

دستورالعمل مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی

قبل از استفاده از حیوانات مهره دار زنده در مطالعات، کمیته ای بنام کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی شرایط را از نظر مناسب بودن و لزوم استفاده از حیوانات، مورد بازبینی قرار می دهد.

دستور العمل ها

- 1- توصیه می شود قبل از ارائه پروپوزال، با فرد دیگری که آشنا به روند تجدید نظر، مطالعه و ارزیابی پروپوزال باشد، مشورت نمایید. این امر سبب شناسایی اشتباهات شایعی می گردد که می تواند تصویب پروپوزال پژوهشی را به تاخیر اندازد.
- 2- قبل از ارائه پروپوزال پژوهشی خود، با یکی از دامپزشکان مجرب در خصوص درد و رنج های وارده به حیوانات مشورت نمایید.
- 3- پروپوزال تکمیل شده، به منزله یک سند مستقل می باشد؛ یعنی هیچکدام از پاسخ های مندرج در آن، نباید مسئولین ارزیابی را به یک تقاضانامه، مقاله علمی یا هر منبع خارجی دیگر برای اطلاعات خواسته شده ارجاع دهد.
- 4- استفاده از زبان قابل فهم برای همه بازبینی کنندگان پروپوزال بویژه در بخش مربوط به توصیف غیر تخصصی، ضروری است. بقیه متن نیز باید برای یک فرد متخصص خارج از رشته تحصیلی شما قابل فهم باشد.
- 5- به تمام سوالات مطرح شده در فرم ها پاسخ دهید. حتی در مقابل سوالات غیر مرتبط نیز باید نوشته شود :
« بدون پاسخ » یا غیر مرتبط
- 6- یک نسخه تایپ شده و امضا شده از پروپوزال، باید به دفتر کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی ارائه شود.

فقط برای استفاده دفتر کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی	
تاریخ تصویب کمیته اخلاق :	پروپوزال تحقیقی :
	شماره پروپوزال :
	تاریخ ارائه :
	تاریخ تصویب پروپوزال تحقیقی :
کدمجوز اخلاقی :	گروه بندی نوع درد وارده به حیوان (براساس طبقه بندی بند ط) :

در تحقیقاتی که از حیوانات آزمایشگاهی استفاده می شود، جهت اخذ مجوز اخلاقی، در موارد ذیل:

- 1- جراحی .
- 2- شکستن استخوان ها.
- 3- آماده سازی نوروفیزیولوژیک.
- 4- مسمومیت در اثر دارو یا اشعه .
- 5- تجمع خون داخلی قلبی یا پری اربیتال.
- 6- سوء تغذیه متوسط تا شدید.
- 7- مداخلاتی که باعث تخریب بافتی یا مرگ گردند.
- 8- عوامل ایجاد کننده التهاب یا نکروز وسیع مانند اجوان کامل فروند یا برادی کینین.
- 9- مقید کردن حیوانات به صندلی یا داربستی که به آن عادت داده نشده اند یا بستن هر حیوانی بیش از 12 ساعت .
- 10- سوزاندن یا انجماد.
- 11- شوک الکتریکی منجمله شوک تقویتی.
- 12- تعیین LD .
- 13- تلقیح داخل مغزی یا داخل قلبی.
- 14- کاربرد تحریکات زیان بار بدون وقفه.
- 15- تحمیل شرایط محیطی غیر طبیعی.
- 16- آزمونهای ایجاد درد.

تکمیل این فرمها لازم است:

✓ فرم مربوط به پروپوزال مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی (صفحات 3 الی 12 می باشد)

✓ فرم امضاء (صفحه 13)

✓ ضمائم 1 الی 9 (هر کدام که ضرورت داشته باشد) (صفحات 14 الی 27)

فرم مربوط به پروپوزال مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی

محقق (مجری) اصلی:

(فقط اعضای هیات علمی)

دپارتمان (گروه): دانشکده: تلفن محل کار: تلفن همراه:

آدرس پست الکترونیکی (E-mail):

عنوان پروپوزال:

منابع مالی این پروژه از کجا تامین می گردد: (تمام منابع مالی پیش بینی شده را اعلام فرمایید)

آیا در پروپوزال شما انجام جراحی بر روی حیوان پیش بینی شده است؟ منجمله موارد مغایر با حیات (یعنی جراحی هایی که منجر به مرگ حیوان می شوند؟

بله خیر

اگر پاسخ مثبت است، لطفاً ضمیمه 1 را تکمیل کنید.

آیا پروپوزال شامل نگهداری یک مجموعه پرورش حیوانات است؟ بله خیر

اگر پاسخ مثبت است، لطفاً ضمیمه 2 را تکمیل کنید

آیا پروپوزال در بردارنده هر گونه بافت های حیوانی از منابعی غیر از حیواناتی که در این پروپوزال درخواست شده است می باشد؟

بله خیر

اگر پاسخ مثبت است، لطفاً ضمیمه 3 را تکمیل کنید.

آیا استفاده از مواد تاریخ مصرف گذشته در جراحی مغایرت با حیات را پیش بینی می کنید؟

بله خیر

اگر پاسخ مثبت است، لطفاً ضمیمه 4 را تکمیل کرده و شرح استفاده مورد نظر را در پروپوزال ذکر نمایید. (بخش ه اقدامات عملی)

آیا در طی اجرای این پروپوزال ممکن است ممانعت از هوشیاری حیوانات به مدت بیش از 15 دقیقه صورت پذیرد؟

بله خیر

اگر پاسخ مثبت است، علت و ضرورت آن را بیان نمایید. (بخش ه اقدامات عملی)

آیا این پروپوزال در بردارنده محدودیت آب و غذا برای حیوانات می باشد؟

بله خیر

اگر پاسخ مثبت است، لطفاً علت و ضرورت برقراری محدودیت آب و غذا برای حیوانات را بیان نمایید.
(بخش هـ اقدامات عملی)

آیا این پروپوزال در بردارنده تحقیق مشترکی که در آن هرگونه مطالعات حیوانی در موسسات دیگری انجام شود، می باشد؟

بله خیر

اگر پاسخ مثبت است، لطفاً اطلاعات ذیل را از موسسات سهمیم تهیه و الصاق نمایید:

(1) تاییدیه از کمیته موسسات مراقبت و استفاده از حیوانات مبنی بر رعایت کدهای اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی (در صورت وجود)

(2) یک نسخه از پروپوزال

(3) شماره بیمه خدمات بهداشتی عمومی موسسه (در صورت وجود)

[

آیا این پروپوزال در بردارنده استفاده *in vivo* از DNA نو ترکیب و یا عوامل عفونی می باشد؟

بله خیر

اگر پاسخ مثبت است، تاییدیه از گروه کنترل بیماریهای واگیر مرکز بهداشت استان و یا سایر موسسات ذیربط می بایست قبل از دریافت تاییدیه کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی برای انجام آزمایشاتی که در آن از چنین عواملی استفاده می شود تهیه شده باشد.

آیا این پروپوزال در بردارنده استفاده *in vivo* از مواد رادیواکتیو می باشد؟

بله خیر

اگر پاسخ مثبت است، می بایست قبل از دریافت تاییدیه برای انجام چنین آزمایشاتی که مواد رادیواکتیو در آن استفاده می شود، از گروه بهداشت محیط مرکز بهداشت استان و یا سایر موسسات ذیربط تایید اخذ شده باشد یک نسخه از درخواست و تاییدیه باید به کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی ارائه گردد.

آیا این پروپوزال در بردارنده استفاده *in vivo* از کارسینوژن ها، سموم یا موتازن ها می باشد؟

بله خیر

اگر پاسخ مثبت است، می بایست قبل از دریافت تاییدیه برای انجام چنین آزمایشاتی، از دفتر ایمنی و بهداشت محیط مرکز بهداشت استان و یا سایر موسسات ذیربط تاییدیه اخذ شده باشد یک نسخه از درخواست و تاییدیه باید به دفتر کمیته اخلاق با محوریت مطالعه حیوانی و آزمایشگاهی ارائه گردد.

آیا در این پروپوزال قرار است از حیواناتی که قبلاً در پروژه دیگری بکار گرفته شده اند استفاده شود؟

بله خیر

اگر پاسخ مثبت است، نام محقق و شماره ثبت پروتکل وی در کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی را ذکر نمایید.

امضاء

نام محقق اصلی:

بازبینی توسط یک کارشناس که به لحاظ تخصصی از روند بیهوشی و بی دردی پیش بینی شده در پروپوزال آگاه باشد.

یک کارشناس می بایست پروپوزال شما را قبل از ارائه آن، از نظر درد و یا رنج های وارده به حیوانات، مورد بازبینی قرار دهد. قبل از ارائه پروپوزال باید یک نماینده آشنا با جزئیات پروپوزال از طرف شما با یک کارشناس تخصصی حیوانات آزمایشگاهی ملاقات نماید.

امضای کارشناس تخصصی تاریخ :

کارکنان

اطلاعات مربوط به بخش کارکنان را برای هر یک از افرادی که با حیوانات تماس دارند، (شامل: محققین اصلی، تکنیسین ها، دانشجویان، رزیدنت ها، فلوها و اعضای هیات علمی بازدید کننده و.....) تکمیل نمایید. محقق مسئولیت دارد هر گونه تغییری در کارکنان را به دفتر کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی اعلام نماید.

حداقل باید یک نفر که در پروپوزال نام برده شده است. برای مقابله با عوارض پیش آمده، در تمامی اوقات در دسترس باشد. اگر همه کارکنان بصورت همزمان غیر قابل دسترسی هستند (جلسات، تعطیلی ها و غیره) هماهنگی قبلی با بخش مسئول حیوانات آزمایشگاهی، به منظور مواجهه با شرایط اورژانسی پیش آمده برای حیوانات مربوط به این پروپوزال باید انجام گیرد.

چه کسی بعنوان فرد مسئول تماس اولیه در نظر گرفته می شود (بعبارت دیگر در صورت لزوم در ابتدا باید با چه کسی تماس گرفته شود؟)

نام :

عنوان :

تلفن همراه :

الف) اطلاعات و مشخصات کارکنان

برای هر یک از افرادی که با حیوانات تماس دارند و با این پروپوزال کار می کنند یک فرم جداگانه تکمیل گردد (فرم، به تعداد مورد نیاز تکثیر شود).

نام	سمت	میزان تخصیلات	دپارتمان/ گروه	تلفن محل کار	تلفن همراه	آدرس پست الکترونیکی E-mail
<p>آیا این فرد، دوره قوانین و مقررات اجباری مربوط به مراقبت و استفاده از حیوانات را گذرانده است و یا مدارک آموزشی معادل آن را دارد؟</p> <p><input type="checkbox"/> بله <input type="checkbox"/> خیر</p> <p>این فرد کارهای زیر را در این پروتکل انجام خواهد داد (تمام مواردی که در این پروتکل انجام می شود را علامت بزنید):</p> <p>مرگ آسان: <input type="checkbox"/> جابجایی مهره گردنی <input type="checkbox"/> جدا کردن سر <input type="checkbox"/> CO₂ <input type="checkbox"/> مواد تزریقی <input type="checkbox"/> سایر موارد (لطفا شرح دهید)</p> <p>بیهوشی: <input type="checkbox"/> تزریقی <input type="checkbox"/> استنشاقی <input type="checkbox"/> منطقه ای (موضعی)</p> <p>جراحی آسپتیک منجر به بقا (فقط جوندگان): <input type="checkbox"/> آماده سازی <input type="checkbox"/> جراحی <input type="checkbox"/> مراقبت های پس از عمل</p> <p>جراحی استریل منجر به بقا (سایر پستانداران): <input type="checkbox"/> آماده سازی <input type="checkbox"/> جراحی <input type="checkbox"/> مراقبت های پس از عمل</p> <p>اقدامات عملی شایع: (تمام گونه های مورد استفاده را ذکر نمایید)</p> <p>تماس با حیوان و یا بستن حیوان</p>						
<p>تزریقات:</p> <p>زیر جلدی (SQ)</p> <p>داخل عضلانی (IM)</p> <p>داخل صفاقی (IP)</p> <p>داخل ورید (IV)</p> <p>سایر انواع تزریق (شرح دهید)</p> <p>سایر اقدامات عملی: (اقدامات عملی و نوع گونه ها را شرح دهید)</p>						
<p>اگر این فرد، تجربیات اختصاصی در مورد اقدامات ذکر شده را در خلاصه آموزش خود ندارد، مشخص نمایید چه کسی مسئول آموزش وی خواهد بود:</p> <p>توجه: مربی هنگام تکمیل آموزش باید برای تهیه مدارک با دفتر کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی تماس بگیرد.</p>						

ب) اطلاعات حیوانات

فرم زیر را برای هر گونه (SPECIES) و یا نژاد (STRAIN) بطور جداگانه پر کنید.

گونه :	تعداد کل تقاضا شده :
نژاد یا تیره:	
جنس: □ نر □ ماده	میانگین آمار روزانه :
سن یا وزن:	میانگین مدت اسکان:
منبع ترجیحی (اگر موجود است) :	
لطفاً هر گونه نیازمندی محیطی را شرح دهید (قفس، غذا، غیره) :	
اگر لازم است، این حیوانات از دپارتمان مرجع حیوانات آزمایشگاهی منتقل شوند لطفاً اطلاعات زیر را تهیه نمایید. (اگر بیش از یک مکان موجود است بطور جداگانه ذکر کنید).	
مکان (شماره ساختمان و اتاق) :	طول مدت (دقایق، غیره) :
فهرست اقداماتی که باید در آنجا انجام گیرد:	
.	
گونه:	تعداد کل تقاضا شده:
نژاد یا تیره:	
جنس : □ نر □ ماده	میانگین آمار روزانه :
سن یا وزن:	میانگین مدت اسکان
منبع ترجیحی (اگر موجود است) :	
لطفاً هر گونه نیازمندی محیطی را شرح دهید (قفس، غذا، غیره) :	
اگر لازم است، این حیوانات از دپارتمان مرجع حیوانات آزمایشگاهی منتقل شوند لطفاً اطلاعات زیر را تهیه نمایید.(اگر بیش از یک مکان موجود است بطور جداگانه ذکر کنید).	
مکان (شماره ساختمان و اتاق) :	طول مدت (دقایق، غیره) :
فهرست اقداماتی که باید در آنجا انجام گیرد:	

ج) توصیف غیر تخصصی (توضیح پروپوزال به زبان ساده)

در پروپوزال خلاصه ایی از آزمایشهای پیشنهادی را به شکلی که برای یک دانش آموز متوسط دبیرستانی قابل فهم باشد ارائه نمایید. هرگونه اصطلاح تکنیکی یا علمی باید تعریف گردد. این توصیف حداقل باید پاسخگوی سوالات زیر باشد:

- 1) اهداف تحقیق کدامند؟
- 2) چرا این اهداف حائز اهمیت هستند؟
- 3) آزمایشات پیشنهادی کدامند؟
- 4) آزمایشات پیشنهادی چگونه به رسیدن به این اهداف کمک می نمایند؟

د) اطلاعاتی که از رویکرد تجربی حمایت می نمایند:

- 1) دورنمای علمی و دلایل منطقی برای آزمایشات پیشنهادی را شرح دهید.
- 2) از این مطالعه چه فایده یا کمک بالقوه ای برای علوم پزشکی ممکن است حاصل گردد؟
- 3) در مورد اینکه چرا اطلاعات مورد نظر نمی توانند با استفاده از جایگزین های غیر حیوانی بدست آیند دلایل خود را ارائه نمایید. پاسخ می بایست استفاده از انسان، روش های *in vitro*، شبیه سازی کامپیوتری و هر مدل بالقوه غیر حیوانی دیگر را در بر داشته باشد.
- 4) در مورد اینکه چرا گونه های حیوانی انتخاب شده می بایست مورد استفاده قرار گیرند دلایل خود را ارائه نمایید. پاسخ می بایست استفاده از گونه های پست تر در مقیاس رده بندی را در نظر داشته باشد. حیوانات بالاتر در مقیاس رده بندی نیز اگر نشان دهنده مدل مناسب تری باشند باید مد نظر قرار گیرند.
- 5) آزمایشات پیشنهادی را فهرست نمایید. برای هر آزمایش، تعداد حیوانات در هر گروه را متذکر گردیده و شرح دهید این تعداد چگونه تعیین شده است. بهتر است تعیین تعداد بر اساس یک آنالیز نمایی و یا تجربیات گذشته باشد تا تعداد مورد نیاز از نظر آماری معنی دار باشد. تعداد کل همه گروه هایی که در اینجا فهرست می شوند باید با تعداد کل خواسته شده در بخش ب همخوانی داشته باشد.

ه) اقدامات عملی

تمام اقدامات تجربی را که حیوانات در آن شرکت دارند شرح دهید). هر نوع عمل بالقوه در مورد یک حیوان می بایست به تفصیل شرح داده شود. برای کمیته ضروری است اطلاع داشته باشد که برای هر حیوان به ترتیب چه رویدادهایی رخ می دهد (از شروع آزمایش تا مرگ آسان). بدین منظور، ارائه یک دیاگرام وقایع نیز اغلب مفید است. محقق می تواند جزئیات اقدامات جراحی را در فرم مداخله جراحی درج نماید.

و) داده ها

چه اطلاعاتی از آزمایشات فوق حاصل می شوند و چگونه می توانند به پرسش های عملی مطرح شده در پروتکل مرتبط گردند؟

ز) مرگ آسان

روش های مرگ آسان مورد استفاده در حیوان را به همراه مقدار و روش تجویز هر نوع دارویی که باید مصرف گردد شرح دهید. اگر روش مرگ آسان جزو انواع اختلالات فیزیکی مغایر با حیات، بازکردن توراکس، جدا کردن سر وغیره نمی باشد. چگونگی حصول اطمینان از مرگ قبل از معدوم کردن لاشه را شرح دهید.

ح) راهنماها

اگر پروتکل شما در برگیرنده هر کدام از اقدامات عملی زیر است خانه های مناسب را علامت زده و برگه امضاهای مربوطه را الصاق نمایید.

- ضمیمه 4: راهنمای تولید آنتی بادی های پلی کلونال و مونوکلونال در جوندگان و خرگوش
- ضمیمه 5: راهنمای استفاده از جوندگان در نئوپلازی تجربی و تولید آسیت
- ضمیمه 6: راهنمای مرگ به عنوان نقطه انتها (پایان)
- ضمیمه 7: راهنمای استفاده از حیوانات بیهوش یا فلج شده
- ضمیمه 8: راهنمای استفاده از مواد تاریخ مصرف گذشته پزشکی

ط) سطح درد و یا رنج وارده

متن زیر می بایست توسط محقق مطالعه و امضا شود.

یکی از مسئولیت های مهم کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی تعیین درجه درد و یا رنجی است که به حیوانات وارد می گردد. مسئولیت دیگر این کمیته بررسی روش یا روش هایی است که برای جلوگیری، تسکین یا به حداقل رساندن آن درد و یا رنج صورت می گیرند.

قانون بهزیستی حیوانات، یک اقدام دردناک را این گونه تعریف می نماید:

"هر اقدامی که از نظر منطقی برای انسان، درد یا رنج (در حد بیش از خفیف یا لحظه ای) ایجاد نماید (یعنی درد به حدی باشد که در اثر تزریقات یا سایر اقدامات ایجاد می شود) را اقدام دردناک گویند."

اقدامات دردناک و یا رنج آور قابل توجه: موارد زیر، نمونه هایی از آن می باشند (توجه: فهرست زیر، کامل نیست):

- 1- جراحی
- 2- شکستن استخوان ها
- 3- آماده سازی نوروفیزیولوژیک
- 4- مسمومیت در اثر دارو یا اشعه
- 5- تجمع خون داخلی قلبی یا پری اربیتال
- 6- سوء تغذیه متوسط تا شدید

- 7- مداخلاتی که باعث تخریب بافتی یا مرگ گردند.
- 8- عوامل ایجاد کننده التهاب یا نکروز وسیع مانند اجوان کامل فروند یا برادی کینین
- 9- مقید کردن حیوانات به صندلی یا داربستی که به آن عادت داده نشده اند یا بستن هر حیوانی بیش از 12 ساعت
- 10- سوزاندن یا انجماد
- 11- شوک الکتریکی منجمله شوک تقویتی
- 12- تعیین LD
- 13- تلقیح داخل مغزی یا داخل قلبی
- 14- کاربرد تحریکات زیان بار بدون وقفه
- 15- تحمیل شرایط محیطی غیر طبیعی
- 16- آزمونهای ایجاد درد

نشانگرهای رفتاری درد

توجه: در بین حیوانات تفاوت های بین گونه ای و فردی قابل توجهی در پاسخ به درد وجود دارد.

- گاز گرفتن یا مقاومت در مقابل دست زدن به حیوان (در حیوانات عادت داده شده)
- سفت کردن ناحیه دردناک
- صدا در آوردن
- تمارض به فلج شدن
- نگاه کردن، لیس زدن، جویدن یا بو کردن ناحیه دردناک
- بی میلی به تحمل وزن، سستی
- بی میلی به حرکت کردن یا بلند شدن
- رفتار لتارژیک
- الگوی تنفسی غیر طبیعی
- افزایش بزاق
- بی اشتها
- لرزیدن
- اتخاذ وضعیت های غیرطبیعی
- رفتار توام با نگرانی

مداخله تغذیه ای

مداخله تغذیه ای، بصورت میزانی از سوء تغذیه که به طور قابل ملاحظه در فیزیولوژی حیوان تداخل نماید، تعریف می گردد. در بیشتر حیوانات، گرسنگی تا حد 24 ساعت (48 ساعت برای پستانداران)، بعنوان استرس تغذیه ای قابل توجه در نظر گرفته نمی شود مگر در مورد نوزادان حیوانات یا حیوانات دارای میزان متابولیسم بالا (مثل جوندگان). استرس تغذیه ای میتواند از طریق گرسنگی یا تغذیه با رژیمی که یک یا چند ماده مغذی آن کمتر یا بیشتر از سطح

توصیه شده است، ایجاد گردد. هر گونه مداخله تغذیه ای طرح ریزی شده باید در بخش اقدامات عملی، شرح داده شود.

اینجانب اطلاعات فوق را مطالعه و درک نموده ام .

نام و امضای محقق اصلی : تاریخ:

شدت درد ایجاد شده در این پروپوزال را تعیین نمایید:

فقط هنگامی بیش از یک مورد را تعیین کنید که بعلت استفاده های متفاوت از حیوانات، لازم است در گروه های متفاوت قرار داده شوند. مثلاً برخی حیوانات فقط به منظور تهیه بافت با مرگ آسان مواجه شوند "(C)" در صورتی که بقیه حیوانات قبل از مرگ آسان تحت عمل جراحی "(D)" قرار بگیرند.

□ گروه C : درد و یا رنج وارده در حد کمتر از یک تزریق باشد.

□ گروه D : درد و یا رنجی که بطور کامل توسط مسکن ها و یا بیهوش کننده ها تخفیف داده شده باشد.

□ گروه E : درد و یا رنجی که بطور کامل توسط مسکن ها و یا بیهوش کننده ها تخفیف داده نشده باشد.

محقق اصلی باید دلایل منطقی برای نیاز به قطع بیهوش کننده ها و یا مسکن، ارائه نماید. ممکن است از محقق درخواست شود که در یک جلسه برای بحث در مورد تحقیق پیشنهادی با کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیواناتی و آزمایشگاهی نیز شرکت نماید.

برای پروتکل های نوع D یا E نیاز به ارائه موارد زیر می باشد:

جستجو برای جایگزین ها : محقق اصلی می بایست منابع و شرح روش هایی دال بر اینکه جایگزین های عملی برای اقدامات دردناک یا رنج آور در دسترس نمی باشند را تهیه نماید. این شرح روش ها و منابع حداقل باید حاوی جستجوی پایگاه داده ها با تمام اجزای مشخص شده زیر باشند:

پایگاه داده (های) جستجو شده :

تاریخی که جستجو انجام شده:

دوره زمانی که جستجو انجام شده:

واژه های کلیدی و یا استراتژی جستجوی انجام شده:

هر روش یا تکنیکی که بتواند منجر به کاهش استفاده از حیوانات یا جایگزین کردن مدل های حیوانی با انواع غیر حیوانی و یا اصلاح تکنیک های تجربی در جهت کاهش درد و رنج وارده گردد باید مورد توجه قرار گرفته و توجیهی برای مناسب نبودن آنها ارائه گردد.

امضاها

محقق اصلی با امضای متن زیر تایید می نماید که :

- 1- حیوانات در این مطالعه طبق قوانین و مقررات زیر مورد استفاده قرار خواهند گرفت.
الف) دستورالعملهای واحدهای زیر مجموعه مرکز آموزشی، تحقیقاتی درمانی قلب و عروق شهید رجایی شامل :
بهداشت حرفه ای، بهداشت محیط، گروه پیشگیری و مبارزه با بیماریهای واگیر.
ب) دستورالعملهای مدیریت حیوانخانه مرکز آموزشی، تحقیقاتی درمانی قلب و عروق شهید رجایی.
ج) کدهای اخلاقی مصوب کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی.
- 2- درد و رنج وارده به حیوانات تا حد قابل اجتناب برای انجام تحقیقات واجد ارزش علمی محدود خواهد شد.
- 3- داروهای مسکن، بیهوش کننده و آرام بخش به منظور به حداقل رساندن درد و یا رنج وارده هر موقع که اندیکاسیون داشته باشند تجویز خواهند شد.
- 4- تمام انواع جایگزین ها برای اقدامات دردناک و یا رنج آور مد نظر قرار داده شده اند.
- 5- گونه ها، تعداد حیوانات و اقدامات مورد استفاده، مناسب ترین گزینه برای مطالعه پیشنهادی می باشند.
- 6- تحقیق پیشنهادی، دوباره کاری غیر ضروری مطالعات پیشین نمی باشد.
- 7- اینجانب اطلاع دارم که مرگ آسان یک حیوان دچار درد و یا رنج باید تحت نظر یک دامپزشک دپارتمان مرجع حیوانات آزمایشگاهی (مدیرحیوان خانه) انجام پذیرد به طوری که عامل قبل از اجرای مرگ آسان تمام تلاش های لازم و منطقی را در جهت اهداف زیر بعمل آورد:
 - 7-1 پیگیری تمام راهنماهای مربوط به نقطه انتها (پایان) که در پروتکل مورد نظر پذیرفته شده است.
 - 7-2 تماس با محقق اصلی جهت هماهنگی
- 8- تمام افراد درگیر در این پروژه قبل از شروع هر نوع کاری با حیوانات، آموزش های لازم را خواهند دید.

امضای محقق اصلی : تاریخ :

امضای رئیس دپارتمان: تاریخ :

تاییدیه به مدت 3 سال اعتبار دارد و توسط کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی قابل پیگیری است در دوره اعتبار تاییدیه، بازبینی سالانه انجام خواهد شد. برای ادامه یک پروژه بعد از اعتبار 3 ساله، بازبینی کامل پروتکل ضروری است.

امضای رئیس کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی:

تاریخ تایید:

امضای دامپزشک یا مدیر مسئول حیوان خانه :

تاریخ تایید :

ضمیمه 1

فرم مداخله جراحی مرکز آموزشی، تحقیقاتی درمانی قلب و عروق شهید رجایی کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی

این فرم را فقط در مواردی که قرار است جراحی بزرگ انجام گردد تکمیل نمایید.
"جراحی بزرگ" به هر گونه مداخله جراحی که در آن به یکی از حفرات بدن نفوذ می شود یا احتمال ایجاد تغییرات فیزیکی یا فیزیولوژیکی دائمی وجود دارد اطلاق می گردد.

گونه : اگر در برگیرنده چندین گونه می باشد برای هر یک از گونه ها یک فرم جداگانه تکمیل نمایید.
شرح تفصیلی اقدام یا اقدامات جراحی:

طول مدت تقریبی اقدام جراحی:

نوع جراحی : منجر به مرگ منجر به بقا

محل انجام جراحی (دپارتمان مرجع حیوانات آزمایشگاهی یا غیره) :

اقدامات جراحی منجر به بقا بر روی تمام پستانداران بجز جوندگان باید در تسهیلات جراحی مخصوص (به عنوان مثال : تسهیلات جراحی دپارتمان مرجع حیوانات آزمایشگاهی) انجام گیرد، مگر اینکه توجیه مناسب برای استفاده از مکان دیگر ارائه گردد. (به جراحی منجر به بقا در ذیل مراجعه نمایید).

جراحی منجر به بقا بر روی جوندگان نیاز به تسهیلات مخصوص ندارد ولی ممکن است جراحی های جوندگان نیز در تسهیلات دپارتمان مرجع حیوانات آزمایشگاهی انجام گیرد.

ساختمان : شماره اتاق :

کارکنان انجام دهنده جراحی : لطفاً فهرست تمام کارکنانی که ممکن است در این جراحی شرکت داشته باشند را ذکر نمایید.

توجه : مدارک آموزش برای این جراحی می بایست در خلاصه آموزش هر کدام از افراد در کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی موجود باشد.

آیا مراقبت برای حیوانات در تمام طول مدت اقدام جراحی انجام خواهد شد؟

بله خیر

اگر خیر لطفاً توضیح دهید :

روش بیهوشی در طی جراحی

قبل از بیهوشی :

مواد و داروها	دوز (mg / kg)	روش (IP ، IM ، غیره)

بیهوشی:

مواد و داروها	دوز (mg / kg)	روش (IP ، IM ، غیره)

--	--	--

جراحی منجر به بقا

قسمت زیر را فقط در صورتی که حیوانات از بیهوشی بیرون خواهند آمد تکمیل نمایید.
 جراحی منجر به بقا بر روی غیر جوندگان باید با استفاده از اقدامات مربوط به اتاق عمل استریل انجام پذیرد.
 جراحی منجر به بقا بر روی جوندگان باید با روش های آسپتیک انجام شود. حداقل امکانات مورد نیاز در چنین جراحی های عبارتند از : دستکش جراحی استریل، ماسک و لوازم استریل
 آیا جراحی منجر به بقا بر روی گونه های غیر جوندگان در تسهیلاتی غیر از دپارتمان مرجع حیوانات آزمایشگاهی انجام خواهد شد؟

بله خیر

اگر جواب مثبت است، توجیه مناسب برای مکان انتخاب شده را ارائه نمایید (تجهیزات ویژه و غیره) :
 هر گونه اقدامات قبل از عمل شامل محرومیت از غذا، پیش درمانی و آماده سازی محل جراحی را شرح دهید:

مراقبت پس از عمل: (اگر برای مراقبت پس از عمل، درخواست مساعدت نموده اید، آن را اعلام فرمایید).
 محل ریکاوری:

فرد یا افراد مونیتور کننده:

حداقل تعداد مونیتورینگ لازم:

تمام عوارض قابل پیش بینی و اقدامات لازم طراحی شده به منظور مونیتورکردن و مشخص نمودن عوارض را شرح دهید:

تسکین پس از عمل:

مدت (روزها)	تواتر	روش (IV ، غیره)	دوز (mg / kg)	مواد و داروها

درمان پس از عمل:

مدت (روزها)	تواتر	روش (IV ، غیره)	دوز (mg / kg)	مواد و داروها

سایر اقدامات پس از عمل : (باز کردن بخیه، غیره)

جراحی های متعدد بر روی حیوان

اگر بیش از یک اقدام جراحی منجر به بقا بر روی یک حیوان انجام خواهد شد در خصوص اینکه چرا این امر ضروری است توضیح دهید:

ضمیمه 3

استفاده از محصولات حیوانی مرکز آموزشی، تحقیقاتی درمانی قلب و عروق شهید رجایی
کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی

محقق اصلی :

دپارتمان: دانشکده: تلفن محل کار: تلفن همراه:

آدرس پست الکترونیکی (E- mail)

عنوان پروژه :

مدت تقریبی که محصول یا محصولات استفاده خواهند شد . از : تا :
گونه:

محصول یا محصولاتی را که باید بدست آورده شوند شرح دهید:

چگونگی استفاده از محصول یا محصولات را شرح دهید:

منبع محصول یا محصولات: (تمام موارد بکار رفته را علامت بزیند)

□ مواد مربوط به حیوانات تحقیقاتی دانشگاه.

شماره های کمیته استفاده از حیوانات به روش اخلاقی را قید نمایید.

□ مواد مربوط به حیوانات پروژه های تحقیقاتی انجام گرفته در سایر موسسات

یک نسخه از مدارک تاییدی از کمیته مراقبت و استفاده از حیوانات موسسات همکاری کننده باید به این فرم الصاق گردد و لطفا اطلاعات ذیل در رابطه با موسسات را مرقوم نمایید:

نام :

آدرس :

شماره ثبت بخش مراقبت از حیوانات در حیوان خانه :

□ مواد با منابع متفرقه (توضیح دهید):

امضای محقق اصلی تاریخ

ضمیمه 4

راهنمای تولید آنتی بادی های پلی کلونال و مونوکلونال در جوندگان و خرگوش مرکز آموزشی، تحقیقاتی درمانی قلب و عروق شهید رجایی کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی

اینجانب، راهنمای تولید آنتی بادی های پلی کلونال و مونوکلونال (ضمیمه 9) در جوندگان و خرگوش را مطالعه نموده و مطلع هستم که استفاده از اجوان کامل فرزند تحت شرایط خاصی مجاز بوده و در غیر اینصورت باید از جایگزین های آن استفاده شود. همچنین اطلاع دارم که تزریقات داخل جلدی یا داخل کف پا، مستلزم توجیهات ویژه و تایید توسط کمیته استفاده از حیوانات به روش اخلاقی می باشد. هر گونه تخطی از این راهنما مستلزم توجیه مناسب و تایید قبلی کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی می باشد.

اینجانب از راهنمای مذکور تبعیت می نمایم.

یا

اینجانب توجیهات کتبی برای عدم تبعیت از این راهنما را تهیه نموده ام.

تاریخ

امضای محقق اصلی

لطفاً ارجاع شود به کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی

راهنمای استفاده از حیوانات، نئوپلازی تجربی و تولید آسیت
مرکز آموزشی، تحقیقاتی درمانی قلب و عروق شهید رجایی
کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی

اینجانب، مجموعه کدهای اخلاقی استفاده از حیوانات در خصوص نئوپلازی تجربی و تولید آسیت را مطالعه نموده و مطلع هستم که هر گونه تخطی از این کدها، مستلزم توجیه مناسب و اخذ تاییدیه قبلی از کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی می باشد.

اینجانب از راهنمای مذکور تبعیت می نمایم.

یا

اینجانب توجیهات کتبی برای عدم تبعیت از این راهنما را تهیه نموده ام.

تاریخ

امضای محقق اصلی

لطفاً ارجاع شود به کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی

ضمیمه 6

راهنمای مربوط به مرگ به عنوان نقطه انتها مرکز آموزشی، تحقیقاتی درمانی قلب و عروق شهید رجایی کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی

از یک سو نباید در هر تحقیق و آزمایشی، مرگ حیوان بعنوان نقطه انتهای کار در نظر گرفته شود و از سوی دیگر، محقق می بایست حیوانات آزمایشگاهی در حال مرگ را خلاص کند، مگر این که دلایل علمی قابل توجهی ارائه دهد که نشان دهد خلاص کردن حیوان، موجب بی ارزش شدن جمع آوری داده های تجربی می گردد. برای روشن شدن معنای واژه در حال مرگ به خط مشی کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی در مورد مرگ آسان (مرگ از روی ترحم) مراجعه نمایید.

اگر مرگ حیوان به عنوان نقطه انتها یک ضرورت باشد، توجیحات علمی مناسب باید بصورت مکتوب و بعنوان بخشی از پروتکل استفاده از حیوانات ارائه و قبل از انجام این نوع آزمایشات توسط کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی تایید گردد.

محققینی که تاییدیه استفاده از مرگ به عنوان نقطه انتها را دریافت می دارند باید از موارد زیر تبعیت نمایند:

- 1- استفاده از حداقل تعداد حیوانات برای دستیابی به اعتبار آماری.
- 2- حتی المقدور انتخاب اقدامی بجز کشتن حیوان بعنوان نقطه انتها.
- 3- تحت نظر داشتن حیوانات حداقل دو بار در روز (شامل آخر هفته ها و تعطیلی ها) و جداسازی حیوانات ناتوان شده به منظور دسترسی آسان آنها به آب و غذا.
- 4- تهیه گزارشات مکتوب از جلسات بازرسی که مشخص کننده زمان مشاهده، افراد مشاهده کننده و هر گونه مشاهدات ارزشمندی چون نشانه های بالینی، تعداد حیوانات مرده و غیره باشد. این گزارشات می بایست همیشه برای حیوان خانه و کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی قابل دسترسی باشند. محققین باید توجه نمایند که هر گونه استفاده تایید شده از مرگ به عنوان نقطه انتها بطور طبیعی در بالاترین درجه مقیاس درد و رنج وارده بخش مراقبت از حیوانات حیوان خانه یعنی نوع E طبقه بندی می گردد.

اینجانب راهنمای فوق الذکر را مطالعه کرده و از آن تبعیت می نمایم.

تاریخ

امضای محقق اصلی

لطفاً ارجاع شود به کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی

راهنمای استفاده از عوامل فلج کننده مرکز آموزشی، تحقیقاتی درمانی قلب و عروق شهید رجایی کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی

اگرچه استفاده از عوامل فلج کننده جزء ضروری برخی از پروپوزالهای تجربی می باشد، لیکن مصرف چنین عواملی ارزیابی سطح بیهوشی عمومی را بسیار دشوار می سازد. راهنمای زیر به منظور اطمینان از اینکه حیوانات فلج شده درد و رنج قابل توجهی را متحمل نمی شوند تدوین شده و باید بوسیله کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی مورد استفاده قرار گیرد:

- 1- القای فلج تا زمانی که حیوان به سطح بیهوشی مناسب جراحی نرسیده است نباید انجام شود (عدم پاسخ حیوان به نیشگون گرفتن پنجه)
- 2- اقدامات بالقوه دردناک در حیوانات فلج شده تا میزانی که با پروتکل تجربی سازگار باشند باید به حداقل برسند.
- 3- رژیم داروهای بیهوشی در نظر گرفته شده باید به منظور جلوگیری از تجربه درد یا رنج توسط حیوان کافی باشد. این موضوع بر اساس تجربیات قبلی، مشاوره با دامپزشک، استناد به مدارک و یا کاربرد آزمایشی در حیوانات فلج نشده ای که در معرض همان اقدامات تجربی مورد نظر قرار دارند معین می گردد.
- 4- قطع موقت دوره ای عوامل فلج کننده به منظور ارزیابی مجدد عمق بیهوشی تا میزانی که با پروپوزال تجربی سازگاری دارد باید انجام گردد (بهترین روش کاربرد عوامل فلج کننده کوتاه اثر می باشد).
- 5- کفایت بیهوشی در طی فلج می بایست دائماً از طریق تحت نظر داشتن ضربان قلب و وضعیت تنفس و یا فشار خون مورد ارزیابی قرار گیرد. درجه حرارت نیز باید مدنظر باشد و در محدوده طبیعی نگاه داشته شود. پیش بینی به منظور تخلیه ادرار در مواردی که ضروری باشد باید انجام گیرد.

اینجانبراهنمای فوق الذکر را مطالعه کرده و از آن تبعیت می نمایم.

تاریخ

امضای محقق اصلی

لطفاً ارجاع شود به کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی

راهنمای استفاده از مواد مصرفی پزشکی تاریخ مصرف گذشته
مرکز آموزشی، تحقیقاتی درمانی قلب و عروق شهید رجایی
کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی

راهنمای ذیل به منظور استفاده در موارد کاربرد داروها و لوازم پزشکی تاریخ مصرف گذشته تدوین شده است:

- 1- مواد مصرفی تاریخ منقضی فقط در مواردی استفاده شوند که کاربرد آنها باعث اثر سوء بر سلامتی حیوانات یا مخدوش نمودن ارزش مطالعه نگردد.
- 2- داروهای تجویز شده برای تسکین درد یا رنج و داروهای اورژانسی نباید خارج از تاریخ انقضا مصرف شوند. اگر تاریخ مصرف داروهای مورد استفاده به منظور مرگ آسان، گذشته باشد فقط در حیوانات بیهوش شده قابل مصرف هستند.
- 3- اقلام تاریخ گذشته باید از سایر اقلام مشابه جدا شده و به طور واضح بر چسب "مواد مصرفی تاریخ گذشته - فقط برای اقدامات انتهایی" بر آنها زده شود. در پروتکل ارائه شده به کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی باید کاربرد مواد مصرفی تاریخ گذشته قبل از استفاده آنها ذکر شده باشد.
- 4- اقلامی که بیش از سه سال از تاریخ انقضای آنها گذشته است نباید استفاده شوند، مگر اینکه غیر قابل جایگزین کردن بوده یا جایگزینی آنها به هیچ وجه مقرون به صرفه نباشد.
- 5- مواد مصرفی تاریخ گذشته تا حد ممکن باید استریل یا تمیز نگاه داشته شوند.

اینجانبراهنمای فوق الذکر را مطالعه کرده و از آن تبعیت می نمایم.

تاریخ

امضای محقق اصلی

لطفاً ارجاع شود به کمیته اخلاق با محوریت مطالعات حیوانی و آزمایشگاهی

راهنمای تولید آنتی بادی های پلی کلونال و مونوکلونال

پیشگفتار:

کمیته اخلاق با محوریت پژوهش های حیوانی به منظور کمک به نحوه ارزیابی اخلاقی پروژه هایی که شامل تولید آنتی بادیهای مونوکلونال و پلی کلونال هستند، اقدام به تهیه "راهنمای اخلاقی تولید آنتی بادی های مونوکلونال" نموده است.

این راهنما بر اساس ملاحظات ذیل تدوین گردیده است :

- تولید آنتی بادی های مونوکلونال و پلی کلونال با استفاده از حیوانات حاوی روشهایی است که با استفاده از آنها امکان ایجاد درد و پریشانی در حیوان قابل توجه است.
- روشهایی که می توانند در مطالعات علمی و یا فعالیت های آموزشی جایگزین استفاده از حیوانات شوند و یا در مواردی این مطالعات را تکمیل کنند، باید در اولویت قرار گیرند و در صورت امکان بکار گرفته شوند.
- در حال حاضر روشهای *in vitro* وجود دارد که می توانند در بسیاری از مطالعات بدون آسیب رساندن به اهداف تحقیق جایگزین روش مایع صفاقی شوند. این روشها قابل دسترسی هستند و بهتر و یا حداقل یکسان با روش مایع صفاقی در کیفیت آنتی بادی تولید شده هستند.

تولید آنتی بادی های مونوکلونال شامل سه مرحله می باشد:

- مرحله ایمونیزاسیون که شامل القای سلول های تولید کننده آنتی بادی بصورت *in vivo* می باشد.
- آزمایش و انتخاب سلول های تولید کننده آنتی بادی که بصورت *in vitro* می باشد.
- تکثیر سلول های انتخابی بصورت *in vitro* یا *in vivo* برای تولید آنتی بادی های مونوکلونال. سلول ها بصورت *in vitro* در بیو رآکتور تکثیر می یابند. در نوع *in vivo* سلول ها در موش تکثیر می یابند تا مایع صفاقی حاوی آنتی بادی های مونوکلونال تولید شود.

توصیه این کمیته عدم استفاده از روش مایع صفاقی است، مگر در موارد نادری که استفاده از روش های *in vitro* مناسب به نظر نمی رسند.

در مورد تولید آنتی بادی های پلی کلونال تمامی اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی و ایمونیزاسیون و موارد مشترک با اصول اخلاقی تولید آنتی بادی مونوکلونال به شرح فوق باید رعایت گردد.

مقدمه:

این راهنما برای موارد ذیل قابل اجرا می باشد:

- محققین و موسساتی که آنتی بادی های مونوکلونال را برای اهداف علمی، آموزشی و یا تجاری تولید می کنند و یا بر تولید آنها نظارت می نمایند.
- تمامی پروپوزال های تحقیقاتی جدید یا ثبت شده:
 - پروپوزال هایی که قبل از این راهنمای اخلاقی تصویب شده اند می توانند با همان روش قبلی به کار خود ادامه دهند. ولی اگر در پروپوزال تحقیقاتی تغییراتی مبنی بر تولید آنتی بادیهای مونوکلونال ایجاد شد که قبلا در طرح پیشنهادی وجود نداشت، باید از این راهنما تبعیت گردد.
 - این راهنما منبع اطلاعاتی در رابطه با نحوه تولید آنتی بادی های مونوکلونال نیست. در ضمن به آنتی بادی های مونوکلونالی که بعنوان معرف از بازارهای تجاری قابل تهیه هستند تعمیم داده نمی شود. با اینکه توصیه می شود در هنگام خرید این محصولات، از شرکت هایی خرید گردد که اصول اخلاقی را در تولید آنتی بادی ها رعایت می کنند.

اصول اخلاقی کار با حیوانات

- سه هدف اصلی در این دستورالعمل مد نظر قرار دارد:
 - جایگزینی استفاده از حیوانات با سایر روش ها
 - انجام کار با کمترین تعداد حیوان مورد نیاز
 - تکنیک های اصلاح شده برای کاهش درد و رنج حیوانات در تحقیقات
- اصول کلی اخلاقی در پژوهش های حیوانی طبق دستورالعمل مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردد. وظایف محققین و موسسه کاملا مشخص گردد.

در پروپوزال ارائه شده باید دلایل کافی برای ضرورت استفاده از حیوان در تحقیق ذکر شود و مهمتر از آن، باید دلایل قانع کننده ای برای رد کردن تکنیک هایی که مستقل از حیوان هستند ارائه شود. در ادامه کمیته باید اطمینان حاصل کند که هیچ روش جایگزینی برای تولید MAb مورد نظر وجود ندارد و حتما باید از روش های *In vivo* استفاده شود.

در کار با حیوان باید همه مواد و لوازم مصرفی پیش بینی شده تهیه گردد و افراد مشخص شده در پروپوزال مهارت لازم برای کار با حیوانات را داشته باشند. همچنین کمیته باید مطمئن شود که همه حیوانات طبق قوانین ذکر شده نگهداری می شوند و طی انجام کار، اصول اخلاقی مربوط به کار با حیوانات رعایت می شود.

در صورت لزوم استفاده از روش **In vivo** ، باید توضیحات کامل در مورد روش های آزمایش، جراحی و پروسه های مرتبط مانند دوز و ... ارائه شود.

جایگزینی

استفاده از روش مایع صفاقی :

تولید MAb در شرایط **In vitro** یک روش پذیرفته شده است. اگر برای تولید آنتی بادی اختصاصی روش های **In vitro** مناسب وجود نداشته باشد می توان از روش مایع صفاقی برای رسیدن به این هدف استفاده کرد. برای این منظور، هیبریدوما توسط داوران متخصص تولید آنتی بادی مونوکلونال بررسی می شود و تصمیم نهایی در مورد روش انتخابی توسط کمیته اتخاذ می شود.

نقش کمیته در بررسی درخواست های تولید MAb

1- کمیته باید بر اساس نظرات داوری علمی تشخیص دهد که تمامی هیبریدوماها اختصاصی هستند. به این ترتیب معمولاً به ندرت متد مایع صفاقی برای تولید MAb تنها روش قابل استفاده خواهد بود. درحالت کلی این روش را نمی توان برای تولید آنتی بادی ها به کار برد و فقط برای تولید آنتی بادی هایی که با روش های **In vitro** تولید نمی گردند، به کار برده می شود.

2 - کمیته نباید تنها به دلیل افزایش هزینه های طرح در روش **In vitro** با روش مایع صفاقی موافقت نماید. اما اگر ضرورت انجام طرح بر کمیته اثبات گردد ولی هزینه های طرح به روش **In vitro** قابل تامین نباشد، کمیته می تواند رای به انجام روش **In vivo** با هزینه کمتر بدهد.

نکاتی در مورد تولید آنتی بادی مونوکلونال در شرایط **In vitro** :

روش های زیادی برای به حداکثر رساندن محصولات آنتی بادی مورد نظر در شرایط **In vitro** وجود دارد. تنوع محیط های کشت جدید، که به دلیل داشتن ویژگی های منحصر به فرد و گوناگون باعث شکل گیری کلون های منحصر به فرد می شوند، یکی از مهمترین این حالت ها است. به یاد داشته باشیم که در این روش باید سل لاین ها از نظر تولید یک کلون ثابت و همچنین تولید آنتی بادی مورد نظر توسط همه سلول های موجود با استفاده از تکنیک های وسترن بلات، الایزا و رنگ آمیزی ایمنی مورد بررسی قرار گیرند.

بهینه سازی

بهینه سازی ایمونیزاسیون (القای سلولهای لنفوتییدی تولید کننده آنتی بادی) :

محل تزریق : بهترین روش تزریق آنتی ژن در موش، تزریق زیرجلدی یا داخل صفاقی است. برای آنتی ژن های محلول بدون ادجوانت بهترین روش، تزریق داخل رگی است. در مورد آنتی ژن هایی که به همراه ادجوانت هستند باید از راه عضلانی یا جلدی تزریق شوند. برای جلوگیری از عوارض ناخواسته باید موش ها هر چند ساعت یک بار بررسی شوند.

• استفاده از ادجوانت :

همه ادجوانت ها محرک هستند، بنا براین برای جلوگیری از عوارض ناخواسته این مواد، باید موش ها مرتب بررسی شوند. ادجوانت فروند نباید بیش تر از 100 میکروگرم به ازای هر تزریق مورد استفاده قرار بگیرد. ادجوانت کامل فروند را نباید بیش از یکبار استفاده کرد. اگر ادجوانت فروند از محل مناسبی تزریق نشود گرانولوما یا آبسه در محل تزریق ایجاد می شود. ترکیب آنتی ژن و ادجوانت نباید بیش تر از 200 میکرولیتر (در خصوص موش) باشد.

• حذف آلودگی هیبریدهای آلوده :

اگر سل لاین توسط قارچ یا باکتری آلوده شده باشد، می توان سلول های هیبریدومایی را به صورت زیر جلدی یا داخل شکمی به موش سالم تزریق کرد و سپس سلول های پاک شده را از صفاق خارج و به محیط کشت مناسب انتقال داد. البته این کار فقط در صورتی انجام می گیرد که امکان تهیه مجدد سل لاین مورد نظر وجود نداشته باشد.

بهینه سازی تولید در روش مایع صفاقی (تکثیر **in vivo** کلون های هیبریدوما و جمع آوری مایع صفاقی)

در موارد بسیار نادری که روش مایع صفاقی مورد تایید برای استفاده قرار می گیرد، محقق باید مدارک کافی مبنی بر تلاش برای استفاده از روشهای **in vitro** و شکست آنها را به کمیته ارائه دهد. مهمترین مطلب در استفاده از این روش مهارت عملی و علمی افراد در کار با موش و تشخیص علایم درد و ناراحتی (آزار) موش است.

- حتی الامکان از کمترین دوز ممکن ماده اولیه لازم برای رسیدن به نتیجه مطلوب استفاده شود. در واقع این مقدار نباید بیش از 200 میکرولیتر باشد.
- در جمع آوری مایع صفاقی جهت جلوگیری از ایجاد درد و آزار و ناراحتی، حیوانات تحت پایش مداوم باشند. اگر برداشت مایع بیش از حد مجاز باشد می تواند باعث آزار حیوان شود. تنها در صورتی می توان مایع صفاقی را برداشت کرد که قبلا حیوان با توجه به اصول اخلاقی رفتار با حیوانات کشته شده باشد.
- مدت زمان نگهداری موش بعد از تزریق هیبریدوما- موش ها نباید بیش از 28 روز پس از تزریق هیبریدوما نگهداری شوند و این درحالی است که جمع آوری مقدار مناسبی از مایع صفاقی حدود 14 روز طول می کشد. در این حین اگر در حیوان درد یا آزار مشاهده شد، باید مطابق با اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رفتار شود .