ml Narkamon 1% + 0,5 ml Rometar 2%).

Roztok glukózy (20%).

Glukometr a reagenční proužky pro stanovení hladiny glukózy v krvi, reagenční proužky pro stanovení glukózy v moči ( MelliPhan, GlukoPhan, KetoPhan).

Alkohol pro desinfekci, žiletka, buničitá vata v přřezech, Petriho miska.

## 3. Anafylaktická reakce u králíka

### Fáze A: Senzibilizace laboratorního králíka

#### Pomůcky:

Koňské sérum, injekční jehla 22G(černá), injekční stříkačka 5 ml, dezinfekce (Septonex spray).

## **Fáze B: Sledování změn v krevním obraze po anafylaktické reakci**

### **Pomůcky:**

Koňské sérum, injekční jehla 22G(černá) a 21G(zelená), injekční stříkačka 5 ml.

Zkumavky s vysušenou směsí šťavelanu dle Wintroba.

Hematologická kazeta obsahující mikropipetu 25 $\mu$ l, gumovou hadičku a sterilní náustek, Burkerovu komůrku, buničitou vatu v přířezích.

Baničky s roztoky 475 $\mu$ l pro počítání jednotlivých krevních elementů (Türkův roztok pro leukocyty, Dungerův roztok pro eozinofily a prokainový roztok dle Piettových pro trombocyty).

Podložní skla pro zhotovení krevních nátěrů.

Barvicí set LeukoDIF a barvicí kyvety pro diferenciální počet leukocytů .

Mikroskop.

Kyselý alkohol a ether pro čištění pomůcek.

## **4. Radiační poškození krevních buněk I, II**

Akvárium s víkem pro inhalační narkózu, váhy a závaží .

Ether pro narcosi, anestetická injekční směs ( 10 ml Narkamon 1% + 0,5 ml Rometar 2%), heparin.

Operační stolek, operační kazeta obsahující injekční stříkačky s jehlou pro narkózu, odběrovou jehlu (růžovou) se stříkačkou, nůžky, pinzety anatomické, oční rozvěrač, tampony.

Petriho miska na slezinu.

Zkumavky s vysušenou směsí šťavelanu dle Wintroba.

Hematologická kazeta obsahující mikropipetu 25 $\mu$ l, gumovou hadičku a sterilní náustek, Bürkerovu komůrku, buničitou vatu v přířezích.

Baničky s roztoky 475 $\mu$ l a 4975 $\mu$ l pro počítání jednotlivých krevních elementů ( Türkův roztok pro leukocyty, Haymův roztok pro erytrocyty a prokainový roztok dle Piettových pro trombocyty). Zkumavku s transformačním roztokem dle Drabkina pro stanovení množství hemoglobinu.

Skleněné kapiláry pro hematokrit, plastelína na misce.

Podložní skla pro zhotovení krevních nátěrů. Skla barvená briliantkrezylou modří pro retikulocyty.

Barvicí set LeukoDIF a barvicí kyvety pro diferenciální počet leukocytů.

Mikroskop. Centrifuga a odečítací zařízení pro hematokrit, spektrofotometr.

Kyselý alkohol a ether pro čištění pomůcek.

Barvená skla s krevními nátěry.

Mikroskop, imersní olej.

## **5. Model venózní trombózy u laboratorního potkana**

### **Pomůcky:**

Akvárium s víkem pro inhalační narkózu, váhy a závaží.

Ether pro narcosi, anestetická injekční směs (10 ml Narkamon 1% + 0,5 ml Rometar 2%).

Operační stolek, operační kazeta obsahující injekční stříkačky s jehlou (zelená) pro narkózu a

aplikaci farmak (oranžová nebo modrá), odběrová jehla (růžová) se stříkačkou, nůžky, pinzety anatomické, peán nebo moskyto, oční rozvěrač, oční preparační pinzety, oční nůžky, šicí materiál, gáza a tampony.

Heparin, hypotonický roztok, 2,5% natrium citricum.

Vlhká komůrka (Petriho miska se zvlhčeným filtračním papírem namočeným ve fyziologickém roztoku).

Centrifuga, koagulometr.

Diagnostický set pro stanovení APTT, koagulační kloboučky, pipety, špičky a zkumavky.

## 6. Konzumpční koagulopatie

### Pomůcky:

Akvárium s víkem pro inhalační narkózu, váhy a závaží .

Ether pro narcosi, anestetická injekční směs (10 ml Narkamon 1% + 0,5 ml Rometar 2%).

Operační stolek, operační kazeta obsahující injekční stříkačky s jehlou (zelená) pro narkózu a aplikaci farmak (oranžová nebo modrá), odběrová jehla (růžová) se stříkačkou, nůžky, pinzety anatomické, peán nebo moskyto, oční rozvěrač, oční preparační pinzety, oční nůžky, šicí materiál, gáza a tampony.

Heparin, hypotonický roztok, 2,5% natrium citricum.

Centrifuga, koagulometr.

Diagnostické sety pro stanovení APTT, fibrinogenu a trombinového času dle Clause, koagulační kloboučky, pipety, špičky a zkumavky.

Mikroskop.

Hematologická kazeta obsahující mikropipetu 25ul, gumovou hadičku a sterilní náustek, Bürkerovu komůrku, buničitou vatu v přířezích.

Baničky s 475ul prokainového roztoku dle Piettových pro trombocyty.

Kyselý alkohol a ether pro čištění pomůcek.

## 7. Experimentální žaludeční vřed

### Pomůcky

Akvárium s víkem pro inhalační narkózu, váhy a závaží .

Ether pro narcosi.

Injekční stříkačka 2 a 5 ml, žaludeční sonda, kádinka.

Fyziologický roztok, Ranital inj., indometacin (Indren) nebo ketoprofen (Profenid).

Nůžky, anatomické pinzety.

Korková destička, špendlíky, skla na vyhlazení povrch sliznice.

Fixační roztok v kyvetě.

## 8. Vyšetření sekrece žaludeční šťávy v experimentu

### Pomůcky:

Akvárium s víkem pro inhalační narkózu, váhy a závaží .

Ether pro narcosi, anestetická injekční směs (10 ml Narkamon 1% + 0,5 ml Rometar 2%).

Operační stůl, operační kazeta obsahující injekční stříkačky s jehlou pro narkózu a aplikaci farmak, nůžky, pinzety anatomické, peán, oční rozvěrač, šicí materiál, jehelec, chirurgické jehly, gáza a tampony.

Ranital, fyziologický roztok.

Mikrobýreta, mikropipety, Erlenmayerova baňka na titraci, kádinka, centrifugační kalibrovaná zkumavka.

Fenolftalein, destilovaná voda, 0,01 mol/l NaOH.

Centrifuga.

## 9. EKG u potkana

### **Pomůcky:**

Akvárium s víkem pro inhalační narkózu, váhy a závaží .

Ether pro narcosi, anestetická injekční směs (10 ml Narkamon 1% + 0,5 ml Rometar 2%).

Operační stůl, operační kazeta obsahující injekční stříkačky s jehlou (zelená) pro narkózu, nůžky, pinzety anatomické, peán nebo moskyto, oční rozvěrač, oční preparační pinzety, oční nůžky, šicí materiál, gáza a tampony.

Endotracheální kanyla.

Monitory EKG.

## 10. Model peritoneální dialýzy u laboratorního potkana

### **Pomůcky:**

Akvárium s víkem pro inhalační narkózu, váhy a závaží.

Ether pro narcosi, anestetická injekční směs (10 ml Narkamon 1% + 0,5 ml Rometar 2%).

Operační stůl, operační kazeta obsahující injekční stříkačky s jehlou (zelená) pro narkózu a aplikaci farmak (oranžová nebo modrá), injekční stříkačka 20 ml, peritoneální kanyla, nůžky, pinzety anatomické, šicí materiál, gáza a tampony.

Ethylenglykol, dialyzační roztok, 7,5% roztok KCl.

Monitory EKG.

## 11. Stanovení kinetiky vylučování inulinu ledvinami.

### **Pomůcky:**

Akvárium s víkem pro inhalační narkózu, váhy a závaží.

Ether pro narcosi, anestetická injekční směs (10 ml Narkamon 1% + 0,5 ml Rometar 2%).

Operační stůl, operační kazeta obsahující injekční stříkačky s jehlou (zelená) pro narkózu a aplikaci farmak (oranžová nebo modrá), odběrová jehla (růžová) se stříkačkou, nůžky, pinzety anatomické, peán nebo moskyto, oční rozvěrač, oční preparační pinzety, oční nůžky, šicí materiál, gáza a tampony.

Fyziologický roztok, inulin 25mg v eppendorfci.

75mM roztok kyseliny beta-indolctové, konc. HCl, 0,5 % roztok TRITON X-100.



Centrifugační zkumavky, mikropipety, špičky.  
Centrifuga, vodní lázeň, spektrofotometr.

## **12. Renální ischémie, vznik reninu v ledvině**

### **Pomůcky:**

Akvárium s víkem pro inhalační narkózu, váhy a závaží.

Ether pro narcosi, anestetická injekční směs (10 ml Narkamon 1% + 0,5 ml Rometar 2%).

Operační stůl, operační kazeta obsahující injekční stříkačky s jehlou (zelená) pro narkózu, nůžky, pinzety anatomické, peán nebo moskyto, oční rozvěrač, oční preparační pinzety, oční nůžky, šicí materiál, gáza a tampony.

Fyziologický roztok, jodová tinktura.

Mikroskopy, preparáty.

## **13. Akutní infarkt myokardu u králíka**

### **Pomůcky:**

Narkóza (Narkamon 5%, Dometat 2%, diazepam), fyziologický roztok, heparin.

Polypropylenové katetry pro kanylaci artérie a vény, infúzní sety, stříkačky, jehly.

Chirurgické instrumentárium.

EKG monitor a elektrody, zařízení pro sledování změn krevního tlaku krvavou cestou, dýchací přístroj.