ePublishing

**Bioethica**

Vol 2, No 1 (2016)

Bioethica

# Ηθική και Δεοντολογία στη Χρησιμοποίηση Ζώων στη Βιοϊατρική Έρευνα

*Νικόλαος Κωστομητσόπουλος (Nikolaos Kostomitsopoulos)*

doi: 10.12681/bioeth.19661

**To cite this article:**

Κωστομητσόπουλος (Nikolaos Kostomitsopoulos) N. (2016). Ηθική και Δεοντολογία στη Χρησιμοποίηση Ζώων στη Βιοϊατρική Έρευνα. *Bioethica*, *2*(1), 16–25. https://doi.org/10.12681/bioeth.19661

https://epublishing.ekt.gr | **e-Publisher:** EKT | **Downloaded at:** 09/08/2025 11:22:37

# Ηθική και Δεοντολογία στη Χρησιμοποίηση Ζώων στη Βιοϊατρική Έρευνα

**Νικόλαος Κωστομητσόπουλος**

**Ειδικός Λειτουργικός Επιστήμονας Α',**
**Κέντρο Κλινικής, Πειραματικής Χειρουργικής και Μεταφραστικής Έρευνας,**
**Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών Ακαδημίας Αθηνών**

nkostom@bioacademy.gr

**Περίληψη**

Η χρησιμοποίηση ζωικών προτύπων στη βιοϊατρική έρευνα αποτελεί επιστημονική πρακτική που θεωρείται ότι έχει συμβάλει καθοριστικά στην κατανόηση βασικών βιολογικών λειτουργιών αλλά και στη βελτίωση της ποιότητας της ζωής των ανθρώπων και των ζώων. Για πολλά χρόνια η χρησιμοποίηση των ζώων στη βιοϊατρική έρευνα είχε ανθρωποκεντρικό χαρακτήρα οι δε ερευνητές που χρησιμοποιούσαν ζώα εργαστηρίου τεκμηρίωναν την αναγκαιότητα του πειραματισμού τους βασιζόμενοι κυρίως στα προσδοκούμενα για τον άνθρωπο οφέλη. Κατά τη διάρκεια της τελευταίας εικοσαετίας, η ευαισθητοποίηση της κοινής γνώμης και το ενδιαφέρον των επιστημόνων που ασχολούνται με την υγεία και την ευζωία των ζώων εργαστηρίου έχουν καταστήσει σαφές ότι η χρησιμοποίηση ζώων στη βιοϊατρική έρευνα θα πρέπει να ακολουθεί συγκεκριμένους ηθικούς, νομοθετικούς και επιστημονικούς κανόνες.

Η ηθική τεκμηρίωση μιας ερευνητικής πρότασης θα πρέπει ουσιαστικά να δίνει απαντήσεις σε ερωτήματα που αφορούν κυρίως στον ορισμό των στόχων του ερευνητικού πρωτοκόλλου καθώς και τις αναμενόμενες πιθανότητες επιτυχίας του, στην τεκμηρίωση της αναγκαιότητας για τη χρησιμοποίηση ζώων, στην εφαρμογή της Συνθήκης των 3Rs (Refinement, Reduction, Replacement), στο σχεδιασμό πιλοτικής μελέτης, στη συστηματική ανάλυση και στη δυνατότητα επίτευξης του επιδιωκόμενου στόχου του πρωτοκόλλου με τη διαθέσιμη υλικοτεχνική υποδομή και το απαραίτητο προσωπικό.

Η ηθική τεκμηρίωση του ερευνητικού πρωτοκόλλου αποτελεί δυναμική διαδικασία που αρχίζει από τη φάση του σχεδιασμού του ερευνητικού πρωτοκόλλου και ολοκληρώνεται με την αξιολόγηση και την επεξεργασία των αποτελεσμάτων. Τελικά, το κύριο μήνυμα που θα πρέπει να διαχέεται από την επιστημονική κοινότητα προς την κοινωνία είναι ότι εφ' όσον η χρησιμοποίηση των ζώων είναι αναπόφευκτη αυτή θα πρέπει να γίνεται με βάση συγκεκριμένα ηθικά, νομοθετικά και επιστημονικά κριτήρια. Με τον τρόπο αυτό θα οικοδομηθεί η σχέση αμοιβαίας εμπιστοσύνης αλλά και εκτίμησης μεταξύ της ερευνητικής κοινότητας και του κοινωνικού συνόλου.

# Ethics on Animal Use in Biomedical Research

**Nikolaos Kostomitsopoulos**

**Staff Research Scientist - Professor Level,**
**Centre for Clinical, Experimental Surgery and Translational Research,**
**Biomedical Research Foundation of the Academy of Athens**

## Abstract

Despite all the benefits, the use of animals in biomedical research was, and still is, a subject of debate with respect to its true usefulness. The sensitivity of the community and the interest of scientists working in the field of Laboratory Animal Science and Welfare have clearly demonstrated that the use of animals in biomedical research must be conducted under specific scientific, legal and ethical rules.

The ethical justification of a research project starts from the initial designing phase of the project until the completion of the study and the review of the obtained results. Main considerations of an ethical documentation are: the precise definition of the goals of the project and the existing probabilities for its success; the selection of the appropriate animal model, the implementation of the 3Rs' concept for replacement, reduction and refinement; a pilot study and a systematic review of previously published animal research on the topic; the availability of the appropriate facilities, equipment and expertise to guarantee high standards of animal accommodation, husbandry, care and use. The ethical documentation of a project by scientists themselves involves teamwork and a sustainable rather than a one-off procedure.

The ethical justification of the laboratory animal research protocols reflects the interest and the responsibility of scientists for reduction and refinement of animal experimentation. This process built a trust relationship between scientists and the society.

## 1. Εισαγωγή

Η χρησιμοποίηση ζώων εργαστηρίου στη Βιοϊατρική Έρευνα αποτελεί πρακτική που θεωρείται ότι έχει συμβάλει καθοριστικά στην κατανόηση βασικών βιολογικών λειτουργιών αλλά και στη βελτίωση της ποιότητας της ζωής των ανθρώπων και των ζώων. Τα περισσότερα ιατρικά επιτεύγματα περιλαμβάνουν τη χρησιμοποίηση ζωικών προτύπων, ενώ πίσω από κάθε Νομπέλ Ιατρικής ή Βιολογίας «κρύβονται» μακροχρόνιες μελέτες σε ζωικά πρότυπα. Πρόσφατα η Αμερικάνικη Εθνική Ένωση για τη Βιοϊατρική Έρευνα (National Association for the Biomedical Research) δημοσίευσε κατάλογο του Εθνικού Οργανισμού Φαρμάκων (FDA) με τα 25 περισσότερο συνταγογραφούμενα φάρμακα στην ανακάλυψη των οποίων συνέβαλε η χρησιμοποίηση ζώων εργαστηρίου (www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drygsatfda/index.cfm). Σημαντική είναι και η «συμβολή» των ζώων εργαστηρίου στην εκπαίδευση των νέων επιστημόνων σε νέες ιατρικές κυρίως τεχνικές όπως για παράδειγμα την λαπαροσκοπική ή την ρομποτική χειρουργική.

Παρά τα θεωρούμενα οφέλη, η χρησιμοποίηση ζώων εργαστηρίου αποτελούσε και εξακολουθεί να αποτελεί αντικείμενο αμφισβήτησης και αντιπαράθεσης μεταξύ των επιστημόνων και της κοινωνίας.[1] Η αντιπαράθεση αυτή αφορά τόσο στην διαφορετική προσέγγιση της συγκεκριμένης πρακτικής όσο και στην αναγκαιότητα της. Σαν χαρακτηριστικό παράδειγμα της διαφορετικής προσέγγισης της χρησιμοποίησης των ζώων θα μπορούσε να αναφερθεί η άποψη του René Descartes (1596-1650) ότι τα ζώα δεν έχουν λογική οπότε δεν αισθάνονται πόνο, σε αντίθεση με την άποψη του Jeremy Bentham (1748-1832) που θεωρούσε ότι το ερώτημα δεν είναι αν τα ζώα είναι λογικά όντα ή αν μπορούν να μιλούν αλλά αν αισθάνονται τον πόνο. Πολλοί μελετητές της ιστορίας της ιατρικής θεωρούν ότι οι σημαντικές ανακαλύψεις που πραγματοποιήθηκαν σε τομείς όπως ο καρκίνος, η ανοσολογία, η αναισθησιολογία οφείλονται κυρίως στις κλινικές μελέτες, στην κλινική παρατήρηση και στις βιοψίες από τους ασθενείς και λιγότερο στη χρησιμοποίηση ζώων εργαστηρίου.[2,3]

Στις μέρες μας, δεδομένου ότι η σύγχρονη κοινωνία αναγνωρίζει ολοένα και περισσότερο την ηθική υποχρέωσή της να σέβεται τα ζώα και το φυσικό περιβάλλον, η χρησιμοποίηση ζώων εργαστηρίου αποκτά, εκτός από επιστημονική, και σαφώς εντονότερη ηθική διάσταση. Παράλληλα, ολοένα και περισσότερες μελέτες, δημοσιευμένες σε έγκριτα επιστημονικά περιοδικά αναφέρουν ότι ο σχεδιασμός και η εκτέλεση πρωτοκόλλων με τη χρησιμοποίηση ζώων υστερούν σημαντικά σε ποιότητα σε σχέση με τις αντίστοιχες κλινικές μελέτες.[4,5]

Η ευαισθητοποίηση της κοινής γνώμης αλλά και το ενδιαφέρον των επιστημόνων που ασχολούνται με την υγεία και την ευζωία των ζώων εργαστηρίου έχουν καταστήσει πλέον σαφές ότι η χρησιμοποίηση ζώων στη βιοϊατρική έρευνα θα πρέπει να ακολουθεί συγκεκριμένους νομοθετικούς, ηθικούς αλλά και επιστημονικούς κανόνες προκειμένου να διασφαλίζονται τόσο η φροντίδα και η ορθή μεταχείριση των ζώων όσο και η ποιότητα της επιτελούμενης έρευνας.[6] Ο ερευνητής καλείται πλέον να αιτιολογεί, στην επιστημονική κοινότητα και στην κοινωνία, την αναγκαιότητα της χρησιμοποίησης ζώων εργαστηρίου και να τεκμηριώνει την από μέρους του τήρηση συγκεκριμένων νομοθετικών κανόνων καθώς και αρχών ηθικής και επιστημονικής δεοντολογίας.

Σκοπός του συγκεκριμένου άρθρου είναι να αναδείξει την αναγκαιότητα της τεκμηρίωσης μιας ερευνητικής πρότασης σύμφωνα με τις υφιστάμενες νομοθετικές απαιτήσεις, καθώς και να προτείνει, με βάση την εμπειρία του συγγραφέα αλλά και τις οδηγίες διεθνών οργανισμών, βασικές κατευθυντήριες γραμμές για τον τρόπο που η τεκμηρίωση αυτή θα πρέπει να επιτελείται.

## 2. Νομοθετικό Πλαίσιο

Η προσπάθεια για την θέσπιση ενός εναρμονισμένου ευρωπαϊκού νομοθετικού πλαισίου για τη χρησιμοποίηση ζώων για ερευνητικούς και άλλους επιστημονικούς σκοπούς ξεκίνησε το 1986, με την έκδοση της Οδηγίας του Συμβουλίου της Ευρωπαϊκής Οικονομικής Κοινότητας (ΕΟΚ) 86/609 καθώς και την υπογραφή της αντίστοιχης Ευρωπαϊκής Σύμβασης του Συμβουλί-

ου της Ευρώπης (ETS123).[7,8] Σκοπός του συγκεκριμένου πλαισίου ήταν η καθιέρωση διαδικασιών για την καταχώρηση εγκαταστάσεων εκτροφής, προμήθειας και χρήσης ζώων εργαστηρίου, την διαδικασία αδειοδότησης των πρωτοκόλλων που περιελάμβαναν τη χρησιμοποίηση ζώων εργαστηρίου, καθώς και την ανάδειξη της εκπαίδευσης των ατόμων που ασχολούνται με τα ζώα εργαστηρίου. Το 2010, η Ευρωπαϊκή Ένωση, υπό το πρίσμα των νέων δεδομένων στην επιστήμη των ζώων εργαστηρίου, αλλά και μετά από μακροχρόνια διαβούλευση με επιστημονικούς και κοινωνικούς φορείς, εξέδωσε την Οδηγία 2010/63/ΕΕ.[9] Ακρογωνιαίος λίθος της συγκεκριμένης Οδηγίας είναι και αυτή τη φορά η αρχή των 3Rs (Refinement, Reduction, Replacement) των Russell and Burch, όπως αυτή είχε διατυπωθεί στο κλασσικό πλέον βιβλίο τους "Principles of Humane Experimental Techniques" που κυκλοφόρησε το 1959.[10] Καινοτομία της νέας Οδηγίας σε σχέση με την προηγούμενη είναι η θέσπιση συγκεκριμένων κανόνων που αφορούν στην διαδικασία αξιολόγησης των ερευνητικών πρωτοκόλλων που περιλαμβάνουν τη χρησιμοποίηση ζώων, στην σύσταση Επιτροπών παρακολούθησης και γνωμοδότησης για την ευζωία των ζώων, στη θέσπιση Εθνικών Επιτροπής για τη Προστασία των Ζώων Εργαστηρίου, καθώς και στην καθιέρωση ενός πλαισίου εκπαίδευσης απαραίτητου για κάθε άτομο που ασχολείται με τη χρησιμοποίηση ζώων εργαστηρίου. Ειδική αναφορά γίνεται στην προαγωγή των εναλλακτικών μεθόδων πειραματισμού καθώς και στην ίδρυση ευρωπαϊκού αλλά και εθνικών εργαστηρίων αναφοράς για την προαγωγή των εναλλακτικών μεθόδων πειραματισμού. Σημαντικό σημείο της καινούργιας νομοθεσίας είναι η υποστήριξή της από ικανό αριθμό τεχνικών διευκρινιστικών εφαρμοστικών εγκυκλίων τόσο για τις αρμόδιες αρχές των κρατών μελών όσο και για τους ίδιους τους επιστήμονες. Η Ελλάδα, σαν μέλος της Ευρωπαϊκής Ένωσης εναρμόνισε την Εθνική της νομοθεσία με την αντίστοιχη Οδηγία με το ΠΔ 56/2013.[11]

### 2.1. Διαδικασία Αξιολόγησης Ερευνητικών Πρωτόκολλων

Σύμφωνα με το άρθρο 36 του ΠΔ 56/2013, «κάθε πρωτόκολλο που περιλαμβάνει τη χρησιμοποίηση ζώων θα πρέπει να έχει ανάλογη άδεια πειραματισμού. Για τη χορήγηση άδειας πειραματισμού, υποβάλλεται από τον υπεύθυνο ερευνητή, αίτηση στην αρμόδια περιφερειακή κτηνιατρική αρχή, συνοδευόμενη από: α) το προτεινόμενο πρωτόκολλο, με λεπτομερές πρόγραμμα εργασίας, β) τις διαδικασίες, το είδος ή τα είδη των ζώων που πρόκειται να χρησιμοποιηθούν, την προέλευσή τους καθώς και την ή τις εγκεκριμένες εγκαταστάσεις στις οποίες πρόκειται να πραγματοποιηθεί το πρωτόκολλο, γ) τη μη τεχνική περίληψη του πρωτοκόλλου, δ) τη θετική εισήγηση της *Επιτροπής Αξιολόγησης Πρωτοκόλλων*, ε) υπεύθυνη δήλωση του αιτούντος ότι είναι καθολικά υπεύθυνος για το πρωτόκολλο.

Οι Επιτροπές Αξιολόγησης Πρωτοκόλλων ιδρύονται και λειτουργούν σε κάθε εγκατάσταση χρήσης, σύμφωνα με το άρθρο 37 του ΠΔ 56/2013. Κάθε Επιτροπή Αξιολόγησης Πρωτοκόλλων αποτελείται από: α) έναν επιστήμονα βιοϊατρικής έρευνας, ως πρόεδρο, με τον αναπληρωτή του, β) τον υπεύθυνο κτηνίατρο της εγκατάστασης χρήσης, με τον αναπληρωτή του και γ) έναν βιοστατιστικολόγο, με τον αναπληρωτή του. Στην Επιτροπή μετέχει και ένας εκπρόσωπος από την αντίστοιχη περιφερειακή κτηνιατρική αρχή.

Θα πρέπει να αναφερθεί ότι στα Παραρτήματα του ΠΔ αναφέρονται όλα εκείνα τα στοιχεία που θα πρέπει να περιλαμβάνονται στα πλαίσια περιγραφής ενός πρωτοκόλλου. Τέτοια είναι οι μέθοδοι ευθανασίας (Παράρτημα IV), πληροφοριακά στοιχεία που αφορούν το πρωτόκολλο (Παράρτημα VI), η εκπαίδευση των εμπλεκόμενων ατόμων ανά τομείς δραστηριότητας (Παράρτημα V), η κατάταξη της δριμύτητας των προβλεπόμενων διαδικασιών (Παράρτημα VII). Παράλληλα στην ιστοσελίδα της Ευρωπαϊκής Επιτροπής υπάρχουν αναρτημένες διευκρινιστικές οδηγίες για την εφαρμογή της σχετικής νομοθεσίας (http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/interpretation_en.htm).

## 3. Η Ηθική Τεκμηρίωση της Ερευνητικής Πρότασης

Για πολλά χρόνια η χρησιμοποίηση των ζώων εργαστηρίου στη βιοϊατρική έρευνα είχε ανθρω-

ποκεντρικό χαρακτήρα οι δε ερευνητές τεκμηρίωναν την αναγκαιότητα του πειραματισμού τους βασιζόμενοι κυρίως στην επιστημονική σημασία των αποτελεσμάτων και στα προσδοκούμενα για τον άνθρωπο οφέλη. Στις μέρες μας, η χρησιμοποίηση ζώων στη βιοϊατρική έρευνα αποκτά ιδιαίτερη ηθική διάσταση.[12,13,14]

Οι ερευνητές οφείλουν να αναγνωρίζουν την ηθική διάσταση της χρησιμοποίησης ζώων σε πειράματα καθώς και τη σημασία της ηθικής τεκμηρίωσης της πρότασής τους από την αρχική φάση του σχεδιασμού της μέχρι και την επεξεργασία και ανακοίνωση των αποτελεσμάτων τους. Αποτελεί υποχρέωσή τους να γνωρίζουν τους σχετικούς κανόνες και τη νομοθεσία που αφορούν στην ορθή χρησιμοποίηση των ζώων Εργαστηρίου και να είναι σύμφωνοι με το γράμμα αλλά και με το πνεύμα των κανόνων αυτών.

Η ηθική τεκμηρίωση της πρότασης θα πρέπει ουσιαστικά να δίνει απαντήσεις σε θέματα που αφορούν στην αναγκαιότητα της χρησιμοποίησης ζώων εργαστηρίου και στην εφαρμογή των απαραίτητων μέτρων για τη σωστή μεταχείρισή τους. Απαιτεί την συμμετοχή όλης της ερευνητικής ομάδας και θεωρείται μια συνεχής παρά μια στιγμιαία διαδικασία. Με τον τρόπο αυτό δίνεται η δυνατότητα στην ερευνητική ομάδα να αξιολογεί την πορεία του πρωτοκόλλου και να το βελτιώνει όπου αυτό κρίνεται απαραίτητο. Προκειμένου να είναι αποτελεσματική θα πρέπει να βασίζεται στην ανοικτή ανταλλαγή απόψεων των μελών της ερευνητικής ομάδας μέσα σε κλίμα ειλικρίνειας και αμοιβαίας εκτίμησης. Η ενεργής συμμετοχή επιστημόνων διαφόρων ειδικοτήτων είναι περισσότερο από απαραίτητη. Ο βιοστατιστικολόγος, για παράδειγμα, θα εισηγηθεί τον βέλτιστο αριθμό των ζώων που θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν προκειμένου να διασφαλιστεί η αξιοπιστία των ερευνητικών αποτελεσμάτων.[15] Ο εξειδικευμένος στα ζώα εργαστηρίου κτηνίατρος θα συμβάλει στην επιλογή του κατάλληλου ζωικού προτύπου, της κατάλληλης αναισθητικής και αναλγητική αγωγής που θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί, στην έγκαιρη αναγνώριση του τελικού σημείου, και τον τρόπο ευθανασίας. Η τεκμηρίωση της χρησιμοποίησης ζώων στο ερευνητικό πρωτόκολλο αποδεικνύει έμπρακτα το ενδιαφέρον που η ερευνητική ομάδα δείχνει προς την ανθρωπιστική χρησιμοποίηση των ζώων από την πρώτη έως την τελευταία φάση του πειραματισμού. Ειδικότερα, η ηθική τεκμηρίωση μιας ερευνητικής πρότασης θα πρέπει μεταξύ των άλλων να περιλαμβάνει: α) τον ορισμό των στόχων του ερευνητικού πρωτοκόλλου καθώς και τις αναμενόμενες πιθανότητες επιτυχίας του, β) την τεκμηρίωση της αναγκαιότητας για τη χρησιμοποίηση ζώων γ) την εφαρμογή της Συνθήκης των 3Rs, δ) το σχεδιασμό πιλοτικής μελέτης, ε) τη συστηματική ανάλυση, και στ) τη δυνατότητα επίτευξης του επιδιωκόμενου στόχου του πρωτοκόλλου με τη διαθέσιμη υλικοτεχνική υποδομή και το απαραίτητο προσωπικό.

### 3.1. Ορισμός των στόχων του ερευνητικού πρωτοκόλλου και αναμενόμενες πιθανότητες επιτυχίας του

Κύριο μέλημα της ερευνητικής ομάδας θα πρέπει να είναι ο ορισμός των στόχων και η τεκμηρίωση της αναγκαιότητας του πειραματισμού, τις πιθανότητες επιτυχίας του και φυσικά την ωφέλεια που το συγκεκριμένο πρωτόκολλο μπορεί να έχει για την υγεία του ανθρώπου, των ζώων ή για το περιβάλλον. Οι αντικειμενικοί στόχοι και η υπόθεση του πρωτοκόλλου θα πρέπει να είναι σαφείς. Η τεκμηρίωση της αναγκαιότητας και ο καθορισμός των στόχων σχετίζονται άμεσα με τη σε βάθος επιστημονική γνώση της ερευνητικής ομάδας για το αντικείμενο της έρευνας, τη διαθέσιμη βιβλιογραφία, τα επιστημονικά ερωτήματα που προκύπτουν και χρήζουν περαιτέρω έρευνας. Με τον τρόπο αυτό είναι δυνατή η αποφυγή επανάληψης ερευνητικών πρωτοκόλλων, αν και σε ορισμένες περιπτώσεις ανάπτυξης νέων κυρίως μεθόδων ή τεχνικών η επανάληψη αυτή δεν μπορεί να αποφευχθεί. Η ερευνητική ομάδα θα πρέπει ξεκάθαρα να ορίσει τις προσδοκίες της από το ερευνητικό πρωτόκολλο καθώς και τον τρόπο με τον οποίο οι προσδοκίες αυτές θα συμβάλουν ουσιαστικά στην απόκτηση νέας γνώσης ή στη δυνητική μεταφορά των αποτελεσμάτων στην κλινική πράξη. Ο επιστημονικός στόχος θα πρέπει να είναι σημαντικός ώστε να δικαιολογεί την χρησιμοποίηση των ζώων.

### 3.2. Η τεκμηρίωση της αναγκαιότητας για τη χρησιμοποίηση ζώων

Η ερευνητική ομάδα θα πρέπει να αποδείξει ότι έχει μελετήσει σε βάθος την υπάρχουσα βιβλιογραφία προκειμένου να διαπιστώσει τη δυνατότητα υλοποίηση της συγκεκριμένης ερευνητικής προσπάθειας με άλλες μεθόδους που δεν απαιτούν τη χρησιμοποίηση ζώων. Στην συνέχεια και εφόσον δεν υπάρχει δυνατότητα πραγματοποίηση του πρωτοκόλλου χωρίς τη χρησιμοποίηση ζώων θα πρέπει να τεκμηριώνεται η επιλογή του συγκεκριμένου ζωικού προτύπου, η προέλευσή του και ο συνολικός αριθμός των ζώων που θα απαιτηθούν. Πριν από την τελική απόφαση για τη χρησιμοποίηση των ζώων θα πρέπει να πραγματοποιείται ανάλυση κόστους/οφέλους. Με τον όρο «κόστος» καθορίζεται ο αναμενόμενος πόνος, η ταλαιπωρία και τελικά η θυσία των ζώων κατά τη διάρκεια του πειραματισμού. Σαν «όφελος» χαρακτηρίζεται το αναμενόμενο όφελος που θα προκύψει από την έρευνα για τον άνθρωπο, τα ζώα ή και το περιβάλλον. Είναι σαφές ότι η χρησιμοποίηση των ζώων είναι αποδεκτή μόνον όταν τεκμηριώνεται υπεύθυνα και επιστημονικά ότι το αναμενόμενο όφελος θα υπερκαλύψει το σωματικό πόνο και την ταλαιπωρία θα προκληθεί στα ζώα[16]. Κατά τη φάση του σχεδιασμού του ερευνητικού πρωτοκόλλου θα πρέπει να δίδεται ιδιαίτερη προσοχή στη μείωση του προκαλούμενου πόνου, ή της κακουχίας αλλά και στην μεγιστοποίηση του αναμενόμενου οφέλους. Επιπλέον θα πρέπει να τεκμηριώνεται η επιλογή του είδους και του αριθμού των ζώων που θα χρησιμοποιηθούν, να δίνονται λεπτομέρειες σχετικά με την πειραματική διαδικασία και τις τεχνικές που θα ακολουθηθούν, να περιγράφεται η παρεχόμενη κτηνιατρική μέριμνα, ιδιαίτερα για τις περιπτώσεις επώδυνων πειραματισμών και τέλος να παρέχονται πληροφορίες σχετικά με το στατιστικό πρόγραμμα που θα χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων.[15]

### 3.3. Η εφαρμογή της Συνθήκης των 3Rs

Η ερευνητική ομάδα, κατά την τεκμηρίωση της ερευνητικής της πρότασης, θα πρέπει να αποδεικνύει ότι έχει λάβει υπόψη της τη Συνθήκη των 3Rs των Russell και Burch που αφορά στις προσπάθειες που θα πρέπει να καταβάλλονται εκ μέρους των ερευνητών για την αντικατάσταση των ζώων *(replacement),* τη μείωση του αριθμού τους *(reduction),* την βελτίωση των πειραματικών τεχνικών κατά την εκτέλεση του συγκεκριμένου πρωτοκόλλου *(refinement)*. Η Συνθήκη των 3Rs θα πρέπει να λαμβάνεται σοβαρά υπόψη τόσο κατά τον σχεδιασμό όσο και κατά την υλοποίηση ενός ερευνητικού πρωτοκόλλου.[10,17,18]

Ο όρος *αντικατάσταση (replacement)* αφορά στη χρησιμοποίηση μεθόδων οι οποίες είναι δυνατό να δώσουν τα ίδια αξιόπιστα αποτελέσματα με τις συμβατικές μεθόδους χωρίς να απαιτείται η χρήση ζώων εργαστηρίου. Η αντικατάσταση μπορεί να αφορά μεθόδους πλήρους αντικατάστασης των ζώων όπως στις περιπτώσεις χρησιμοποίησης *in vitro* ή *in silico* τεχνικών και των μαθηματικών μοντέλων *(απόλυτη αντικατάσταση)* ή μεθόδους που εν μέρει αντικαθιστούν τη χρησιμοποίηση ζώων όπως η αντικατάστασή τους με άλλους οργανισμούς που αποδεδειγμένα εμφανίζουν χαμηλότερη αίσθηση του πόνου όπως μερικά είδη ασπονδύλων *(μερική αντικατάσταση)*.[19] Η ερευνητική ομάδα θα πρέπει να παρέχει όλη την απαραίτητη επιστημονική τεκμηρίωση για τη χρησιμοποίηση των μεθόδων αντικατάστασης. Σε ορισμένες περιπτώσεις η χρησιμοποίηση μεθόδων αντικατάστασης μπορούν να συμβάλουν στη μείωση του συνολικού αριθμού των χρησιμοποιούμενων ζώων. Σαν παράδειγμα θα μπορούσε να αναφερθεί η χρήση *in vitro* ή *in silico* τεχνικών για την τεκμηρίωση της επίδραση των νανο-υλικών στην κυκλοφορία του αίματος.

Ο όρος *μείωση (reduction)* αφορά στη χρησιμοποίηση μεθόδων που σαν αποτέλεσμα θα έχουν τη λήψη αξιόπιστων αποτελεσμάτων ικανών να δώσουν απαντήσεις σε επιστημονικά ερωτήματα χρησιμοποιώντας μικρότερο αριθμό ζώων ή αυξάνοντας την ποσότητα των πληροφοριών που μπορούν να συλλεχθούν ανά ζώο χωρίς φυσικά να υποβαθμίζεται το επίπεδο ευζωίας των. Ο αριθμός των χρησιμοποιούμενων ζώων μπορεί να μειωθεί με διαφόρους τρόπους. Η σε βάθος γνώση της υπάρχουσας βιβλιογραφίας μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό του αριθμού ζώων που θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν για την λήψη αξιόπιστων αποτελεσμάτων. Μείωση του χρησιμοποιούμενου αριθμού ζώων μπορεί να επιτευχθεί και με τον σωστό σχεδιασμό του ερευνητικού πρωτοκόλλου, τον καθορισμό των απαραίτητων παρατηρήσεων αλλά και

την επιλογή των κατάλληλων στατιστικών προγραμμάτων για την επεξεργασία των αποτελεσμάτων.[20,21,22] Η ερευνητική ομάδα θα πρέπει να έχει υπόψη της ότι μεγάλος αριθμός χρησιμοποιούμενων ζώων μπορεί να είναι υπερβολή, μικρός όμως αριθμός ζώων μπορεί να οδηγήσει σε επανάληψη του πρωτοκόλλου και τελικά αύξηση του αριθμού των ζώων λόγω αδυναμίας λήψης αξιόπιστων συμπερασμάτων.[15,23]

Ο όρος *βελτίωση (refinement)* αφορά στη χρησιμοποίηση μεθόδων που σκοπό έχουν την βελτίωση των ήδη υπαρχόντων πειραματικών τεχνικών ώστε να μειώνεται ο προκαλούμενος πόνος και η ταλαιπωρία των ζώων, και να βελτιώνεται η ευζωία τους.[24] Σαν βελτίωση μπορεί να θεωρηθεί και η χρησιμοποίηση μέσων ή υλικών που εμπλουτίζουν το περιβάλλον στέγασης των ζώων και τους δίνουν τη δυνατότητα να εκφράσουν συμπεριφορά ανάλογη με αυτή των ζώων του ιδίου είδους που βρίσκονται στο φυσικό περιβάλλον.[25,26] Σε περίπτωση που τα ζώα θα πρέπει να μένουν απομονωμένα το ένα από το άλλο αυτό θα πρέπει να αιτιολογείται επιστημονικά. Στις περιπτώσεις εκείνες όπου τα ζώα αναμένεται να υποστούν έντονο πόνο ή ταλαιπωρία η ερευνητική ομάδα θα πρέπει να παρέχει αιτιολογημένη επιστημονική τεκμηρίωση ή θα πρέπει να διερευνά κατά πόσο μπορεί να χρησιμοποιήσει άλλες μεθόδους που μειώνουν τον πόνο ή την ταλαιπωρία. Ανάλογα θα πρέπει να επιλέγεται και το κατάλληλο αναισθησιολογικό σχήμα, η χρησιμοποίηση αναλγησίας και να υπάρχει μέριμνα για την έγκαιρη αναγνώριση του τελικού σημείου.[27,28] Ειδική αιτιολόγηση απαιτείται για τις περιπτώσεις δημιουργίας γενετικά τροποποιημένων ζώων τα οποία ενδέχεται να αντιμετωπίζουν σοβαρά προβλήματα υγείας (ζωικά πρότυπα για την αρθρίτιδα, τη νόσο Alzheimer, τον διαβήτη κλπ).[29,30]

### 3.4. Η πιλοτική μελέτη

Σκοπός της πιλοτικής μελέτης είναι η συλλογή πληροφοριών σχετικά με την υλοποίηση του πρωτοκόλλου, τη μεθοδολογία που θα ακολουθηθεί, και κυρίως τον προσδιορισμό και την αντιμετώπιση τυχόν τεχνικών προβλημάτων που μπορεί να εμφανιστούν κατά την υλοποίηση της κυρίας μελέτης. Από την πιλοτική μελέτη μπορούν να εξαχθούν συμπεράσματα για τυχόν ελλείψεις στο σχεδιασμό του πρωτοκόλλου έτσι ώστε να κερδηθούν χρήμα και χρόνος. Ειδικά για τα ερευνητικά πρωτόκολλα που περιλαμβάνουν την χρησιμοποίηση ζώων, η πιλοτική μελέτη είναι χρήσιμη στην εξαγωγή συμπερασμάτων σχετικά με τον υπολογιζόμενο αριθμό των ζώων που θα χρησιμοποιηθούν, τη σοβαρότητα της προκαλούμενης βλάβης και την αναγκαιότητα για την χρησιμοποίηση κάποιας επιπλέον φαρμακευτικής αγωγής. Η ερευνητική ομάδα έχει τη δυνατότητα να αξιολογήσει και αν χρειαστεί να βελτιώσει τυχόν πειραματικές τεχνικές, να χρησιμοποιήσει τα καταλληλότερα αναισθητικά σχήματα, να χρησιμοποιήσει διάφορα αναλγητικά και να καθορίσει το τελικό σημείο. Ο αριθμός των ζώων που θα χρησιμοποιηθούν θα πρέπει να είναι ο λιγότερο δυνατός χωρίς όμως να επηρεάζεται η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων. Οι πιλοτικές μελέτες θα πρέπει πάντα να είναι εγκεκριμένες σύμφωνα με την κείμενη νομοθεσία.[31,32]

### 3.5. Η συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση

Η συστηματική ανασκόπηση αποτελεί μια σύνθεση της υπάρχουσας διαθέσιμης βιβλιογραφίας, για κάποιο συγκεκριμένο επιστημονικό ερώτημα, με τη χρησιμοποίηση της συστηματικής προσέγγισης. Ως μετα-ανάλυση θεωρείται η στατιστική μέθοδος που χρησιμοποιείται για τη σύγκριση των αριθμητικών αποτελεσμάτων ατομικών μελετών που μπορεί να περιλαμβάνονται στη συστηματική ανάλυση.[33,34]Μείωση του αριθμού των ζώων μπορεί να επιτευχθεί με την αποφυγή επανάληψης πειραματισμών που έχουν ήδη πραγματοποιηθεί. Μετα-ανάλυση των αποτελεσμάτων προηγούμενων μελετών μπορούν να συμβάλουν στον καλύτερο καθορισμό του ακριβούς αριθμού των ζώων που θα χρησιμοποιηθούν στην μελέτη. Συστηματικές ανασκοπήσεις συγκριτικών μελετών μπορούν να χρησιμοποιηθούν προκειμένου να τεκμηριώσουν την αποτελεσματικότητα και την αξιοπιστία εφαρμογής νέων βελτιωμένων πειραματικών τεχνικών ή μεθόδων που δεν χρησιμοποιούν ζώα εργαστηρίου.[35]

### 3.6. Εγκαταστάσεις, εξοπλισμός και προσωπικό

Η ερευνητική ομάδα θα πρέπει να τεκμηριώσει την διαθεσιμότητα των απαραίτητων εγκαταστάσεων, του εξοπλισμού και του προσωπικού που είναι απαραίτητα για την πραγματοποίηση του ερευνητικού πρωτοκόλλου. Οι συνθήκες στέγασης των ζώων και οι εγκαταστάσεις για τα ζώα εργαστηρίου θα πρέπει να ανταποκρίνονται στις απαιτήσεις της εθνικής νομοθεσίας καθώς και τις κατευθυντήριες γραμμές και συστάσεις διεθνών επιστημονικών οργανισμών σχετικά με την ευζωία των ζώων Εργαστηρίου.[11,36] Ανάλογα με το ζωικό πρότυπο που πρόκειται να χρησιμοποιηθεί οι ερευνητές θα πρέπει να είναι ενημερωμένοι για τις πλέον σύγχρονες τάσεις και τεχνικές που αφορούν στη σωστή φροντίδα και χρησιμοποίηση των ζώων εργαστηρίου και να μην διστάζουν να τις υιοθετούν.

Για την πραγματοποίηση του πειραματικού πρωτοκόλλου θα πρέπει να είναι διαθέσιμη όλη η απαραίτητη υλικοτεχνική υποδομή έτσι ώστε να διασφαλίζεται η ποιότητα της επιτελούμενης έρευνας και η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων.

Το προσωπικό που θα εργαστεί με τα ζώα εργαστηρίου θα πρέπει να είναι εκπαιδευμένο στη φροντίδα, στο χειρισμό των ζώων και στην εκτέλεση πειραματικών χειρισμών που απαιτούνται από το πρωτόκολλο. Αυτό περιλαμβάνει και την εκτίμηση και αναγνώριση των συμπτωμάτων του πόνου ή της κακουχίας του ζώου καθώς και την γνώση των απαραίτητων ενεργειών που θα πρέπει να πραγματοποιηθούν προκειμένου τα ζώα να ανακουφιστούν. Θα πρέπει να είναι γνώστες της σχετικής εθνικής νομοθεσίας. Οι ερευνητές θα πρέπει να φροντίζουν ώστε το προσωπικό να είναι συνεπές, υπεύθυνο και έμπιστο στην εκτέλεση των καθηκόντων του και να έχουν εμπειρία στην εκτέλεση των συγκεκριμένων καθηκόντων. Εκπαιδευτικά και επιμορφωτικά προγράμματα είναι διαθέσιμα από πολλούς διεθνείς οργανισμούς και επιστημονικές οργανώσεις.[11,37]

## 4. Η Δημοσίευση των Αποτελεσμάτων

Η δημοσίευση των αποτελεσμάτων μιας ερευνητικής μελέτης που έχει πραγματοποιηθεί με την χρησιμοποίηση ζώων εργαστηρίου αποτελεί την «τελευταία πράξη» της ερευνητικής προσπάθειας. Η δημοσίευση αυτή μπορεί να αποτελέσει τη βάση για περαιτέρω συνέχιση της έρευνας από την ίδια ή άλλη επιστημονική ομάδα ή να αποτελέσει το έναυσμα για συνέχιση της μελέτης σε ανθρώπους (περίπτωση κλινικών μελετών). Δυστυχώς πρόσφατες συστηματικές κυρίως μελέτες ανασκόπησης της υφιστάμενης βιβλιογραφίας οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η βιοϊατρική έρευνα υπολείπεται σε ποιότητα από τις κλινικές μελέτες.[4,5] Η έλλειψη τυχαιοποίησης κατά τη διαδικασία επιλογής και κατάρτισης των πειραματικών ομάδων μελέτης, ο μικρός πολλές φορές αριθμός χρησιμοποιούμενων ζώων αλλά και η δημοσίευση των θετικών και αποσιώπηση των αρνητικών ή μη αναμενόμενων αποτελεσμάτων αποτελούν μερικά από τα προβλήματα της βιοϊατρικής έρευνας που οδηγούν σε λάθος συμπεράσματα.[38]

Σε απάντηση, πολλά επιστημονικά περιοδικά και οργανισμοί συμφώνησαν στην κατάρτιση συγκεκριμένων κατευθυντηρίων γραμμών για την δημοσίευση αλλά κυρίως για το σχεδιασμό μελετών που περιλαμβάνουν τη χρησιμοποίηση ζώων. Τέτοια «εργαλεία» είναι το EDA (Experimental Design Assistant) και οι κατευθυντήριες γραμμές ARRIVE (Animal Research: Reporting In Vivo Experiments - ARRIVE guidelines). Το EDA είναι πρόγραμμα το αναπτύχθηκε από το National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research (NC3Rs, UK) και το οποίο επιτρέπει στο χρήστη να δημιουργήσει μια «εικονική» αναπαράσταση του πειραματισμού του και να καθορίσει σημαντικά σημεία του όπως την βασική ερευνητική υπόθεση, την μεθοδολογία και την ανάλυση των αποτελεσμάτων.[39] Οι κατευθυντήριες γραμμές ARRIVE αποτελούν στην ουσία έναν κατάλογο ελέγχου για τις πληροφορίες που θα πρέπει να περιέχονται σε κάθε δημοσίευση μελέτης που περιλαμβάνει τη χρησιμοποίηση ζώων εργαστηρίου.[40,41] Είναι σαφές ότι και στις δύο περιπτώσεις ο ερευνητής θα πρέπει να λαμβάνει υπόψη του τις συγκεκριμένες οδηγίες ήδη από τη φάση του σχεδιασμού του πρωτοκόλλου και όχι μετά την ολοκλήρωσή του.

## 5. Συμπεράσματα

Ζώντας σε ένα παγκοσμιοποιημένο περιβάλλον όπου τα μέσα ενημέρωσης έχουν εκμηδενί-

σει τόπο και χρόνο, το κύριο μήνυμα που θα πρέπει να διαχέεται από τη βιοϊατρική κοινότητα προς την κοινωνία είναι ότι εφ' όσον η χρησιμοποίηση των ζώων είναι αναπόφευκτη αυτή θα πρέπει να γίνεται με βάση συγκεκριμένα νομοθετικά, επιστημονικά και ηθικά κριτήρια. Με τον τρόπο αυτό θα οικοδομηθεί η σχέση αμοιβαίας εμπιστοσύνης και εκτίμησης μεταξύ του ερευνητή και του κοινωνικού συνόλου. Η ηθική τεκμηρίωση των ερευνητικών πρωτοκόλλων αντικατοπτρίζει το ενδιαφέρον του ερευνητή αλλά και την ευθύνη του για μείωση του αριθμού των χρησιμοποιούμενων ζώων και βελτίωση των διαθέσιμων πειραματικών τεχνικών. Ιδιαίτερα σημαντική κρίνεται και η εκπαίδευση των νέων επιστημόνων, με κύριο πάντα γνώμονα ότι η ορθή επιστημονική πρακτική συμβαδίζει με τη σωστή χρησιμοποίηση και το σεβασμό των ζώων εργαστηρίου.

## Βιβλιογραφία


1. Festing S, Wilkinson R. The ethics of animal research. EMBO Reports 2007, 8 (6): 526-530.
2. Reines BP. On the locus of medical discovery. Journal of Medicine and Philosophy 1991,116:183-209.
3. Greek JS, Greek CR. What will we do if we don't experiment on animals? Medical Research for the twenty first century. Trafford, Victoria BC, Canada, 2004.
4. Perel P, Roberts I, Sena E, Wheble P, Briscoe C, Sandercock P, Macleod M, Mignini LE, Jayaram P, Khan KS. Comparison of treatment effects between animal experiments and clinical trials: systematic review. BMJ 2007, 334 (7586): 197 (http://dx.doi.org/10.1136/bmj.39048.407928.BE).
5. Kilkenny C, Parsons N, Kadyszewski E, Festing MFW, Cuthill IC, Fry D, Hutton J, Altman DG. Survey of the Quality of Experimental Design, Statistical Analysis and Reporting of Research Using Animals. PLoS One 2009, 4(11): e7824.
6. Κωστομητσόπουλος Ν, Αρβανίτη Α, Δηλέ Χ, Παπαδόπουλος Η, Παπατσίρος ΒΓ, Κυριάκης ΣΚ. Νομοθεσία για την προστασία, την υγεία και την προστασία των ζώων που χρησιμοποιούνται για πειραματικούς και εκπαιδευτικούς σκοπούς. ΠΕΚΕ 2007, 58(3): 270-274.
7. European Union. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. OJ 1986, L358: 1-28.
8. Council of Europe. European Convention ETS 123 on the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg, 1986.
9. Οδηγία 2010/63 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου περί προστασίας των ζώων που χρησιμοποιούνται για επιστημονικούς σκοπούς. OJ 2010, L276: 33-79.
10. Russell WMS, Burch RL. The principles of Humane Experimental Technique. London, UK: Methuen, 1959.
11. Προεδρικό Διάταγμα 56. Προσαρμογή της ελληνικής νομοθεσίας στην Οδηγία 2010/63/ΕΕ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 22ας Σεπτεμβρίου 2010 σχετικά με την προστασία των ζώων που χρησιμοποιούνται για επιστημονικούς σκοπούς. ΦΕΚ Α' 106/2013.
12. Rollin BE. Animal research: a moral science. EMBO Reports 2007, 8(6): 521-525.
13. Ferdowsian HR, Beck N. Ethical and scientific considerations regarding animal testing and research. PLoS One 2011, 6(9): e24059.
14. Olsson IA, Hansen AK, Sandoe P. Ethics and refinement in animal research. Science 2007, 317: 1680.
15. Festing M, Altman D. Guidelines for the design and statistical analysis of experiments using laboratory animals. ILAR Journal 2002, 43(4): 244-258.
16. Festing S, Wilkinson R. The ethics of animal research. EMBO reports 2007, 8: 526-530.
17. Κωστομητσόπουλος ΝΓ, Καραγιαννάκος ΠΕ (1999). Εναλλακτικές μέθοδοι στη χρησιμοποίηση ζωϊκών προτύπων στη χειρουργική έρευνα. Στο: Τιμητικός Τόμος Καθηγητού Β.Χ. Γολεμάτη. Εκδ. Ελληνική Εταιρεία Ενδοσκοπικής Χειρουργικής & άλλων Επεμβατικών Μεθόδων. Αθήνα, 1999: 187-193.
18. Guhad F. Introduction to the 3Rs (Refinement, Reduction, Replacement). Cont Topics 2005, 44 (2): 58-59.
19. Wakefield ID, Polland C, Redfern WS, Hammond TG, Vlentin JP. The application of in vitro methods to safety pharmacology. Fundam Clin Pharmacol 2002,16: 209-218.
20. Nevalainen T. Training for reduction in laboratory animal use. Alter Lab Anim 2004, 32 (suppl2): 65-67.
21. Chiarotti F and Puopolo M. Refinement in behavioural research: a statistical approach. In: Progress in Reduction, Refinement and Replacement of

Animal Experimentation. Eds. M. Balls, A.-M. van Zeller, and M. Halder. Elsevier, The Netherlands, 2000: 1222-1238.
22. McConway K. The number of subjects in animal behaviour experiments: is Still still right? Ethics in Research on Animal Behaviour, (eds M. Stamp Dawkins and L.M. Gosling) Academic Press, London, UK, 1992: 35-38.
23. Festing M. Design and Statistical methods in studies using animal models of development. ILAR Journal 2006, 47(1): 5-14.
24. Lloyd MH, Foren BW, Wolfensohn. Refinement: promoting the three Rs in practice. Laboratory Animals 2008, 42: 284-293.
25. Baumans V, Clausing P, Hubrecht R, Reber A, Vitale A, Wyffels E, Gyger M (2006). Report of the FELASA's working group on standardization of enrichment. In Web guides (http://www.felasa.eu/recommendations/reports/Standardization-of-enrichment).
26. Kostomitsopoulos N, van Loo P, Paronis E, Alexakos P, Balafas E, Baumans V. The influence of the location of a nest box in an individual ventilated cage on the preference of mice to use it. JAAWS 2007, 10: 112-121.
27. Bateson P. Assessment of pain in animals. Animal Behaviour 1991, 42: 827-839.
28. Morton DM, Griffiths PHM. Guidelines on the recognition of pain, distress and discomfort in experimental animals and an hypothesis for assessment. Veterinary Record 1985, 116: 431-436.
29. Porter DG. Ethical scores for animal experiments. Nature 1992, 356: 101-102.
30. van der Meer M, Rolls A, Baumans V, Olivier B, van Zutphen LF. Use of score sheets for welfare assessment of transgenic mice. Laboratory Animals 2001,35(4): 379-389.
31. National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research (NC3Rs). Why do a pilot study? (www.nc3rs.org.uk/conducting-pilot-study).
32. Morton D. The importance of non-statistical design in refining animal experiments. REDVET 2008: IX(10B).
33. Deeks JJ, Altman DG, Bradburn MJ. Statistical methods for examining heterogeneity and combining results from several studies in meta-analysis. In: Systemic Reviews in Health care (Eds: Egger M, Davey Smith G, Altman DG). 2nd edition BMJ Books, London, UK, 2001.
34. Huque MF. Experiences with meta-analysis in NDA submissions. Proc Biopharmac Sec Am Stat Assoc 1988,2: 28-33.
35. de Vries RBM, Wever KE, Avey MT, Stephens ML, Sena ES, Leenaars M. The usefulness of systematic reviews of animal experiments for the design of preclinical and clinical studies. ILAR Journal 2014, 55(3): 427-437.
36. National Research Council. Guide for the care and use of laboratory animals. National Academy Press, Washington DC, 1996.
37. FELASA Recommendations for the Accreditation of Education and Training Courses in Laboratory Animal Science. 2015 (http://www.felasa.eu/media/uploads/E&T_Recommendations_Accreditation_Revised_20150601.pdf).
38. Macleod MR, McLean AL, Kyriakopoulou A, Serghiou S, Arno de Wilde A, Sherratt N, Hirst T, Hemblade R, Bahor Z, Nunes-Fonseca C, Potluru A, Thomson A, Baginskitae J, Egan K, Vesterinen H, Currie GL, Churilov L, Howells DW, Sena ES. Risk of bias in reports of in vivo research: a focus for improvement. PLOS Biology 2015, DOI:10.1371/journal.pbio.1002273.
39. National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research (NC3Rs). Experimental Design Assistant (https//eda.nc3rs.org.uk).
40. Kilkenny C, Browne WJ, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG. Improving bioscience research reporting: The ARRIVE guidelines for reporting animal research. PLOS Biology 2010, 8(6): e1000412.
41. Baker D, Lidster K, Sottomayor A, Amor S. Two years later: Journals are not yet enforcing the ARRIVE guidelines on reporting standards for pre-clinical animal studies. PLOS Biology 2014, 12(1): e1001756.