

Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 60, No 3 (2009)



Management of pain - humane endpoints - euthanasia of laboratory animals

P. YPSILANTIS (Π. ΥΨΗΛΑΝΤΗΣ)

doi: [10.12681/jhvms.14932](https://doi.org/10.12681/jhvms.14932)

To cite this article:

YPSILANTIS (Π. ΥΨΗΛΑΝΤΗΣ) P. (2017). Management of pain - humane endpoints - euthanasia of laboratory animals. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 60(3), 237-244. <https://doi.org/10.12681/jhvms.14932>

■ Management of pain – humane endpoints – euthanasia of laboratory animals

P. Ypsilantis, DVM, PhD, MRCVS

Laboratory of Experimental Surgery and Surgical Research, School of Medicine, Democritus University of Thrace

■ Αντιμετώπιση του πόνου – εκτίμηση τελικού σημείου – επιλογές ευθανασίας ζώων εργαστηρίου

Π. Υψηλάντης, Επίκουρος Καθηγητής Πειραματικής Χειρουργικής ΔΠΘ, DVM, PhD, MRCVS

Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Έρευνας, Τμήμα Ιατρικής ΔΠΘ

ABSTRACT. The minimization of pain and distress of laboratory animals before, during and after the experiment is one of the basic principles for the humane treatment of animals used in biomedical research. Pain and distress is assessed based on careful observation of laboratory animals and the evaluation of a series of parameters related to clinical signs, natural behaviour and provoked behaviour. Scoring of these parameters makes possible their quantitative assessment and the calculation of distress score. Based on this score we can define the humane endpoints according to which the experimenter decides to relieve the animal from pain and distress by administering analgesics, terminating the experiment or performing euthanasia. The reasons for implementing humane endpoints are ethical, legal, practical and scientific. Analgesic agents can be divided into three: narcotic analgesics, antipyretic analgesics and nociceptive blockers. The choice drug will be determined by the degree of analgesic effect, its required duration of action, the experimental protocol and the experience of the experimenter. Euthanasia methods can be divided into physical and chemical ones. Physical methods include shooting, concussion, electrical stunning, cervical dislocation, decapitation and microwave irradiation. Chemical methods include the administration of inhalation agents (carbon dioxide, carbon monoxide, volatile inhalational anesthetics), agents absorbed through the skin and gills (benzocaine, tricaine methane sulphonate, etomidate, metomidate, quinaldine) and injectable agents (the barbiturates pentobarbitone and thiopental and the agent T-61). Euthanasia methods that can be applied to unconscious animals also include pithing, rapid freezing, exsanguination, administration of nitrogen or argon, ethanol, chloral hydrate and potassium chloride and air embolism. Death should always be confirmed after performing an euthanasia method.

Keywords: laboratory animals, pain, humane endpoints, analgesia, euthanasia

ΠΕΡΙΛΗΨΗ. Η ελαχιστοποίηση του πόνου και της ταλαιπωρίας των ζώων εργαστηρίου κατά τις περιόδους πριν, κατά τη διάρκεια και μετά από το πείραμα αποτελεί θεμελιώδη αρχή του κώδικα ηθικής δεοντολογίας της χρήσης ζώων για πειραματικούς σκοπούς. Η εκτίμηση του πόνου και της ταλαιπωρίας γίνεται πρωτίστως με την προσεκτική παρατήρηση των ζώων και την αξιολόγηση μίας σειράς παραμέτρων που αφορούν σε κλινικά σημεία, αλλά και σε χαρακτηριστικά συμπεριφοράς και αντίδρασης. Η βαθμονόμηση αυτών των παραμέτρων είναι σημαντική για την ποσοτική καταγραφή τους και την εξαγωγή του δείκτη ταλαιπωρίας. Με βάση αυτό το πρωτόκολλο ορίζονται τα τελικά σημεία τα οποία προσδιορίζουν τη χρονική στιγμή που αποφασίζεται παρέμ-

Correspondence: Laboratory of Experimental Surgery and Surgical Research, School of Medicine, Democritus University of Thrace, University General Hospital of Alexandroupolis, 681 00 Alexandroupolis
Tel./Fax: 25510-30404, e-mail: pipsil@med.duth.gr

Αλληλογραφία: Π. Υψηλάντης
Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Έρευνας, Τμήμα Ιατρικής ΔΠΘ,
Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Αλεξανδρούπολης, 681 00 Αλεξανδρούπολη.
Τηλ/Φαξ. 25510-30404, e-mail: pipsil@med.duth.gr

Submission date: 13.10.2009
Approval date: 19.10.2009

Ημερομηνία υποβολής: 13.10.2009
Ημερομηνία εγκρίσεως: 19.10.2009

βαση για την ανακούφιση του ζώου με τη χορήγηση αναλγητικών, τη διακοπή της πειραματικής διαδικασίας ή και τη διενέργεια ευθανασίας. Οι λόγοι εφαρμογής τελικών σημείων είναι ηθικοί, νομικοί, πρακτικοί και επιστημονικοί. Οι ουσίες που χρησιμοποιούνται για την αναλγησία χωρίζονται σε τρεις βασικές κατηγορίες: τα ναρκωτικά αναλγητικά, τα αντιπυρετικά αναλγητικά και τους αποκλειστές των υποδοχέων του πόνου. Η επιλογή του κατάλληλου αναλγητικού καθορίζεται από το βαθμό αναλγησίας που επιθυμείται, τη διάρκεια δράσης του, το πειραματικό πρωτόκολλο και την εμπειρία του ερευνητή. Οι μέθοδοι ευθανασίας χωρίζονται στις φυσικές και τις χημικές. Στις φυσικές μεθόδους περιλαμβάνονται ο πυροβολισμός, η αποπληξία, η ηλεκτροπληξία, η απεξάρθρωση του τραχήλου, ο αποκεφαλισμός και τα μικροκύματα. Στις χημικές μεθόδους περιλαμβάνονται η χορήγηση εισπνευστικών ουσιών (διοξειδίου του άνθρακα, μονοξειδίου του άνθρακα, εισπνευστικά αναισθητικά), ουσιών που απορροφώνται από το δέρμα και τα βράγχια (βενζοκαΐνη, θειούχος τρικαΐνη, ετομιδάτη, μετομιδάτη, κουϊναλδίνη) και ενέσιμων ουσιών (τα βαρβιτουρικά πεντοβαρβιτόνη και θειοπεντάλη και η ουσία T-61). Στα ζώα στα οποία έχει προηγηθεί απώλεια συνείδησης μπορούν ακόμη να χρησιμοποιηθούν η καταστροφή του εγκεφάλου με βελόνα, η ταχεία κατάλυξη, η αφαιμάξη, η εισπνοή αζώτου ή αργού, η χορήγηση αιθανόλης, ένυδρης χλωράλης και χλωριούχου καλίου και ο εμβολισμός αέρα. Μετά από τη διενέργεια ευθανασίας θα πρέπει να επιβεβαιώνεται ο θάνατος.

Λέξεις ευρετηρίασης: ζώα εργαστηρίου, πόνος, τελικά σημεία, αναλγησία, ευθανασία

Η εργασία αυτή παρουσιάστηκε στο 2ο Πανελλήνιο Σεμινάριο Πειραματικής Βιοϊατρικής Έρευνας, Νοσοκομείο ΚΑΤ, 20-22 Νοεμβρίου 2008.

Εισαγωγή

Ο κώδικας ηθικής και δεοντολογίας που αφορά στη χρήση ζώων για πειραματικούς σκοπούς, που περιγράφηκε για πρώτη φορά από τους Russell και Burch το 1959 (Russell and Burch, 1959), συνοψίζεται στην αρχή των 3 R: Replacement (αντικατάσταση) – Reduction (μείωση) – Refinement (λεπτότητα, ευγένεια). Στον τελευταίο όρο διατυπώνεται η ανάγκη για μέριμνα για μείωση του πόνου και της ταλαιπωρίας που υφίστανται τα πειραματόζωα πριν, κατά τη διάρκεια και μετά από μία πειραματική διαδικασία. Στη βάση αυτή ο ερευνητής οφείλει να αναγνωρίζει και να εκτιμά τα σημεία πόνου και ταλαιπωρίας, να τα προλαμβάνει όπου είναι δυνατόν ή να φροντίζει για την αντιμετώπισή τους. Όταν αυτά δεν είναι αντιμετωπίσιμα, θα πρέπει να διακόπτεται το πείραμα και να οδηγείται το πειραματόζωο σε ευθανασία.

Ορισμός του πόνου και της ταλαιπωρίας

Ως «πόνος» ορίζεται μία δυσάρεστη εμπειρία αισθήσεων και συναισθημάτων, η οποία μπορεί να σχετίζεται με βλάβη ιστών και οδηγεί σε συνειδητές ή αντανάκλαστικές κινήσεις άμυνας ή / και τροποποίηση της συμπεριφοράς. Ο όρος «ταλαιπωρία» αφορά την ανοχή μίας κατάστασης, η οποία είναι επώδυνη, στρεσογόνος ή τραυματική.

Φυσιολογία του πόνου

Στην περιφέρεια του σώματος (π.χ. το δέρμα) υπάρχουν υποδοχείς πόνου, οι οποίοι αντιδρούν σε υπερβολική πίεση, θερμοκρασία ή χημικά ερεθίσματα.

Νευρικές ώσεις μεταβιβάζονται από τους υποδοχείς μέσω κεντρομόλων νευρικών οδών προς το ραχιαίο κέρασ του νωτιαίου μυελού. Οι εισερχόμενες ώσεις μπορεί να οδηγήσουν σε νωτιαίο αντανακλαστικό, όπως π.χ. την απόσυρση ενός άκρου, ως αμυντικό μηχανισμό. Μία δεύτερη νευρική οδός μεταφέρει τις ώσεις στον εγκέφαλο (νωτιαιοθαλαμική οδός) όπου μια άλλη σύννεψη λαμβάνει χώρα στο θάλαμο. Η τρίτη και τελευταία νευρική οδός ξεκινά από το θάλαμο και καταλήγει στον εγκεφαλικό φλοιό, όπου οι νευρικές ώσεις μεταφράζονται σε αίσθηση πόνου. Υπάρχουν, ωστόσο, και φυγόκεντρες νευρικές οδοί οι οποίες μπορεί να τροποποιήσουν τη δίοδο των ώσεων από το νωτιαίο μυελό και να αυξήσουν ή να μειώσουν την ανοχή και τον ουδό του πόνου (Smith 1994).

Εκτίμηση του πόνου και της ταλαιπωρίας

Οι τρόποι αντίδρασης στον πόνο μπορεί να αφορούν σε: α) συνειδητή μεταβολή της συμπεριφοράς προς αποφυγή του επώδυνου ερεθίσματος, β) αυτόματη αντίδραση για την προστασία του ζώου (π.χ. αντανάκλαστική απόσυρση του άκρου, ακινητοποίηση κ.λπ.) και γ) αντίδραση για μεταβίβαση του ερεθίσματος στα υπόλοιπα ζώα (π.χ. με κραυγές, εκκρίση φερομονών κ.λπ.).

Η εκτίμηση του πόνου και της ταλαιπωρίας βασίζεται κυρίως στην τακτική παρατήρηση από το προσωπικό που χειρίζεται τα πειραματόζωα. Στοιχεία που πρέπει να λαμβάνονται υπ' όψιν κατά την εκτίμηση του πόνου είναι: τα στοιχεία του ζώου (είδος, ηλικία,

κία, προέλευση), το ιστορικό του ζώου, κλινικά ευρήματα (καρδιακός ρυθμός, αναπνευστικός ρυθμός, θερμοκρασία, μυϊκός τόνος), βιοχημικά ευρήματα (όπως ΑΣΤΗ, ενδορφίνες), πρόσληψη τροφής (ποσότητα, τρόπος), νοητική κατάσταση (κατήφεια, καταστολή, επιθετικότητα, υπερδιέγερση), δραστηριότητα (απόλυτη αδράνεια έως μανιώδης υπερκινητικότητα), κραυγές (μπορεί να είναι εκτός φάσματος ανθρώπινης ακοής) και αντίδραση στη χορήγηση αναλγητικών (Morton and Townsend 1995).

Σημεία οξέος πόνου

Υπάρχουν διαφορές μεταξύ των ειδών, αλλά και μεταξύ των ζώων του ίδιου είδους, ως προς τις εκδηλώσεις του πόνου. Οι παρατηρήσεις θα πρέπει να γίνονται χωρίς το ζώο να αντιλαμβάνεται την παρουσία μας. Τα σημεία του πόνου περιλαμβάνουν: υπερκινητικότητα ή αδράνεια, κατάκλιση, απομόνωση, μείωση ή αύξηση των κραυγών, μεταβολές στην ποσότητα και τον τρόπο πρόσληψης νερού και τροφής, επιθετική ή αμυντική συμπεριφορά προς άλλα ζώα, νεογνά (καταβίβαση) ή τον εαυτό τους (αυτοτραυματισμός), μεταβολές στη συμπεριφορά που αφορά στη συλλογή της τροφής, την αυτοπεριοποίηση, την άσκηση, τη σεξουαλική δραστηριότητα και τον ύπνο και μεταβολές στη θερμοκρασία του σώματος (Smith 1994).

Σημεία χρόνιου πόνου και ταλαιπωρίας

Οι μεταβολές είναι συνήθως μικρές και απαιτείται προσεκτική παρατήρηση και καλή γνώση της συμπεριφοράς των ζώων. Εκτός από το σωματικό πόνο, ταλαιπωρία μπορεί να επέλθει από μεταβολές στο περιβάλλον των ζώων, όπως αλλαγή του τύπου κλωβού, του αριθμού των ζώων ανά κλωβί, γειτνίαση με ανταγωνιστικά είδη ζώων, κ.λπ. (Smith 1994).

Εκτίμηση τελικού σημείου

Τα ανθρωπιστικά-ζωοφιλικά τελικά σημεία αφορούν στην εφαρμογή κριτηρίων με βάση τα οποία αποφασίζεται η λήψη μέτρων για την ανακούφιση από τον πόνο και την ταλαιπωρία, που περιλαμβάνουν από χορήγηση αναλγητικών έως τη διακοπή του πειραματισμού και την ευθανασία του πειραματόζωου. Οι λόγοι εφαρμογής τους είναι ηθικοί, νομικοί, πρακτικοί και επιστημονικοί. Τα τελικά σημεία βρίσκουν εφαρμογή: α) όταν ένα ζώο δεν μπορεί να παρέχει αξιόπιστη και χρήσιμη επιστημονική πληροφορία λόγω σημαντικών προβλημάτων στην υγεία του, β) όταν ένα ζώο δεν μπορεί να παρέχει αξιόπιστη και χρήσιμη επιστημονική πληροφορία λόγω σημαντικών διαταρα-

χών στην ψυχολογία του, οι οποίες μπορεί να διαταράξουν τη φυσιολογία του, γ) όταν η ταλαιπωρία που υφίσταται το πειραματόζωο δεν αντισταθμίζει το όφελος της μελέτης, δ) όταν η ταλαιπωρία που υφίσταται το πειραματόζωο είναι τόσο μεγάλη ώστε να εμπίπτει στην κατηγορία της «βάνανυσης συμπεριφοράς προς τα ζώα» που ορίζει η σχετική νομοθεσία για την προστασία των ζώων και ε) όταν, ενώ ο υψηλός βαθμός ταλαιπωρίας μπορεί να δικαιολογηθεί, δεν είναι απαραίτητη η συνέχιση του πειραματισμού, αφού δεδομένα από προηγούμενα στάδια του είναι αρκετά ώστε να προβλεφθεί η έκβαση της μελέτης (Morton 2008).

Για την αναγνώριση και ποσοτικοποίηση του βαθμού ταλαιπωρίας ενός ζώου μπορεί να χρησιμοποιηθεί η βαθμονόμηση χαρακτηριστικών που αφορούν σε βασικά κλινικά σημεία, καθώς και χαρακτηριστικά συμπεριφοράς και αντίδρασης. Αυτές οι παράμετροι θα πρέπει να ορίζονται για κάθε πειραματικό πρωτόκολλο χωριστά. Από το άθροισμα των επιμέρους βαθμολογιών εξάγουμε το δείκτη ταλαιπωρίας με βάση τον οποίο λαμβάνονται αποφάσεις σχετικά με τη χορήγηση αναλγητικών, τη συνέχιση ή όχι του πειράματος ή, τέλος, τη διενέργεια ευθανασίας (Πίνακας 1).

Αιτιολογικοί παράγοντες πρόκλησης πόνου και ταλαιπωρίας

Περίοδος πριν από το πείραμα

Πριν την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας, διάφοροι παράγοντες μπορεί να οδηγήσουν στην ταλαιπωρία των πειραματόζωων, όπως η μεταφορά σε νέες εγκαταστάσεις εκτροφής ή πειραματισμού, οι μεταβολές στην πυκνότητα των ζώων ανά κλωβό, η διαταραχή της ιεραρχίας, το στρες της απομόνωσης, νέες επαφές με τον άνθρωπο, μεταβολές στη θερμοκρασία, τη σχετική υγρασία και τη φωτοπερίοδο ή μεταβολές στις διατροφικές συνήθειες. Το στρες που δημιουργείται σε ένα ζώο μπορεί να μεταδοθεί με ευκολία στα υπόλοιπα μέσω έκκρισης φερομονών και μεταβολών στη συμπεριφορά (κραυγές, κινητικότητα). Μία περίοδος εγκλιματισμού 7-10 ημερών είναι απαραίτητη για την εξοικείωση των νεοεισερχόμενων πειραματόζωων σε μία εγκατάσταση πειραματισμού όπου επικρατούν νέες συνθήκες περιβάλλοντος.

Περίοδος κατά τη διάρκεια του πειράματος

Διαδικασίες που λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια του πειραματισμού, όπως χειρισμοί των πειρα-

Table 1. Pain and distress score sheet.**Πίνακας 1.** Δελτίο βαθμολόγησης σημείων πόνου και ταλαιπωρίας.

Παράμετροι εκτίμησης	Βαθμολογία	Ημερ/α - ώρα	Ημερ/α - ώρα	Ημερ/α - ώρα
Εμφάνιση				
Φυσιολογική	0			
Έλλειψη αυτοπεριοποίησης	1			
Θαμπό τρίχωμα, οφθαλμικές και ρινικές εκκρίσεις	2			
Ανόρθωση τριχώματος, κύρτωση ράχης	3			
Πρόσληψη τροφής και νερού				
Φυσιολογική	0			
Αβέβαιη: μείωση σωματικού βάρους <5%	1			
Μειωμένη: μείωση σωματικού βάρους 10-15%	2			
Απουσία λήψης τροφής ή νερού	3			
Κλινικά σημεία				
Φυσιολογική θερμοκρασία, καρδιακός ρυθμός, αναπν. ρυθμός	0			
Μικρές μεταβολές	1			
Θερμοκρ ± 1 °C, Καρδ/αναπν ρυθμός ± έως 30%	2			
Θερμοκρ ± 2 °C, Καρδ/αναπν ρυθμός ± έως 50%	3			
Συμπεριφορά				
Φυσιολογική	0			
Μικρές μεταβολές	1			
Μείωση κινητικότητας και εγρήγορης, απομόνωση	2			
Κραυγές, αυτο-ακρωτηριασμός, υπερκινητικότητα ή ακινητοποίηση	3			
Προκαλούμενη συμπεριφορά				
Φυσιολογική	0			
Μικρή καταστολή ή υπερβολική αντίδραση	1			
Μέτρια μεταβολή στην αναμενόμενη συμπεριφορά	2			
Αντίδραση βίαιη ή πολύ ασθενής	3			
Διόρθωση βαθμολογίας				
Αν έχετε βαθμολογία 3 σε περισσότερες από μία περιπτώσεις, προσθέστε 1 επιπλέον πόντο για κάθε βαθμολογία 3	2-5			

ΣΥΝΟΛΟ

Ερμηνεία βαθμολογίας

0-4: φυσιολογική

5-9: προσεκτική παρακολούθηση, πιθανότητα χορήγησης αναλγητικών

10-14: Ταλαιπωρία. Λήψη μέτρων ανακούφισης, τακτική παρατήρηση, αναζήτηση δεύτερης γνώμης από κτηνίατρο, πιθανότητα διακοπής πειράματος

15-20: Σοβαρός πόνος. Αναθεώρηση του πειραματικού πρωτοκόλλου

ματόζων, εγχύσεις ουσιών, αιμοληψία, αναισθησία και η ίδια η χειρουργική επέμβαση, αποτελούν παράγοντες πρόκλησης ταλαιπωρίας και πόνου.

Περίοδος μετά το πείραμα

Η μετεγχειρητική περίοδος είναι σημαντική για τη διασφάλιση των συνθηκών που δεν θα επαιξήσουν

τον πόνο και την ταλαιπωρία που έχουν ήδη υποστεί τα πειραματόζωα στις προηγούμενες περιόδους. Θα πρέπει να περιλαμβάνει χορήγηση υγρών σε θερμοκρασία σώματος, τη διασφάλιση της ισορροπίας των ηλεκτρολυτών, καθώς και ανάπαυση σε ήσυχο και ζεστό περιβάλλον. Η έναρξη χορήγησης αναλγητικών

θα πρέπει να γίνεται πριν την ανάνηψη από την αναισθησία.

Αντιμετώπιση του πόνου με χορήγηση αναλγητικών

Για την ορθή επιλογή του κατάλληλου αναλγητικού θα πρέπει να λαμβάνονται υπ' όψιν, μεταξύ άλλων, οι ιδιαιτερότητες στην ανατομία, τη φυσιολογία, τη φαρμακολογία, τις διατροφικές ανάγκες και την ιδιοσυγκρασία του ζώου, ο βιολογικός ρυθμός του ζώου, καθώς και το στάδιο της ζωής του. Θα πρέπει να υπάρχει γνώση του φυσιολογικού εύρους τιμών παραμέτρων, όπως η θερμοκρασία σώματος, ο αναπνευστικός ρυθμός και ο καρδιακός ρυθμός. Αν και υπάρχει η ανησυχία από την πλευρά των ερευνητών ότι η χορήγηση αναλγητικών μπορεί να αλλοιώσει τα αποτελέσματα μιας μελέτης, πρωταρχικός σκοπός μας θα πρέπει να είναι η παροχή επαρκούς αναλγησίας στο πειραματόζωο (Smith 1994).

Κατηγορίες αναλγητικών

Τα αναλγητικά μπορούν να χωριστούν στις εξής τρεις κατηγορίες: ναρκωτικά αναλγητικά, αντιπυρετικά αναλγητικά και αποκλειστές των υποδοχέων πόνου. Στα ναρκωτικά αναλγητικά περιλαμβάνονται τα οπιοειδή μορφίνη, πεθιδίνη, ετορφίνη, φεντανύλη, ρεμφεντανύλη και μπουπρενορφίνη, τα οποία προκαλούν καταστολή του ΚΝΣ. Στα αντιπυρετικά αναλγητικά (μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη-NSAIDs) περιλαμβάνονται το ακετυλοσαλικυλικό οξύ (ασπιρίνη), η φλουνιξίνη, η παρακεταμόλη και η φενακετίνη. Στους αποκλειστές των υποδοχέων του πόνου περιλαμβάνονται τα τοπικά αναισθητικά και οι αγωνιστές των α2 αδρενεργικών υποδοχέων (ξυλαζίνη, μεδετομίδνη).

Αντιμετώπιση οξέος πόνου

Η επιλογή του κατάλληλου αναλγητικού θα πρέπει να γίνεται με βάση το βαθμό αναλγησίας που επιθυμείται, τη διάρκεια δράσης του, το πειραματικό πρωτόκολλο και την προσωπική εμπειρία του ερευνητή. Σε περιπτώσεις σοβαρού πόνου προτιμώνται η μαγωνιστές, όπως η μορφίνη. Η μπουπρενορφίνη έχει ισχυρή και παρατεταμένη δράση. Από τα NSAID, η φλουνιξίνη έχει ισχυρή και παρατεταμένη δράση. Τα τοπικά αναισθητικά μπορούν να εφαρμοστούν τοπικά μετά από χειρουργικές επεμβάσεις. Σε μακροχρόνια χορήγηση μπορούν να χρησιμοποιηθούν αντλίες έγχυσης ή η χορήγηση να γίνεται από το στόμα.

Αντιμετώπιση χρόνιου πόνου

Συνιστάται η επαναλαμβανόμενη χορήγηση NSAIDs σε μικρές δόσεις. Μπορούν να χορηγηθούν και στο πόσιμο νερό. Η μπουπρενορφίνη μπορεί, επίσης, να χορηγηθεί στο νερό.

Στον πίνακα 2 παρατίθενται συνιστώμενες δόσεις των αναλγητικών ουσιών που χρησιμοποιούνται στα ζώα εργαστηρίου.

Ευθανασία

Ως ευθανασία ορίζεται η θανάτωση με την πρόκληση ελάχιστου πόνου, φόβου και ταλαιπωρίας. Εφαρμόζεται ως τελευταία λύση για την αντιμετώπιση του πόνου και της ταλαιπωρίας ενός ζώου ή στο τέλος μίας πειραματικής διαδικασίας, όταν οι συνθήκες δεν είναι πλέον συμβατές με τη ζωή. Μία μέθοδος ευθανασίας είναι σημαντικό να εξασφαλίζει γρήγορη και μη αναστρέψιμη κατάργηση της συνείδησης, ενώ ο χρόνος μέχρι την επίτευξη θανάτου έχει μικρότερη σημασία.

Μία μέθοδος ευθανασίας για να είναι αποδεκτή θα πρέπει να πληροί τα ακόλουθα κριτήρια: να προκαλεί ελάχιστο πόνο, να προκαλεί ταχεία απώλεια συνείδησης και θάνατο, να απαιτεί ελάχιστη συγκράτηση, να μην προκαλεί διέγερση του ζώου, να είναι κατάλληλη για την ηλικία, το είδος και την κατάσταση της υγείας του, να ελαχιστοποιεί το φόβο και το στρες, να είναι αξιόπιστη, αναπαραγωγίμη, μη αναστρέψιμη, να είναι απλή στην εφαρμογή της, να είναι ασφαλής γι' αυτόν που την εκτελεί, να είναι αισθητικά αποδεκτή για τον εκτελεστή, να είναι συμβατή με το πειραματικό πρωτόκολλο εάν απαιτείται η δειγματοληψία ιστών ή σωματικών υγρών μετά από την εκτέλεσή της, να είναι οικονομική και όχι χρονοβόρος και να απαιτεί υλικά τα οποία να είναι εύκολα διαθέσιμα (Wolfensohn and Lloyd 1994).

Ο θάνατος μπορεί να επέλθει μέσω τριών μηχανισμών: 1) υποξία, άμεση ή έμμεση, 2) άμεση καταστολή των νευρώνων που είναι απαραίτητοι για τη ζωή και 3) φυσική διαταραχή της εγκεφαλικής λειτουργίας και καταστροφή των νευρώνων που είναι απαραίτητοι για τη ζωή (Andrews et al 1993).

Οι μέθοδοι ευθανασίας μπορούν να χωριστούν σε φυσικές και χημικές. Στις φυσικές μεθόδους ευθανασίας περιλαμβάνονται ο πυροβολισμός, η αποπληξία, η ηλεκτροπληξία, η απεξάρθρωση του τραχήλου, ο αποκεφαλισμός και τα μικροκύματα (Close et al, 1996).

1. Πυροβολισμός. Ο πυροβολισμός της κεφαλής

Table 2. Suggested doses of analgesic agents used in laboratory animals (Smith 1994).**Πίνακας 2.** Συνιστώμενες δόσεις αναλγητικών ουσιών για χρήση σε ζώα εργαστηρίου (Smith 1994).

	Μυς	Επίμυς	Ινδικό χοιρίδιο	Κουνέλι
Ασπιρίνη	120 mg/kg/4h, p.o.	100 mg/kg, 4h, p.o.	85 mg/kg/4h, p.o.	100 mg/kg/4h, p.o.
Μπουπρενορφίνη	0,05-0,1 mg/kg/8-12h, s.c.	0,01-0,05 mg/kg/8-12h, s.c.	0,05 mg/kg/8-12h, s.c.	0,01-0,05 mg/kg/8-12h, s.c., i.v.
Βουτορφανόλη	1-5 mg/kg/4h, s.c.	2 mg/kg/4h, s.c.		0,1-0,5 mg/kg/4h, i.v.
Κωδεΐνη	60-90 mg/kg, p.o. 20 mg/kg/4h, s.c.	60 mg/kg/4h		
Διγλοφενάκη	8 mg/kg, p.o.	10 mg/kg, p.o.	2,1 mg/kg, p.o.	
Φλουφεναμικό οξύ		5 mg/kg, p.o.	30 mg/kg, p.o.	
Φλουνιζίνη	2,5 mg/kg/12h, s.c.	2,5 mg/kg/12h, s.c.		1,1 mg/kg/12h, s.c.
Ιμπουπροφένη	30 mg/kg/4h, p.o.	15 mg/kg/4h, p.o.	10 mg/kg/4h, i.m.	10 mg/kg/4h, i.v.
Ινδομεθακίνη	1 mg/kg, p.o.	2 mg/kg, p.o.	2,5-8,8 mg/kg, p.o.	12,5 mg/kg, p.o.
Μεφαναμικό οξύ			224 mg/kg, p.o.	
Μορφίνη	2-5 mg/kg/2-4h, s.c.	2-5 mg/kg/2-4h, s.c.	2-5 mg/kg/4h, s.c.	2-5 mg/kg/2-4h, s.c.
Ναλμπουφίνη	4-8 mg/kg/4h, s.c.	1-2 mg/kg/3h, s.c.		1-2 mg/kg/4-5h, i.v.
Ναπροξένη			14,9 mg/kg, p.o.	
Παρακεταμόλη	200 mg/kg/4h, p.o.	200 mg/kg/4h, p.o.		
Πενταζοκίνη	10 mg/kg/3-4h, s.c.	10 mg/kg/3-4h, s.c.		5 mg/kg/2-4h, i.v.
Πεθιδίνη	10-20 mg/kg/2-3h, s.c.	10-20 mg/kg/2-3h, s.c.	10-20 mg/kg/2-3h, s.c.	10-20 mg/kg/2-3h, s.c.
Φενυλοβουταζόνη	30 mg/kg, p.o.	20 mg/kg, p.o.	40 mg/kg, p.o.	
Πιροξικάμη	3 mg/kg, p.o.	3 mg/kg, p.o.	5,7 mg/kg, p.o.	
Σουπροφένη	25 mg/kg, p.o.			
Τενοξικάμη		10 mg/kg, p.o.	7,2 mg/kg, p.o.	

	Γάτα	Σκύλος	Χοίρος	Πρόβατο	Πρωτεύοντα
Ασπιρίνη	Τοξική	10 mg/kg/6h, p.o.			20 mg/kg/6h, po
Μπουπρενορφίνη	0,005-0,01 mg/kg/8-12h, s.c., i.v.	0,01-0,02 mg/kg/8-12h, s.c, i.v.	0,005-0,01/8-12h, i.m.	0,005-0,01 mg/kg/4-6h, i.m.	0,01 mg/kg/8-12h, i.m., i.v.
Βουτορφανόλη	0,4 mg/kg/3-4h, s.c.	0,4 mg/kg/3-4h, s.c.			
Κωδεΐνη		0,25-0,5 mg/kg/6h, po (με παρακεταμόλη)			
Φλουνιζίνη	1 mg/kg/d x 5 d, sc	1 mg/kg/d, p.o.	1 mg/kg/d, s.c.	1 mg/kg/d, s.c.	2,5-10,0 mg/kg/d, i.m.
Ιμπουπροφένη		5-10 mg/kg/24-48h, po			
Μορφίνη	0,1 mg/kg/4h, s.c.	0,5-5,0 mg/kg/4h, s.c.	έως 20 mg/4h, i.m.	10 mg/4h, s.c.	1-2 mg/kg/4h, s.c.
Ναλμπουφίνη	1,5-3,0mg/kg/3h, i.v.	0,5-2,0 mg/kg/3-8h, sc			
Παρακεταμόλη	Τοξική	10-20 mg/kg/6h, p.o. (με κωδεΐνη)			
Πενταζοκίνη	8 mg/kg/4-6h, i.p.	2 mg/kg/4h, i.m.	2 mg/kg/4h, i.m.		2-5 mg/kg/4h, i.m.
Πεθιδίνη	10 mg/kg/2-3h, s.c.	10 mg/kg/2-3h, i.m.	2 mg/kg/4h, i.m.	200 mg/4h, im.	2-4 mg/kg/3-4h, i.m.

αποσκοπεί στην καταστροφή του εγκεφάλου. Βρίσκει εφαρμογή σε μεγάλα ερπετά και θηλαστικά. Υπάρχουν δύο τεχνικές: της ελεύθερης σφαιράς και του εκτινασσόμενου εμβόλου.

2. Αποπληξία. Εφαρμόζεται στα μικρόσωμα πειραματόζωα, όπως μικρά κουνέλια, επίμυες, μύες, νεογέννητες γάτες, νεογέννητα κουτάβια, νεογνά ινδικά χοιρίδια, χάμστερ, πτηνά, μικρά ερπετά, αμφίβια και

ψάρια. Εκτελείται ένα κτύπημα στην κεφαλή που οδηγεί σε απώλεια των αισθήσεων. Σε μεγαλύτερα ζώα χρησιμοποιείται ειδικός εξοπλισμός, όπως όπλο με μη διαπιτραίνον έμβολο. Η μέθοδος αυτή θα πρέπει να ακολουθείται από αφαιμάξη, εκτομή της καρδιάς ή καταστροφή του εγκεφάλου ώστε να επιβεβαιώνεται η θανάτωση.

3. Ηλεκτροπληξία. Εφαρμόζεται σε ψάρια, αμφίβια, πτηνά, σκύλους και άλλα σαρκοφάγα, όρνιθες, χοίρους, πρόβατα, μοσχάρια, αίγες και κουνέλια. Χρησιμοποιείται εναλλασσόμενο ρεύμα διάφορης τάσης μετά από τοποθέτηση δύο ηλεκτροδίων, ένα σε κάθε βραχίονα του ζώου. Η μέθοδος οδηγεί σε απώλεια των αισθήσεων και θα πρέπει να ακολουθείται από άλλη προκειμένου να επιβεβαιώνεται η θανάτωση. Εναλλακτικά, μπορεί να προκληθεί καρδιακή ανακοπή όταν το ένα ηλεκτρόδιο τοποθετηθεί στην κεφαλή και το άλλο στη ράχη του ζώου.

4. Απεξάρθρωση του τραχήλου. Εφαρμόζεται για την ευθανασία ψαριών, ορνιθών, μυών, νεαρών ινδικών χοιριδίων, νεαρών επιμύων, νεογέννητων κουνελιών, νεογέννητων γατών και νεογέννητων κουταβιών. Μπορεί, επίσης, να εφαρμοστεί και σε ενήλικους επίμυες και κουνέλια έως 1 kg αν προηγουμένως προκληθεί απώλεια της συνείδησης. Προκαλείται εκτεταμένη καταστροφή του εγκεφαλικού στελέχους και άμεση απώλεια των αισθήσεων. Θα πρέπει, ωστόσο, να ακολουθείται από αφαιμάξη ή καταστροφή του εγκεφάλου για να επιβεβαιώνεται η θανάτωση.

5. Αποκεφαλισμός. Εφαρμόζεται για την ευθανασία ψαριών, αμφίβιων, πτηνών, τρωκτικών και μικρών κουνελιών. Συνήθως χρησιμοποιούνται γκιλοτίνες ειδικά σχεδιασμένες γι' αυτόν το σκοπό. Στα ψυχράιμα σπονδυλωτά θα πρέπει προηγουμένως να προκαλείται απώλεια αισθήσεων δεδομένου ότι είναι ανθεκτικά στην ανοξία.

6. Μικροκύματα. Εφαρμόζεται από τους νευροβιολόγους ως μέθοδος μονιμοποίησης των μεταβολιτών του εγκεφάλου χωρίς απώλεια της ανατομικής δομής του εγκεφάλου. Χρησιμοποιούνται ειδικά σχεδιασμένες συσκευές με τις οποίες κατευθύνεται η ακτίνα μικροκυμάτων σε συγκεκριμένη περιοχή του εγκεφάλου. Εφαρμόζεται μόνο σε μικρόσωμα ζώα, όπως αμφίβια, πτηνά, μύες, επίμυες και μικρά κουνέλια.

Στις χημικές μεθόδους ευθανασίας περιλαμβάνεται η χορήγηση εισπνευστικών ουσιών, ουσιών που απορροφώνται από το δέρμα και ενέσιμων ουσιών

(Close et al 1996).

1. Εισπνευστικές ουσίες. Χρησιμοποιούνται είτε πτητικές ουσίες που εξαερώνονται είτε αέρια. Η χορήγηση γίνεται είτε με διοχέτευσή τους σε ειδικούς θαλάμους όπου τοποθετείται το πειραματόζωο είτε διαμέσου κυκλωμάτων αναισθησίας. Εφαρμόζεται σε μικρόσωμα ζώα, όπως πτηνά, τρωκτικά, γάτες και μικρούς σκύλους. Οι ουσίες που επιλέγονται δεν θα πρέπει να είναι ερεθιστικές για τις αεροφόρες οδούς ούτε να προκαλούν σπασμούς πριν την απώλεια της συνείδησης. Χρησιμοποιούνται το διοξείδιο του άνθρακα (σε συγκέντρωση >70%), το μονοξείδιο του άνθρακα και τα πτητικά εισπνευστικά αναισθητικά σε υψηλή συγκέντρωση (αλοθάνιο, ενφλουράνιο, ισοφλουράνιο).

2. Ουσίες που απορροφώνται από το δέρμα και τα βράγχια υδρόβιων ζώων. Χρησιμοποιούνται για την ευθανασία ψαριών και αμφίβιων. Σε αυτές περιλαμβάνονται η βενζοκαΐνη, η θειούχος τρικαΐνη, η ετομιδάτη, η μετομιδάτη και η κουϊναλδίνη. Προστίθενται μετά από διαλύσή τους στο νερό της δεξαμενής. Δρουν καταστέλλοντας το κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ).

3. Ενέσιμες ουσίες. Χρησιμοποιούνται είτε ενέσιμα γενικά αναισθητικά είτε σκευάσματα με συνδυασμό ουσιών με αναισθητική και μυοχαλαρωτική δράση. Η δόση χορήγησης είναι από διπλάσια έως τετραπλάσια της συνιστώμενης για αναισθησία.

- Βαρβιτουρικά (πεντοβαρβιτόνη, θειοπεντάλη, κ.ά.). Προκαλούν καταστολή του ΚΝΣ, καθώς και καρδιακή και αναπνευστική ανακοπή. Χορηγούνται με την ενδοφλέβια ή ενδοπεριτοναϊκή οδό.

- T-61. Το σκεύασμα αυτό περιέχει συνδυασμό τοπικού αναισθητικού, υπνωτικής ουσίας και μυοχαλαρωτικού. Χορηγείται με αργή ενδοφλέβια έγχυση αφού προηγηθεί ηρέμηση του ζώου.

Αποδεκτές μέθοδοι για ευθανασία σε ζώα στα οποία έχει προηγηθεί απώλεια συνείδησης είναι, επίσης, η καταστροφή του εγκεφάλου με βελόνα, η ταχεία κατάψυξη, η αφαιμάξη, η εισπνοή αζώτου/αργού, η χορήγηση αιθανόλης, ένυδρης χλωράλης, χλωριούχου καλίου και ο εμβολισμός αέρα (Close et al 1996).

1. Καταστροφή του εγκεφάλου με βελόνα. Εφαρμόζεται στα ψάρια, τα αμφίβια και τα ερπετά.

2. Ταχεία κατάψυξη. Εφαρμόζεται στις περιπτώσεις όπου επιζητείται η ελαχιστοποίηση της ενζυμικής

δραστηριότητας, όπως π.χ. όταν ακολουθεί βιοχημική ανάλυση ιστών. Χρησιμοποιείται η εμβύθιση του ζώου σε υγρό άζωτο, ο αποκεφαλισμός και η εμβύθιση της κεφαλής σε υγρό άζωτο, η κατάψυξη *in situ* και η ροή ψυχρού αέρα.

3. Η αφαίμαξη.

4. Η εισπνοή αζώτου ή αργού.

5. Η χορήγηση αιθανόλης. Χορηγείται ενδοπεριτοναϊκά και προκαλεί καταστολή του ΚΝΣ.

6. Η χορήγηση ένυδρης χλωράλης. Χορηγείται σε μεγαλόσωμα ζώα ενδοπεριτοναϊκά, μόνη της ή σε συνδυασμό με θειικό μαγνήσιο ή θειούχο πεντοβαρβιτόνη.

7. Η χορήγηση χλωριούχου καλίου. Έχει καρδιοτοξική δράση.

8. Εμβολισμός αέρα. Γίνεται ενδοφλέβια χορήγηση αέρα σε δόση 5-10 ml/kg σωματικού βάρους.

Επιβεβαίωση του θανάτου

Μετά τη διενέργεια ευθανασίας θα πρέπει να επιβεβαιώνεται ο θάνατος με βάση την απουσία του καρδιακού ρυθμού, του αναπνευστικού ρυθμού και των αντανακλαστικών. Στα μικρόσωμα πειραματόζωα, η θερμοκρασία σώματος μειώνεται κάτω από 25°C (Close et al 1996). ■

REFERENCES - ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Andrews EJ, Taylor B, Clark JD, Houpt K, Pascoe P, Robinson G, Boyce J (1993) Report of the AVMA Panel on Euthanasia. J Am Vet Med Assoc, 202: 229-249.
- Close B, Banister K, Baumans V, Bernoth EM, Bromage N, Bunyan J, Erhardt W, Flecknell P, Gregory N, Hackbarth H, Morton D, Warwick C (1996) Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 1. European Commission Recommendations for the euthanasia of experimental animals. Laboratory Animals, 30: 293-316.
- Morton D, Townsend P (1995) Dealing with adverse effects and suffering during animal research. In: Laboratory Animals. An introduction for experimenters. Tuffery A (ed). John Wiley & Sons, New York, pp 215-231.
- Morton DB. Humane endpoints in animal experimentation for biomedical research: ethical, legal and practical aspects. <http://www.lal.org.uk/pdf/FILES/MORTON.PDF> (accessed 1 November 2008).
- Russell W, Burch L (1959, reprinted 1992). Principles of humane experimental technique. Universities Federation for Animals Welfare, Potters Bar, UK.
- Smith A. The treatment of pain and suffering in laboratory animals (1994). In: Handbook of laboratory animals science. Volume I. Selection and handling of animals in biomedical research. Svendsen P, Hau J (eds). CRC Press, London, pp.339-351.
- Wolfensohn S, Lloyd M. Humane methods of killing. In: Handbook of laboratory animal management and welfare. Oxford University Press, Oxford, 1994, pp. 47-51.