

اصول اخلاقی استفاده از موش بزرگ آزمایشگاهی در پژوهش‌های علمی

فاطمه باقری پور، دکتر اصغر قاسمی*

مرکز تحقیقات فیزیولوژی غدد، پژوهشکده علوم غدد و درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید

بهشتی، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۶/۶/۱۹، تاریخ پذیرش: ۹۶/۸/۷)

چکیده

زمینه: پیشرفت‌های پزشکی در طول قرن‌ها اهمیت حیاتی استفاده از حیوانات را برای پژوهش‌های زیستی نشان داده است. انجام درست آزمایشات حیوانی به پژوهشگران کارآمد و زبده نیاز دارد که آگاهی کافی در مورد شیوه صحیح استفاده از حیوانات آزمایشگاهی داشته باشند. همیشه در قلمرو فعالیت علمی انسان، اخلاق در استفاده از حیوانات در آزمایشاتی که منجر به تحمل درد و حتی مرگ حیوان می‌شود مورد بحث بوده است. بنابراین حفظ حقوق حیوانات آزمایشگاهی یکی از دغدغه‌های پژوهشگران محسوب می‌شود چرا که رعایت اخلاق در این زمینه نه تنها موجب حفظ سلامت حیوان در طول مطالعه می‌شود بلکه دسترسی به نتایج مطلوب تحقیقاتی را نیز به دنبال دارد. موش‌های بزرگ آزمایشگاهی (رت‌ها) به علت دوره تولید مثل کوتاه و نگهداری آسان و کم هزینه، یکی از متداول‌ترین مدل‌های حیوانی در آزمایشات علمی محسوب می‌شوند. امروزه یکی از شرایط پذیرش مقاله در مجلات علمی و سمینارهای بین‌المللی رعایت استانداردهای موجود در زمینه نگهداری و کار با حیوان آزمایشگاهی است. هدف این مطالعه، بررسی و مرور جنبه‌های اخلاقی مربوط به بهره‌برداری از رت‌ها در پژوهش‌های زیستی و پزشکی از دیدگاه علمی است.

نتیجه گیری: با توجه به استفاده‌ی زیاد از رت در تحقیقات زیستی، جهت رعایت اصول اخلاقی و حقوق حیوانات و از طرف دیگر بدست آوردن نتایج دقیق‌تر، رعایت استانداردهای لازم در احداث مراکز نگهداری حیوانات، آموزش به پرسنل و محققان در زمینه کار با حیوانات آزمایشگاهی و وجود مراکز نظارتی، ضروری به نظر می‌رسد.

کلید واژگان: اصول اخلاقی، پژوهش‌های آزمایشگاهی، موش بزرگ آزمایشگاهی

سر آغاز

که شرایط نگهداری و کار با حیوان را در مراکز پژوهشی ضابطه‌مند کرد؛ بر این اساس، افرادی که در تحقیقات خود از مدل حیوانی استفاده می‌کنند، باید گواهینامه‌ی مخصوص داشته باشند. طبق این قوانین، مسائلی چون تغذیه، تهویه و بهداشت محل نگهداری حیوان باید با شرایط استاندارد مطابقت کند و طی مراحل تحقیق رعایت شود (۶). پژوهشگران همچنین بایستی از روش‌هایی که باعث درد و رنج حیوان می‌شوند به جز در شرایط خاص اجتناب نمایند (۷). در ایران، در سال ۱۳۸۵ شورای سیاست‌گذاری وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی و مرکز تحقیقات اخلاق و تاریخ پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، راهنمای شش‌گانه اخلاق در پژوهش^۴ را تدوین کرد که یکی از شش دستورالعمل آن، پژوهش بر حیوانات^۵ است. در این راهنمای پژوهش^۶، به ارایه دستورالعمل‌هایی در مورد روند تولید و تحویل حیوان اکتفا شده و لازم است روشن شود که منظور از حقوق حیوانات در این راهنما دقیقاً چیست و قلمرو آن چگونه با پژوهش و حتی از بین بردن حیوان برای دستیابی به دستاوردهای انسانی در تعارض قرار نمی‌گیرد (۸).

استفاده از حیوانات آزمایشگاهی در پژوهش‌های زیستی و پزشکی از اهمیت خاصی برخوردار است. کاربرد حیوانات در پژوهش علمی-رغم داشتن مزیت‌های فراوان، به دلیل جنبه‌های اخلاقی^۱ مربوط به استفاده غیرداوطلبانه از سوژه‌های مورد تحقیق در فرایندهای دردناک، موضوعی بحث برانگیز است. رسالت انسانی بشر اقتضا می‌کند در تمامی مراحل پژوهش، حقوق^۲ حیوانات را حفظ نماید (۱ و ۲).

رعایت اصول پرورش و نگهداری و شیوه صحیح کار با حیوانات از وظایف اخلاقی پژوهشگر است (۳). این موضوع هم از نقطه نظر علمی و هم از نظر رعایت اخلاق پزشکی^۳، در هنگام تحقیق بر روی حیوانات باید مورد توجه قرار گیرد (۴). رعایت مقرراتی که بر مبنای حفظ سلامت حیوان در طول تحقیق طراحی شده است، از طرفی موجب می‌شود که حیوان در طول زندگی خود از شرایط مطلوب برخوردار باشد و از طرف دیگر موجب حذف اثرات مداخله‌گرانه بر نتایج تحقیق در طول مطالعه می‌شود (۵). در سال ۱۸۷۶ در انگلستان قوانینی تصویب گردید

نویسنده مسوول: نشانی الکترونیکی: Ghasemi@endocrine.ac.ir

عقب نشینی به مناطق مخفی از رفتار های طبیعی رت محسوب می شود (۲۳). رت‌ها صداهای مافوق صوت را منتشر می کنند. امواج ماوراء صوت برای ایجاد ارتباط، برخورد های تهاجمی، رفتار های جفتگیری و مادرانه استفاده می شود (۲۴ و ۲۵). رت در بازی های مثل تعقیب و گریز شرکت می کند این رفتار برای توسعه اجتماعی طبیعی و جنسی رت جوان لازم است (۲۶). رت‌ها مدفوع خوار هستند و در حدود ۳۵ تا ۶۵ درصد از مدفوع خود را در زمان تغذیه مصرف می کنند. آنها مدفوع خود را مستقیماً از مقعد خود برمی دارند. جلوگیری از این کار باعث کاهش رشد می شود (۲۷). در نوزادانی که از مدفوع مادر محروم هستند شواهدی از سوء تغذیه و رفتار های تغذیه ای غیرعادی در زمان بزرگسالی مشاهده می شود (۲۸).

محل نگهداری رت‌ها

پژوهشگر نه تنها باید استانداردهای حداقلی را در مورد شرایط مطلوب محل زندگی حیوان رعایت کند بلکه بایستی در جهت بهبود شرایط این مکان، مقالات چاپ شده جدید در این زمینه را مطالعه نماید (۲۹). در مورد مکان نگهداری رت‌ها، علاوه بر الزامات طبیعی برای جوندگان شامل تأمین آب و غذا، سرپناه و حفظ دمای مناسب موارد خاص دیگری همچون عادات شبانه، شنوایی ماوراء صوت، پاسخ به فرمون، پاسخ به انزوا، ماهیت اکتشافی آنها، اثر اندازه گروه در پویایی اجتماعی، اثرات نژاد، سن، جنس هم باید در نظر گرفته شود (۳۰). محیط نگهداری غیر استاندارد می تواند سبب تغییر رفتار فیزیولوژیک حیوان شود که ممکن است بر اعتبار نتایج آزمایش تأثیر سوء بگذارد (۳۱). بنابراین برای کسب نتایج مطلوب، باید محل نگهداری هر روز بررسی و اندازه استاندارد قفس حیوان رعایت شود مگر آنکه برای نگهداری حیوان، قفس خاصی مانند قفس متابولیک مد نظر باشد (۳۲). شکل، اندازه، ساختار و اتصالات مناسب قفس با توجه به نوع آزمایش و شرایط فیزیولوژیکی حاکم بر آزمایش متغیر است (۳۳). حداقل فضای مورد نیاز برای موش توسط نیازهای رفتاری و فیزیولوژیکی اساسی موش شامل خوردن، آشامیدن، بازی، نظافت و استراحت تعیین می شود. موش باید قادر به حرکت آزادانه سر و بدن خود، راه رفتن، ایستادن بر روی دو پای عقب باشد (۳۴). رت، قفس بزرگتر را (۱۶۲۰ سانتیمتر مربع در مقابل ۵۴۰ سانتیمتر مربع) به تنهایی و برای جفتگیری، ترجیح می دهد (۳۵). مقایسه قفسی با اندازه ۹۰۰ سانتیمتر مربع برای ۴ سر موش با وزن ۲۰۰-۲۵۰ گرم با قفسی با اندازه ۱۸۰۰ سانتیمتر مربع نشان داد که قفس کوچکتر فضای کافی برای بازی فراهم نمی کند (۳۶). قفسی با اندازه ۱۰۸۸ سانتیمتر مربع در مقایسه با قفسی کوچکتر با اندازه ۴۳۲ سانتیمتر مربع باعث ایجاد پاسخ های استرسی در حیوان می شود مگر آن که دارای امکانات اضافی همچون جایگاهی برای پنهان شدن حیوان باشد (۳۷). قفس استاندارد برای نگهداری یک رت باید فضایی در حدود ۵۰۰ سانتیمتر مربع داشته باشد؛ این فضا برای یک موش حامله یا موش مادر به همراه نوزاد هایش به ۱۰۰۰ سانتیمتر مربع افزایش می یابد. ارتفاع قفس باید تا اندازه ای باشد که حیوان بتواند بر روی دو پای عقب خود بایستد (حداقل ۱۲ سانتی متر) (۳۸). محل نگهداری حیوان باید از

بررسی ها در زمینه دانش و عملکرد پژوهشگران در ایران نشان داد که اغلب محققان با دستورالعمل های کار با حیوانات آزمایشگاهی آشنایی لازم را ندارند و اطلاعات آنها صرفاً در ارتباط با کار آزمایشگاهی خودشان است که آن هم تنها جهت رسیدن به نتایج قابل قبول است که به طور کامل هم رعایت نمی کنند (۹). ۸۰ درصد از مدل های حیوانی در پژوهش های علمی، جوندگانی همچون موش های بزرگ آزمایشگاهی (رت‌ها) هستند و رت‌ها یکی از بیشترین حیواناتی هستند که در پژوهش ها استفاده می شوند (۱۰). هدف پژوهش حاضر، بررسی اصول اخلاقی و استانداردهای مورد نیاز برای کار با رت به منظور کاهش درد و رنج تحمیل شده طی پژوهش و در عین حال دستیابی به بهترین نتایج است.

قانون گذاری

قبل از شروع یک برنامه مطالعاتی مبتنی بر استفاده از حیوان، پژوهشگر باید مقالات مرتبط را کاملاً بررسی نماید تا از تکرار کار و تحمیل درد به حیوان جلوگیری کند (۱۱). ابتدا باید تمامی تکنیک های جایگزین را مورد بررسی قرار داد، تا در صورت امکان رسیدن به نتایج مشابه یا حتی بهتر، گزینه استفاده از حیوان حذف شود (۱۲). بعد از رسیدن به ضرورت استفاده از حیوان، بایستی تمامی قوانین محلی، ملی و بین المللی مربوط به خرید، حمل و نقل، مکان نگهداری و پرورش حیوان در نظر گرفته شود، که این قوانین برای مثال، حداقل فضای مورد نیاز برای نگهداری حیوان، اندازه گروه مورد آزمایش، سن از شیر گرفتن و تکنیک های بیهوش کردن و کشتن آسان را شامل می شود (۱۳).

قوانین 3R^۱

در نیمه دوم قرن بیستم راسل و بورچ قوانین 3R را برای کنترل آزمایشات علمی بر حیوانات آزمایشگاهی تدوین کردند: اصل جایگزینی^۲، اصل کاهش^۳ و اصل بهینه سازی^{۱۱} (۱۴-۱۶). اصل جایگزینی بر روش های جایگزین حیوان تأکید دارد که شامل استفاده از مدل های آماري بر اساس داده های ثبت شده قبلی، ویدیوهای ثبت شده در مطالعات رفتاری و مطالعات در شرایط آزمایشگاهی می باشد (۱۷). اصل کاهش، به طراحی راه کار کاهش تعداد حیوانات مورد استفاده در آزمایشات و دستیابی به داده های قابل قبول اشاره می کند (۱۸). اصل بهینه سازی کاهش شدت آسیب های وارده به حیوان در حین انجام آزمایشات را شامل می شود (۱۹).

رت به عنوان یک مدل حیوانی

رت‌ها به علت دوره تولید مثل کوتاه، نقل و انتقال راحت و نگهداری آسان، یکی از متداول ترین مدل های حیوانی در تحقیقات محسوب می شوند، رت‌ها حیوانات اجتماعی هستند و به صورت کلونی زندگی می کنند (۲۰). رت‌ها زندگی شبانه دارند و سه دوره فعالیت در ابتدا، میانه و اواخر شب دارند (۲۱). رت‌ها حواس بویایی، شنوایی و لامسه به شدت قوی دارند. رفتارها و ارتباطات آنها توسط علامت‌ها و نشانه های بویایی قویاً تحت تأثیر قرار می گیرد (۲۲). بالا رفتن، راه رفتن، ایستادن روی دو پای عقب، نقب زدن، جویدن، جستجوگری، نظافت خود و دیگران و

موادی ساخته شود که در مقابل فرایندهای پاک سازی و گندزدایی تخریب نشوند و برای سلامت حیوان مضر نباشند.

فراهم آوردن پوشش مناسب جهت بستر و محل پرستاری از نوزادان و همچنین تعبیه محلی برای استراحت و تولید مثل حیوانات امری ضروری است (۳۹). بستر مورد استفاده باید جاذب ادرار و مدفوع بوده تا فرایند پاکسازی محل را تسهیل نماید. برای این منظور لازم است ترکیبی از مواد مناسب مورد استفاده قرار گیرد. چنین موادی باید خشک، جاذب رطوبت، فاقد گرد و غبار، غیرسمی و عاری از هر گونه عوامل عفونی، جانوران موزی باشد. مشتقات چوب که به صورت شیمیایی عمل آورده شده‌اند یا دارای سموم طبیعی هستند و محصولاتی که از ترکیبات واقعی آنها اطلاعی در دسترس نیست نباید مورد استفاده قرار گیرند (۳۸). وجود برنامه‌های منظم پاکسازی و تعویض مواد سازنده بستر محل نگهداری حیوان، باعث جلوگیری از تبدیل این مواد به منابع عفونت می‌شود. انجام برنامه‌های پاکسازی نباید خللی برای سلامت یا آسایش حیوان به همراه داشته باشد (۴۰). تصمیم در مورد تعداد دفعات پاکسازی به نوع محل نگهداری حیوان، سن حیوان، میزان تراکم حیوانات در محل و توانایی سیستم‌های تهویه در حفظ کیفیت مناسب هوای محیط بستگی دارد. فضای نگهداری حیوان باید با یک پروتکل بدون خطر برای حیوان و انسان نظافت شود و گزارشات روزانه‌ای برای ثبت فعالیت‌های صورت گرفته برای مراقبت از حیوان تهیه شود (۴۱).

تهویه محل نگهداری رت

شکل، محتوا و نحوه عرضه غذا باید به گونه‌ای باشد که نیازهای غذایی رت را برآورده نماید. در انتخاب مواد خام، تولید و آماده سازی و غذادهی به حیوان بایستی تا حد امکان از میزان آلودگی‌های شیمیایی و میکروبیولوژیکی این مواد کاسته شود. غذا باید در بسته‌بندی‌هایی پر شود که حاوی اطلاعات روشنی در مورد ویژگی‌های محصول و تاریخ تولید آن باشد. تاریخ انقضا باید توسط تولید کننده مشخص و روی بسته ذکر شده باشد. بسته‌بندی، حمل و نقل و ذخیره غذا باید به گونه‌ای باشد که از آلودگی، فساد و تخریب آن جلوگیری شود. اماکن نگهداری غذا باید خشک و خنک و تاریک بوده و در مقابل حشرات و جانوران موزی حفاظت شود. ظروف تهیه و توزیع غذا باید به طور منظم تمیز شده و استریل شوند. در صورت استفاده از غذای مرطوب یا احتمال آغشته شدن غذا به آب یا ادرار، پاکسازی روزانه محل‌های ذکر شده لازم است. هر یک از حیوانات باید به غذا دسترسی داشته باشند، بنابراین لازم است محل غذا خوری دارای فضای کافی باشد (۴۲).

باید توجه داشت که آب ناقلی است برای میکروب‌ها، لذا تجهیزات آبخوری باید به نحوی باشد که خطر آلودگی را به حداقل برساند. سیستم‌های آبرسانی باید به نحوی طراحی شود که حجم کافی از آب آشامیدنی غیر آلوده با کیفیت مناسب را فراهم آورد. باید به تعداد کافی ظروف آبخوری در محل نگهداری حیوانات نصب شود (۴۲).

محدودیت غذایی^{۱۲}

حیوانات در حال رشد تا حد امکان نباید محدودیت تغذیه‌ای داشته باشند مگر در موارد خاص که در این صورت نیز باید طول مدت محدودیت

حداقل زمان ممکن باشد. ۱۶ ساعت ناشتا بودن در رت کمترین تغییر را بر عملکرد تغذیه‌ای و متابولیکی دارد و کمترین استرس را به حیوان وارد می‌کند (۴۳). در حیواناتی که در دوره تولید مثلی خود به سر می‌برند کاهش وزن بدن و بیماری می‌تواند در طول دوره‌ای همچون شیردهی رخ دهد. در این حیوانات نباید اجازه داده شود که بیش از حد معمول وزن خود را از دست دهند (۴۴).

تغذیه‌ی نامناسب در رت می‌تواند سبب چاقی شود و این مشکل در مواردی که رت جهت مطالعات طولانی مدت (به طور مثال در تمام طول عمر) نگهداری می‌شود به دلیل غفلت محقق و یا پرسنل نگه‌داری کننده رخ می‌دهد. شیوه رایج تغذیه آزادانه در نگهداری از رت اغلب منجر به افزایش وزن و کاهش طول عمر به دلیل پیری زودرس و افزایش وقوع بیماری‌هایی نظیر نفروپاتی و سرطان می‌گردد. تغذیه کنترل شده (۷۵ درصد میزان تغذیه آزاد) موجب پرورش رت‌های سالم‌تر با بیماری‌های کمتر خواهد شد (۴۵).

تهویه محل نگهداری رت

هدف سیستم تهویه، تأمین هوای تازه و کاهش بوهای زننده، گرد و غبار و عوامل عفونی می‌باشد. همچنین این سیستم موجب حذف گرما و رطوبت مازاد می‌شود. هوای اتاق باید در فواصل زمانی معین به طور متداول عوض شود. به طور معمول دفعات تهویه به میزان ۱۵ تا ۲۰ بار در ساعت مناسب است. هوای خروجی سیستم تهویه بدون انجام فرایندهای پالایشی، نباید مجدداً مورد استفاده قرار گیرد. لازم به تأکید است که حتی بهترین سیستم‌های تهویه قادر به جبران اثرات مخرب روش‌های نامناسب پاکسازی یا اهمال در رعایت اصول بهداشتی نیستند. سیستم تهویه باید به گونه‌ای طراحی شود که باعث ایجاد شرایط نامطلوب نظیر آلودگی صوتی و کوران هوا نشود. سیگار کشیدن در اتاق‌های نگهداری حیوانات ممنوع می‌باشد (۴۶).

دما و رطوبت در محل نگهداری رت

دمای اتاق‌های نگهداری رت باید به صورت روزانه اندازه‌گیری و در حد استاندارد (۲۰-۲۶ درجه‌ی سلسیوس) حفظ شود. از آنجا که دمای محیط اثرات وسیعی بر متابولیسم و رفتارهای رت دارد، کنترل دقیق درجه حرارت جهت حفظ اعتبار نتایج علمی بدست آمده دارای اهمیت زیادی است. حفظ رطوبت نسبی مناسب محیط (۷۰-۳۰ درصد) نیز در جلوگیری از بروز مشکلات بهداشتی اهمیت دارد (۴۷). شرایط دمایی و رطوبتی ذکر شده تنها برای حیوانات بالغ و سالم صدق می‌کند و حیوانات تازه به دنیا آمده، جوان، تازه جراحی شده، بیمار و یا آسیب دیده اغلب به درجه حرارت محیطی بالاتری نیاز دارند (۴۸).

روشنایی محل نگهداری رت

جهت برآوردن نیازهای بیولوژیک حیوان و ایجاد شرایط مساعد کاری می‌بایست از سیستم‌های روشنایی کنترل شده استفاده کرد. منبع روشنایی باید به یک زمان سنج متصل باشد تا چرخه ۱۲ ساعت روشنایی و تاریکی برای نگهداری حیوان رعایت شود مگر آنکه پروتکل و چرخه دیگری از روشنایی و تاریکی مد نظر باشد (۱۵). پوست رت آلبینو فاقد

با ۷-۵ میلی لیتر بر کیلوگرم است (۵۳). برای تکرار خونگیری استفاده از مایع جایگزین، حجم و تعداد دفعات خونگیری را افزایش نمی‌دهد (۵۴).

جراحی

در اعمال جراحی روی حیوان باید سطح مناسبی از بیهوشی استفاده شود. حیوان باید توسط یک فرد آموزش دیده بیهوش و جراحی شود. اگر پژوهشگر در مورد مؤثر بودن بیهوشی موضعی شک دارد باید از بیهوشی عمومی استفاده نماید. مراقبت‌های قبل و بعد از عمل جراحی باید همیشه به کار گرفته شود؛ همچنین استفاده از داروهای آرام بخش مناسب، ضد درد، آنتی‌بیوتیک‌ها و داروهای ضدالتهابی توصیه می‌شود (۵۵).

یکی از مهمترین عوارض بیهوشی در رت، هیپوترمی است که می‌تواند منجر به طولانی شدن ریکاوری یا حتی مرگ حیوان شود. از مهمترین دلایل هیپوترمی نسبت بالای سطح به حجم بدن در رت است که سبب می‌شود مقدار زیادی حرارت با سرعت از دست برود. به دنبال ۲۰ دقیقه بیهوشی، دمای بدن رت می‌تواند تا ۱۰ درجه سلسیوس افت نماید. چنانچه این افت دما با روش‌های مناسب برطرف نشود، باعث مخدوش شدن داده‌ها می‌شود. لذا تدارک منبع گرمایی پیش از جراحی، طی جراحی و طی ریکاوری امری ضروری است (۳۸). استفاده صحیح از تجهیزات گرمایشی موجب جلوگیری از وارد آمدن آسیب به حیوان بیهوش می‌شود. استفاده از لامپ‌های حرارتی می‌تواند سبب سوختگی موضعی گردد لذا استفاده از آنها توصیه نمی‌شود. دمای محل قرارگیری حیوان باید بین ۳۵-۳۰ درجه سلسیوس به طور ثابت حفظ شود. تشک‌های گرمایشی-الکتریکی به دلیل اختلاف درجه حرارت در نقاط مختلف آنها برای استفاده در رت مناسب نیستند. ایمن‌ترین وسیله برای فراهم نمودن گرمای مورد نظر تشک‌هایی با جریان چرخشی آب گرم و کیسه‌های آب گرم هستند و بهتر است از یک حوله یا پارچه بین منبع گرما و حیوان استفاده شود (۵۶). برای تست عمق بیهوشی^{۱۳} از تست فشار پنجه پای حیوان استفاده می‌شود اگر حیوان به این واکنش جواب داد باید سطح بیهوشی تنظیم شده و قبل از ایجاد هر برش در سطح بدن حیوان، تست تکرار شود (۵۷).

نظارت بر علائم حیاتی حیوان، همچون الگوی تنفسی، رنگ غشاهای مخاطی و عمق بیهوشی از دیگر اعمالی است که قبل از شروع جراحی باید به آن توجه کرد. اگر حیوان در طول جراحی به هر نوع تحریکی پاسخ دهد، بایستی جراحی متوقف شود تا پس از القاء دوباره بیهوشی، تست فشار پنجه پا منفی شود. پژوهشگر باید قبل شروع کار از استریل بودن وسایل جراحی برای به حداقل رساندن آلودگی اطمینان حاصل کند. بستن محل برش جراحی باید با تکنیک و مواد مناسب صورت گیرد. حیوان بعد از عمل باید حداقل یک بار در روز به مدت سه روز از نظر وجود هر نوع نشانه‌ای از ناراحتی، کاهش اشتها و یا تعویق بهبود زخم کنترل شود (۵۸).

ملانین است، موهای سفید و چشم‌های سرخ دارد؛ بنابراین حساسیت زیادی به نور دارد (۴۲).

پرسنل نگهداری کننده از رت

افرادی که با حیوانات آزمایشگاهی کار می‌کنند باید برای مراقبت از حیوان آموزش‌های لازم را ببینند و در مورد روش‌های تجربی و نیازهای گونه‌ای که از آن مراقبت می‌کنند اطلاعات کافی داشته باشند. پژوهشگر باید توان ارزیابی درد و ناراحتی حیوان و دانش لازم جهت پیاده‌سازی اقدامات لازم برای کاهش درد آنها را داشته باشد (۳۱). تمامی افرادی که با حیوانات آزمایشگاهی در ارتباطند بایستی گواهی‌نامه اصول صحیح کار با حیوان را داشته باشند و همچنین با اصول اخلاقی کار با حیوان آشنا باشند (۴۹).

روش‌های نمونه‌گیری

پژوهشگران باید تا حد ممکن نمونه‌های غیر تهاجمی مانند ادرار، بزاق یا مو را جمع‌آوری نمایند. اگر نمونه تهاجمی مورد نیاز باشد، باید از ماده بیهوشی و مسکن مناسب استفاده شود تا درد و رنج حیوان به حداقل برسد برای مثال در زمان خونگیری مکرر، بایستی از یک کاتتر که در محل خونگیری نصب شده استفاده کرد (۲۹).

جمع‌آوری نمونه خون

خونگیری یکی از متداول‌ترین روش‌هایی است که در پژوهش‌های مرتبط با حیوان انجام می‌شود (۵۰). اخذ نمونه خون ممکن است به بیهوشی نیاز داشته باشد یا بدون آن انجام شود. خونگیری از ورید صافن (ساق پا) و کف پا احتیاجی به بیهوشی حیوان ندارد اما برای جمع‌آوری نمونه خونی از ورید دمی، سینوس اوربیتال و ورید ژوگولار بایستی حیوان به صورت عمومی یا موضعی بیهوش شود. کانول‌گذاری در عروق خونی نیز نیاز به بیهوشی دارد (۵۱). مقدار و تعداد دفعات قابل قبول خونگیری توسط حجم خون در گردش و سرعت بازچرخش گلوبول‌های قرمز تعیین می‌شود. خونگیری بیش از حد و مازاد، شوک هیپوولمیک، استرس‌های فیزیولوژیکی و حتی مرگ را به دنبال دارد. حجم خون حیوان براساس وزن بدن تخمین زده می‌شود. به عنوان یک قانون کلی نباید بیش از ۱۰ درصد حجم کلی خون در هر بازه زمانی دو هفته‌ای گرفته شود. حجم خون تقریبی در یک رت، ۷۰-۵۰ میلی لیتر بر کیلوگرم است که برای یک رت ۳۰۰ گرمی ۲۱-۱۷ میلی لیتر است (۵۲).

استفاده از مایع جایگزین موجب می‌شود که حجم خون جمع‌آوری شده به ۱۵ درصد از کل حجم خون یعنی تقریباً ۱۰/۵-۸/۳ میلی لیتر بر کیلوگرم برسد. مایع جایگزین باید گرم باشد (۵۳). اگر نیاز باشد به صورت دوره‌ای و در چند نوبت از یک حیوان نمونه خونی تهیه شود باید حجم خونگیری کاهش یابد. حجم خون در هر هفته نباید بیشتر از ۷/۵ درصد کل حجم خون بدن حیوان باشد که این مقدار برابر با ۳/۳-۴ میلی لیتر بر کیلوگرم است. برای یک رت ۳۰۰ گرمی این مقدار مساوی ۱/۶-۱/۲ میلی لیتر در هر هفته است. اگر خونگیری هر ۲ هفته یکبار تکرار شود می‌توان تا ۱۰ درصد کل حجم خون را برداشت کرد که برابر

روش‌های اوتانازی^۱ و مرگ بدون درد^۱ در رت

در پژوهش، حیوان به طور معمول با هدف جمع‌آوری نمونه کشته می‌شود. حیوان ممکن است به خاطر عدم تحمل درد و رنج از سر ترحم نیز کشته شود که این نوع مرگ به عنوان مرگ بدون درد تعریف می‌شود. در استفاده از داروی بیهوشی برای کشتن حیوان، بایستی دوز دارو بیشتر از دوز مورد نیاز برای بیهوشی باشد. برای تأیید مرگ حیوان به دنبال استفاده از روش‌های شیمیایی باید از روش‌های مکانیکی شامل بریدن سر، ایجاد در رفتگی در گردن و یا برداشتن یک عضو حیاتی از بدن استفاده کرد. تجویز دی‌اکسید کربن یکی دیگر از روش‌های کشتن حیوانات محسوب می‌شود که از طریق یک مخزن تحت فشار به یک اتاقک انتقال داده می‌شود. باید اجازه داد که دی‌اکسید کربن به آهستگی وارد اتاقک شود تا موجب عدم هوشیاری کامل قبل از مرگ حیوان شود. جریان گاز به داخل اتاقک باید حداقل تا یک دقیقه بعد از توقف تنفس حیوان حفظ شود (۵۹ و ۶۰). تزریق داخل صفاقی ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم داروی پنتوباریتال سدیم و استنشاق ایزوفلوران با دوز بالا روش‌های دیگری برای کشتن حیوان است (۶۱).

برای کشتن نوزاد رت، داروهای استنشاقی و دی‌اکسید کربن با رعایت زمان مناسب، روش‌های قابل قبولی به شمار می‌آیند. همچنین استفاده از روش‌های فیزیکی بعد از عدم پاسخ نوزاد به هر نوع محرک بلامانع است (۶۲).

دفع لاشه‌ی حیوان

برای حفظ سلامت محیط آزمایشگاه، پرسنل و حیوانات، باید لاشه و بافت حیوان به عنوان زباله‌های زیستی عفونی خطرناک در کیسه مخصوص دفع، دور انداخته شوند. این کیسه پلمپ شده و در ظروف در بسته ضد آب یا فریزر نگهداری می‌شوند تا زمانی که توسط اشخاصی که مسئول دفع این زبالات هستند دور ریخته شوند (۶۳).

نتیجه گیری

رت یکی از حیواناتی است که استفاده زیادی در پژوهش‌های علمی دارد، بنابراین ایجاد شرایط رفاهی استاندارد به منظور اطمینان از رفتار انسانی با این حیوان آزمایشگاهی ضروری است. مراکز نگهداری رت از نظر رطوبت، تهویه، روشنایی و بهداشت باید شرایط استاندارد داشته باشند؛ همچنین آموزش لازم به پرسنل در خصوص نگهداری و نظافت مراکز و آموزش به پژوهشگران در خصوص رعایت اصول اخلاقی ضروری به نظر می‌رسد. لازم است مراکز نظارتی بر این موارد نظارت داشته باشند و همچنین مجلات علمی و پژوهشی باید در خصوص اطمینان از رعایت اصول اساسی اخلاق در پژوهش اهتمام کافی داشته باشند.

بنابراین اصول اخلاق در کار با رت را می‌توان به شکل زیر خلاصه نمود:

۱. پژوهشگران باید گواهینامه‌های لازم جهت کار با حیوان را اخذ نمایند.

۲. برطبق اصل 3R قبل از شروع یک طرح پژوهشی باید به این سوالات جواب داد: (۱) آیا انتخاب‌های مناسب دیگری که بتوان آنها را جایگزین استفاده از حیوانات نمود وجود دارد؟ (۲) آیا تعداد حیوانات مد نظر از نظر آماری قابل قبول است؟ (۳) آیا می‌توان از میزان آزار وارده بر حیوانات به نحوی کم کرد؟

۳. قفس‌ها بایستی حداقل هفته‌ای یک بار نظافت شوند و غذای جدید برای حیوان فراهم شود، همچنین بطری‌های آب و درپوش آنها به صورت هفتگی تعویض شود.

۴. فرآورده‌های غذایی مورد استفاده توسط حیوان باید دارای تاریخ مصرف باشند و در عمر مفید خود مورد استفاده قرار گیرند.

۵. اندازه استاندارد قفس نگهداری حیوان باید فضایی در حدود ۵۰۰ سانتیمتر مربع با ارتفاع حداقل ۱۲ سانتیمتر باشد.

۶. دما و رطوبت استاندارد در محل نگهداری حیوان باید در حد استاندارد (۲۶-۲۰ سانتیگراد و ۷۰-۳۰ درصد) حفظ شود.

۷. به طور معمول، مدت زمانی که می‌توان حیوان را ناشتا نگه داشت نباید بیشتر از ۱۶ ساعت باشد.

۸. اگر خونگیری تنها در یک نوبت و بدون جایگزینی صورت گیرد، حداکثر حجم خونی که می‌توان جمع‌آوری کرد ۱۰٪ از کل حجم خون یا ۷-۵/۵ میلی لیتر بر کیلوگرم است.

۹. برای جلوگیری از هیپوترمی استفاده از منبع گرمایشی مناسب قبل، طی و بعد از جراحی ضروری است.

۱۰. حیوانات بعد از عمل باید حداقل یک بار در روز به مدت سه روز از نظر وجود هر نوع نشانه‌ای از ناراحتی، کاهش اشتها و یا تعویق بهبود زخم کنترل شوند.

۱۱. لازم است در مورد روش‌های اوتانازی حیوان مورد استفاده آگاهی کسب شود.

۱۲. لاشه و بافت حیوان به عنوان زباله‌های زیستی عفونی باید در کیسه‌های مخصوص دفع دور انداخته شوند.

ملاحظه‌های اخلاقی

در این پژوهش مروری با معرفی منابع مورد استفاده، اصل اخلاقی امانتداری علمی رعایت و حق معنوی مولفین آثار محترم شمرده شده است.

واژه نامه

1. Ethical Aspects	جنبه‌های اخلاقی
2. Law	حقوق
3. Medical Ethics	اخلاق پزشکی
4. Six Ethics Guidelines in Research	راهنمای شش‌گانه اخلاق در پژوهش
5. Animal Research	پژوهش بر حیوانات

guidelines. *British Journal of Pharmacology*; 160(7): 1573-1576.

12. Auer JA, Goodship A, Arnoczky S, Pearce S, Price J, Claes L, et al. (2007). Refining animal models in fracture research: seeking consensus in optimising both animal welfare and scientific validity for appropriate biomedical use. *BMC Musculoskeletal Disorders*; 8(1):72.
13. Jarvis S, Day J, Reed B. (2005). British society of animal science: Ethical guidelines for research in animal science. *Proceedings of the Britain Society of Animal Science*; 4(6).
14. Zurlo J, Rudacille D, Goldberg AM. (1996). The three Rs: the way forward. *Environmental Health Perspectives*; 104(8): 878.
15. Miziara ID, Magalhães AT, Santos MA, Gomes ÉF, Oliveira RA. (2012). Research ethics in animal models. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*; 78(2): 128-131.
16. Kilkenny C, Parsons N, Kadyszewski E, Festing MF, Cuthill IC, Fry D, et al. (2009). Survey of the quality of experimental design, statistical analysis and reporting of research using animals. *PloS One*; 4(11): e 7824.
17. Fraser D, Duncan IJ, Edwards SA, Grandin T, Gregory NG, Guyonnet V, et al. (2013). General principles for the welfare of animals in production systems: the underlying science and its application. *The Veterinary Journal*; 198(1): 19-27.
18. Tannenbaum J. (1999). Ethics and pain research in animals. *ILAR Journal*; 40(3): 97-110.
19. Streba C, Vere C, Miscu C, Gheonea D, Sandulescu L, Ciurea T, et al. (2012). Mice and Ethics. *Current Health Sciences Journal*; 38(1).
20. Clapperton BK. (2006). A review of the current knowledge of rodent behaviour in relation to control devices. Science & Technical Pub, Department of Conservation.
21. Kaliste E, Mering S. (2007). The welfare of laboratory rats: The welfare of laboratory animals. Germany: Springer.
22. Kikusui T, Takigami S, Takeuchi Y, Mori Y. (2001). Alarm pheromone enhances stress-induced hyperthermia in rats. *Physiology & Behavior*; 72(1): 45-50.
23. Lawlor MM. (2002). Comfortable quarters for rats in research institutions. *Comfortable Quarters for Laboratory Animals*; (4): 26-32.
24. Heffner HE, Heffner RS, Contos C, Ott T. (1994). Audiogram of the hooded Norway rat. *Hearing Research*; 73(2): 244-247.
25. Burgdorf J, Kroes RA, Moskal JR, Pfaus JG, Brudzynski SM, Panksepp J. (2008). Ultrasonic vocalizations of rats (*Rattus norvegicus*) during mating, play, and aggression: Behavioral concomitants, relationship to reward, and self-administration of playback. *Journal of Comparative Psychology*; 122(4): 357.
26. Manser CE, Morris T, Broom D. (1995). An investigation into the effects of solid or grid cage

6. Research پژوهش
7. Rat موش بزرگ
8. Tree Rs قوانین 3R
9. Replacement اصل جایگزینی
10. Reduction اصل کاهش
11. Refinement اصل بهینه سازی
12. Food restriction محدودیت غذایی
13. Anesthetic Depth Testing تست عمق بیهوشی
14. Euthanasia اوتانازی
15. Painless death مرگ بدون درد

References

1. Sherwin CM, Christiansen SB, Duncan IJ, Erhard HW, Lay DC, Mench JA, et al. (2003). Guidelines for the ethical use of animals in applied ethology studies. *Applied Animal Behaviour Science*; 81(3): 291-305.
2. Maharati Y. (2014). Ethics in scientific research process. *Ethics in Science and Technology*; 9(1): 12-21. (In Persian).
3. Mobasher M, Sasani P, Al-e-Davood SJ, Aramesh K, Larijani B. (2012). Revision of the guideline for ethical use of animals. *Iranian Journal of Medical Ethics and History of Medicine*; 70 : 111-115.
4. Machado GF, Melo GD, Perri SH, Fernandes FV, Moraes OC, Souza MS, et al. (2016). Perceptions of animal experimentation: a longitudinal survey with veterinary students in Araçatuba, São Paulo, Brazil. *Journal of Biological Education*; 8(1).
5. Festing MF, Overend P, Gaines Das R, Cortina-Borja M, Berdoy M. (2002). The design of animal experiments: reducing the use of animals in research through better experimental design. USA: The Royal Society of Medicine Press Limited.
6. Carlsson B. (1985). Ethical issues in animal experimentation--view of the animal rightist. *Acta physiologica Scandinavica Supplementum*; 50: 554-568.
7. Mobasher M. (2007). Study of ethical principles in research on experimental animals by qualitative method. *Ethics in Science and Technology*; 1(1): 49-60. (In Persian).
8. Khodaparast A. (2009). Critical study of the Six ethics guidelines in Iranian research. *Journal of Reproduction and Infertility*; 8(4): 365-379. (In Persian).
9. Mobasher M. (2008). Knowledge, attitude and practice towards ethical principles research on laboratory animals. *Ethics in Science and Technology*; 2(1): 7-16. (In Persian).
10. Sengupta P. (2013). The laboratory rat: relating its age with human's. *International Journal of Preventive Medicine*; 4(6).
11. McGrath J, Drummond G, McLachlan E, Kilkenny C, Wainwright C. (2010). Guidelines for reporting experiments involving animals: the ARRIVE

44. Underwood E. (2012). Trace elements in human and animal nutrition. Nethrland: Elsevier.
45. Hau J, Schapiro SJ. (2010). Handbook of Laboratory Animal Science. USA: CRC press.
46. Fox JG, Anderson L, Loew F, Quimby F. (2002). Laboratory animal medicine. American College of Laboratory Animal Medicine Series. Amsterdam: American Press.
47. Hutchinson E, Avery A, VandeWoude S. (2005). Environmental enrichment for laboratory rodents. ILAR Journal; 46(2): 148-161.
48. CoUnCil R. (2010). Recognition and alleviation of pain in laboratory animals. USA: National Academies Press.
49. Smith JA, Jennings M. (1998). Ethics training for laboratory animal users. Laboratory Animals; 32(2): 128-136.
50. Cornelis R, Heinzow B, Herber R, Christensen JM, Poulsen O, Sabbioni E, et al. (1995). Sample collection guidelines for trace elements in blood and urine (Technical Report). Pure and Applied Chemistry; 67 (8,9): 1575-1608.
51. Hoff J. (2000). Methods of blood collection in the mouse. Lab Animal; 29(10): 47-53.
52. McGill MW, Rowan AN. (1989). Biological effects of blood loss: implications for sampling volumes and techniques. ILAR Journal; 31(4): 5-20.
53. Wolford S, Schroer R, Gohs F, Gallo P, Brodeck M, Falk H, et al. (1986). Reference range data base for serum chemistry and hematology values in laboratory animals. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A Current Issues; 18(2): 161-188.
54. Hau J, Van Hoosier G, Ritskes-Hoitinga M, Chwalibog A. (2003). Nutrient. Requirements, Experimental Design and Feeding Schedules in animal Experimental. In: Handbook of laboratory animal science. USA: CRC Press.
55. Waynforth HB, Flecknell PA. (1980). Experimental and surgical technique in the rat. London: Academic Press .
56. Sikes RS, Gannon WL. (2011). Guidelines of the American society of mammalogists for the use of wild mammals in research. Journal of Mammalogy; 92(1): 235-253.
57. Arras M, Autenried P, Rettich A, Spaeni D, Rüllicke T. (2001). Optimization of intraperitoneal injection anesthesia in mice: drugs, dosages, adverse effects, and anesthesia depth. Comparative Medicine; 51 (5): 443-456.
58. Lang CM. (2012). Animal physiologic surgery. Germany: Springer Science & Business Media.
59. Hewett TA, Kovacs MS, Artwohl JE, Bennett B. (1993). A comparison of euthanasia methods in rats, using carbon dioxide in prefilled and fixed flow rate filled chambers. Laboratory Animal Science; 43(6): 579-582.
60. Moody CM, Makowska IJ, Weary DM. (2015). Testing three measures of mouse insensibility following induction with isoflurane or carbon flooring on the welfare of laboratory rats. Laboratory Animals; 29(4): 353-363.
27. Newton W. (1978). Environmental impact on laboratory animals. Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine; 22: 1.
28. Novakova V, Babický A. (۱۹۸۸). Coprophagy in young laboratory rat. Physiologia Bohemoslovaca; 38(1): 8-21.
29. Care IoLARCo, Animals UoL, Resources NIoHDoR. (1985). Guide for the care and use of laboratory animals. USA: National Academies.
30. Hargreaves AL. (2000). Housing for laboratory rats, mice, guinea pigs and rabbits. Newziland: ANZCCART.
31. Grossblatt N. (1978). Guide for the care and use of laboratory animals. USA: National Academies.
32. Forni M. (2007). Laboratory animal science: A resource to improve the quality of science. Veterinary Research Communications; 31(1): 7-43.
33. Fitzmaurice MA. (1988). Physiological relationships among stress, viruses, and cancer in experimental animals. International Journal of Neuroscience; 39(3,4): 307-324.
34. Lloyd M, Wolfensohn S. (2003). Handbook of laboratory animal management and welfare. Ames, Iowa: Blackwell Science.
35. Patterson-Kane EG. (2002). Cage size preference in rats in the laboratory. Journal of Applied Animal Welfare Science; 5(1): 63-72.
36. Scharmann W. (1991). Improved housing of mice, rats and guinea-pigs: a contribution to the refinement of animal experiments. Alternatives to laboratory animals. New York: ATLA.
37. Foulkes A. (2004). Do laboratory rats benefit from more cage spaces? Animal Welfare Institute Quarterly (AWI Quarterly); 18: 53-59.
38. Sharp P, Villano JS. (2012). The laboratory rat. USA: CRC Press.
39. Ploger BJ, Yasukawa K. (2002). Exploring animal behavior in laboratory and field: an hypothesis-testing approach to the development, causation, function, and evolution of animal behavior. USA: Academic Press.
40. Mumme RL, Ploger B, Yasukawa K. (2003). Economic decisions and foraging trade-offs in chickadees. Exploring animal behavior in laboratory and field (BJ Ploger and K Yasukawa, Editors) USA: Academic Press. Pp. 7-231.
41. Ploger BJ, Yasukawa K. (2003). Introduction to statistics: Exploring animal behavior in laboratory and field: A hypothesis-testing approach to the development, causation, function, and evolution of animal behavior. USA: Academic Press.
42. Council NR. (2010). Guide for the care and use of laboratory animals. USA: National Academies Press.
43. Kale VP, Joshi GS, Gohil PB, Jain MR. (2009). Effect of fasting duration on clinical pathology results in Wistar rats. Veterinary Clinical Pathology; 38(3): 361-366.

Journal of the American Association for Laboratory Animal Science;43(5): 29-34.

63. Delany JR, Pentella MA, Rodriguez JA, Shah KV, Baxley KP, Holmes DE. (2011). Guidelines for biosafety laboratory competency. USA: Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention.

dioxide gas for a more humane euthanasia. Applied Animal Behaviour Science; 7: 163-183.

61. Posner LP, Burns P. (2009). Injectable anesthetic agents. Veterinary Pharmacology and Therapeutics: 265-300.

62. Klaunberg BA, O'Malley J, Clark T, Davis JA. (2004). Euthanasia of mouse fetuses and neonates.