

Uśmiercanie zwierząt, stosowanie wczesnego i humanitarnego zakończenia procedury

mgr Dominika Michalczyk-Wetula
Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii
Uniwersytet Jagielloński

Kraków 2017



Kategorie śmierci

- uśmiercanie zwierząt w celu **pozyskania tkanek i narządów** do doświadczeń
 - brak konieczności ubiegania się o zgodę LKE,
 - ewidencjonowanie przypadków
- uśmiercanie zwierząt **w wyniku procedury**
 - śmierć zwierzęcia jest punktem końcowym doświadczenia,
 - uśmiercenie zwierząt jako integralna część doświadczenia w celu pobrania materiału do dalszych analiz
- uśmiercanie zwierząt w ramach stosowania **wczesnego i humanitarnego zakończenia** procedury

Regulacje prawne

DYREKTYWA PARLAMENTU EUROPEJSKIEGO I RADY 2010/63/UE

z dnia 22 września 2010 r.

w sprawie ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych

USTAWA

z dnia 15 stycznia 2015 r.

o ochronie zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych lub edukacyjnych^{1), 2)}

Unikanie śmierci zwierząt

Art. 6 Ustawy z dnia 15 stycznia 2015 r.,
Dyrektywa 2010/63/UE

Należy tak planować i wykonywać procedury aby w ich wyniku **unikać śmierci zwierząt**

- **powrót do właściwego środowiska przyrodniczego, systemu hodowlanego**
- **znalezienie nowego domu (psy i koty)**

Jeśli uniknięcie śmierci zwierząt w wyniku procedury jest niemożliwe, należy tak zaplanować i wykonać tą procedurę aby **uśmiercić jak najmniej zwierząt** oraz **skrócić do minimum okres i intensywność ich cierpienia**

Należy uśmiercić zwierzę

Art. 6 Ustawy z dnia 15 stycznia 2015 r.,

Dyrektywa 2010/63/UE

W trakcie doświadczenia:

gdy stan zdrowia zwierząt wskazuje na nieuchronnie zbliżającą się śmierć **wczesne i humanitarne zakończenie procedury (humane endpoint)**

Dyrektywa 2010/63/UE
(14)

„W ramach wybranych metod (doświadczalnych) należy, w możliwie największym stopniu, **unikać śmierci jako punktu końcowego**, ze względu na ciężkie cierpienie doświadczane w okresie przed śmiercią. O ile to możliwe, należy ją zastąpić bardziej humanitarnymi punktami końcowymi, opierając się na objawach klinicznych, które są **oznaka nieuchronnie zbliżającej się śmierci**, co pozwoli na **uśmiercenie zwierzęcia bez jakiegokolwiek dalszego cierpienia**”

Po zakończeniu doświadczenia:

jeśli **dobrostan zwierząt nie może być przywrócony**

JAK TO ROZPOZNAĆ??

Dobrostan

Wewnętrzna harmonia organizmu w połączeniu z **harmonią ze środowiskiem** realizowana przez **zaspokajanie specyficznych gatunkowo potrzeb** organizmu zarówno fizjologicznych jak i behawioralnych

Dobrostan objawia się zachowaniem w normie wskaźników:

- fizjologicznych
- biochemicznych
- behawioralnych

Zaspokajanie potrzeb poprzez zapewnienie dostępu do:

- odpowiedniej jakości wody i paszy;
- miejsca do wypoczynku i schronienia;
- profilaktyki, diagnostyki i leczenia;
- eliminacji czynników stresowych;
- odpowiedniej przestrzeni życiowej i realizacji potrzeb.

Ból – nieprzyjemne subiektywne odczucie zmysłowo-emocjonalne wywołane przez rzeczywiste lub potencjalne uszkodzenie ciała. Towarzyszy mu behawioralna i emocjonalna odpowiedź organizmu. (związany z podrażnianiem receptorów bólowych)

Cierpienie – odczuwanie bólu zarówno fizycznego, jak i psychicznego, często długotrwałego.

Dystres – długotrwały stres wywołany czynnikami wewnętrznymi lub zewnętrznymi. Prowadzi do zaburzeń czynnościowych a nawet schorzeń somatycznych i/lub psychicznych.

BÓL, CIERPIENIE, DYSTRES ≠ DOBROSTAN

Ocena stanu zwierzęcia

- wiedza i doświadczenie związane ze **znajomością gatunku** (norm fizjologicznych, biochemicznych i behawioralnych)
- doświadczenia pilotowe (określenie objawów związanych z nieuchronnie zbliżającą się śmiercią)
- obserwacje zwierząt w trakcie doświadczenia (karty obserwacji, współpraca z opiekunami zwierząt)

Behawioralne	Fizjologiczne	Biochemiczne
Samoczyszczenie	Temperatura ciała	Kortykosterydy
Pobieranie karmy	Tętno	Katecholaminy
Aktywność ruchowa	Oddech	Tyrosyna
Agresywność	Utrata masy ciała	Prolaktyna
Mimika	Liczba komórek krwi	Beta-endorfina
Wokalizacja	Struktura komórek krwi	Kortykotropina (ACTH)
Wygląd	Wydolność układu krążenia	Glikogen
Postawa		Insulina
Reakcja na handling		Wazopresyna
		Substancja P

Dlaczego?

Powód etyczny: zwierzęta to istoty czujące, nie powinny cierpieć bardziej niż jest to konieczne/przewidziane w doświadczeniu

Powód pragmatyczny: ból, cierpienie, dystres wpływa na parametry organizmu zatem zbędny ból, cierpienie i dystres wpłyną na wyniki doświadczenia

Powód prawny:

Art.6 ustawy:

2. W przypadku gdy uniknięcie śmierci zwierząt w wyniku procedury jest niemożliwe – procedurę planuje się i wykonuje tak, aby prowadziła do śmierci jak najmniejszej liczby wykorzystywanych zwierząt i skracająca się do minimum okres oraz intensywność cierpienia tych zwierząt.

Art.11 ustawy

2. Po zakończeniu procedury lekarz weterynarii podejmuje decyzję o:

- 1) pozostawieniu wykorzystanego zwierzęcia przy życiu albo
- 2) uśmierceniu wykorzystanego zwierzęcia – w przypadku gdy istnieje uzasadnione przypuszczenie, że po zakończeniu doświadczenia u tego zwierzęcia wystąpi trwale uszkodzenie organizmu lub będzie ono odczuwać nadal dotkliwy lub umiarkowany ból, cierpienie i dystres.

Wniosek o udzielenie zgody na przeprowadzenie doświadczenia

- wskazanie planowanych metod uśmiercania zwierząt
- wskazanie, czy będzie zastosowane wczesne i humanitarne zakończenie procedury
(we wniosku opis czy i w jakich okolicznościach zostanie zastosowane wczesne i humanitarne zakończenie procedury → **zmniejszenie kategorii dotkliwości procedury**)



Kategoria dotkliwa oraz z wykorzystaniem zwierząt naczelnych – **obligatoryjna kontrola retrospektywna**

Kategorie niższe (terminalna, umiarkowana, łagodna) – **nieobligatoryjna kontrola retrospektywna** (decyzja LKE)

Uśmiercanie zwierząt wykorzystanych w procedurze

Art. 16 Ustawy z dnia 15 stycznia 2015 r.
Art. 6 Dyrektywy 2010/63/UE

W przypadku podjęcia decyzji o uśmierceniu zwierzęcia wykorzystanego **w procedurze, zwierzę uśmierca:**

- osoba posiadająca odpowiednie kwalifikacje,
- wyłącznie przy zastosowaniu metod określonych w załączniku nr IV do dyrektywy z 2010 r.

W przypadku nagłej konieczności uśmiercenia zwierzęcia ze względu na **jego dobrostan, zagrożenie dla zdrowia ludzi lub zwierząt lub dla środowiska naturalnego** nie obowiązują ograniczenia wskazane wyżej.

Zwierzę uśmierca się w sposób ograniczający do minimum ból, cierpienie lub dystres.

Przepisy te stosuje się również do uśmiercenia zwierzęcia, którego tkanki lub narządy mają być wykorzystane w celach określonych w ustawie.

Kwalifikacje do uśmiercania zwierząt

Art. 21 Ustawy z dnia 15 stycznia 2015 r.

Osoba wyznaczona do **uśmiercania zwierząt wykorzystanych w procedurze:**

- a) ma wykształcenie co najmniej **zasadnicze zawodowe** lub **średnie**,
- b) odbyła **szkolenie w zakresie metod uśmiercania zwierząt wykorzystywanych w procedurach**,
- c) odbyła **3-miesięczną praktykę w zakresie wykonywania czynności związanych z uśmiercaniem zwierząt pod nadzorem lekarza weterynarii lub osoby, która przeprowadza uśmiercanie w ośrodku użytkownika.**

METODY UŚMIERCANIA ZWIERZĄT

Załącznik nr IV do dyrektywy Parlamentu Europejskiego i Rady
2010/63/UE

1. W procesie uśmiercania zwierząt używa się **jedynie metod wymienionych w Załączniku.**

Metody inne niż wymienione mogą być używane:

- a) u **nieprzytomnych** zwierząt, pod warunkiem że przed śmiercią zwierzę nie odzyska przytomności;
- b) u **zwierząt gospodarskich**, jeśli były utrzymywane w typowych dla nich warunkach.

Art. 6 Dyrektywy

- pod warunkiem że na podstawie dowodów naukowych uznaje się, że inna metoda jest co najmniej **równie humanitarna**; lub
- jeżeli na podstawie uzasadnienia naukowego **cel procedury nie może zostać osiągnięty** przez zastosowanie jednej z metod uśmiercania wymienionych w załączniku IV.

METODY UŚMIERCANIA ZWIERZĄT

3. Tabela

W procesie uśmiercania zwierząt używa się metod wymienionych poniżej w tabeli.

Zwierzęta – uwagi/ metody	Ryby	Płazy	Gady	Ptaki	Gryzonie	Króliki	Psy, koty, fretki i lisy	Duże ssaki	Zwierzęta z rzędu ssaków naczelnych
Przedawkowanie środka znieczulają- cego	1)	1)	1)	1)	1)	1)	1)	1)	1)
Strzał zabloko- wanym bolcem	X	X	2)	X	X	X	X	X	X
Dwutlenek węgla	X	X	X	X	3)	X	X	X	X
Dyslokacja kręgów szyjnych	X	X	X	4)	5)	6)	X	X	X
Wstrząśnienie mózgu/uderzenie pałką w głowę	X	X	X	7)	8)	9)	10)	X	X
Dekapitacja	X	X	X	(11)	(12)	X	X	X	X
Oszołamianie elek- tryczne	13)	13)	X	13)	X	13)	13)	13)	X
Gazy obojętne (Ar, N ₂)	X	X	X	X	X	X	X	14)	X
Zastrzelenie wolnym pociskiem, z użyciem odpo- wiednich strzelb, pistoletów i amunicji	X	X	15)	X	X	X	16)	15)	X

METODY UŚMIERCANIA ZWIERZĄT

3. Tabela

W procesie uśmiercania zwierząt używa się metod wymienionych poniżej w tabeli.

Zwierzęta – uwagi/ metody	Ryby	Płazy	Gady	Ptaki	Gryzonie	Króliki	Psy, koty, fretki i lisy	Duże ssaki	Zwierzęta z rzędu ssaków naczelnych
Przedawkowanie środka znieczulają- cego	1)	1)	1)	1)	1)	1)	1)	1)	1)
Strzał zabloko- wanym bolcem	X	X	2)	X	X				
Dwutlenek węgla	X	X	X		3)	X			
Dyslokacja kręgów szyjnych	X	X	X	4)	5)	6)	X	X	X
Wstrząśnienie mózgu/uderzenie pałką w głowę				7)	8)	9)	10)	X	X
Dekapitacja	X	X	X	(11)	(12)	X	X	X	X
Oszołamianie elek- tryczne	13)	13)	X	13)	X	13)	13)	13)	X
Gazy obojętne (Ar, N ₂)	X	X	X			X	X	14)	X
Zastrzelenie wolnym pociskiem, z użyciem odpo- wiednich strzelb, pistoletów i amunicji	X	X	15)	X	X	X	16)	15)	X

1) Stosować, w odpowiednich przypadkach, po uprzedniej sedacji.

Najpopularniejsze środki znieczulające stosowane do eutanazji gryzoni

Iniekcyjne:

(Ketamina, Ksylazyna, Medetomidyna, Butorfanol, Pentobarbital)

Przedawkowanie środków znieczulających, przynajmniej 2-3 krotne.

Podawane dożylnie, dootrzewnowo, domięśniowo.

Metoda bezpieczna o niskim ryzyku błędu.



Wziewne:

(enfluran, izofluran)

przedawkowanie związków lotnych w mieszaninie do oddychania (izofluran – 5%)

-szybka metoda zalecana do stosowania przed innymi,

-powoduje reakcje awersyjne



METODY UŚMIERCANIA ZWIERZĄT

3. Tabela

W procesie uśmiercania zwierząt używa się metod wymienionych poniżej w tabeli.

Zwierzęta – uwagi/ metody	Ryby	Płazy	Gady	Ptaki	Gryzonie	Króliki	Psy, koty, fretki i lisy	Duże ssaki	Zwierzęta z rzędu ssaków naczelnych
Przedawkowanie środka znieczulają- cego	1)	1)	1)	1)	1)	1)	1)	1)	1)
Strzał zabloko- wanym bolcem	X	X	2)	X	X	X	X	X	X
Dwutlenek węgla	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Dyslokacja kręgów szyjnych	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Wstrząśnienie mózgu/uderzenie pałką w głowę	X	X	X	7)	8)	9)	10)	X	X
Dekapitacja	X	X	X	(11)	(12)	X	X	X	X
Oszołamianie elek- tryczne	13)	13)	X	13)	X	13)	13)	13)	X
Gazy obojętne (Ar, N ₂)	X	X	X	X	X	X	X	14)	X
Zastrzelenie wolnym pociskiem, z użyciem odpo- wiednich strzelb, pistoletów i amunicji	X	X	15)	X	X	X	16)	15)	X

2) Stosować wyłącznie w przypadku dużych gadów.

METODY UŚMIERCANIA ZWIERZĄT

3. Tabela

W procesie uśmiercania zwierząt używa się metod wymienionych poniżej w tabeli.

Zwierzęta – uwagi/ metody	Ryby	Płazy	Gady	Ptaki	Gryzonie	Króliki	Psy, koty, fretki i lisy	Duże ssaki	Zwierzęta z rzędu ssaków naczelnych
Przedawkowanie środka znieczulają- cego	1)	1)	1)	1)	1)	1)	1)	1)	1)
Strzał zabloko- wanym bolcem	X	X	2)	X	X	X	X	X	X
Dwutlenek węgla	X	X	X	X	3)	X	X	X	X
Dyslokacja kręgów szyjnych	X	X	X	4)	X	X	X	X	X
Wstrząśnienie mózgu/uderzenie pałką w głowę	X	X	X	7)	X	X	X	X	X
Dekapitacja	X	X	X	(11)	(12)	X	X	X	X
Oszołamianie elek- tryczne	13)	13)	X	13)	X	13)	13)	13)	X
Gazy obojętne (Ar, N ₂)	X	X	X	X	X	X	X	14)	X
Zastrzelenie wolnym pociskiem, z użyciem odpo- wiednich strzelb, pistoletów i amunicji	X	X	15)	X	X	X	16)	15)	X

3) Stosować wyłącznie metodą stopniowego napełniania. Nie stosować w przypadku form embrionalnych i noworodków gryzoni.

Najpopularniejsze środki znieczulające stosowane do eutanazji gryzoni

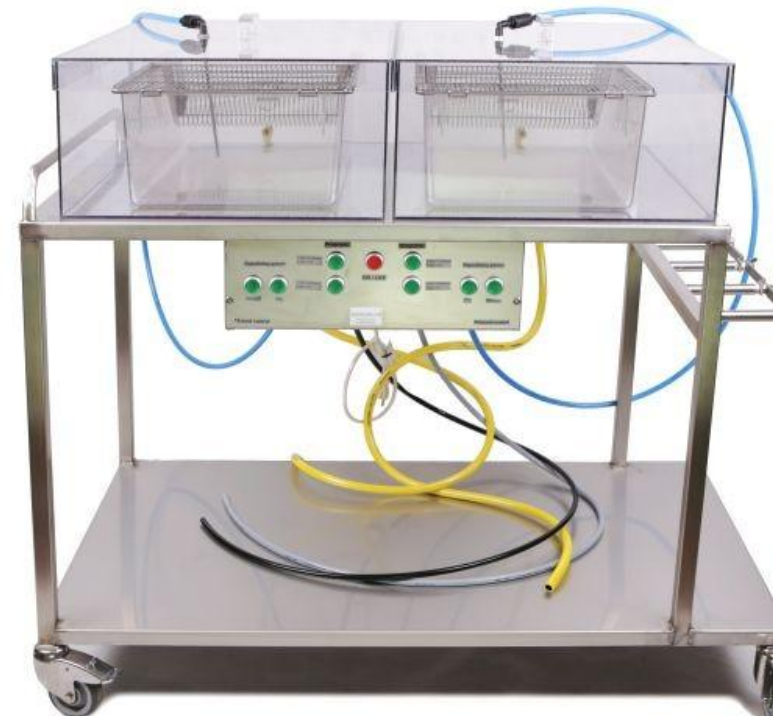
Dwutlenek węgla (CO₂)

Wyłącznie metodą **stopniowego napełniania** w urządzeniach o kontrolowanym stężeniu gazu – 60-70%
- błyskawiczna utrata świadomości (przy braku odpowiedniego stężenia – śmierć następuje przez uduszenie bez zniesienia świadomości).

Uśmiercanie w klatkach bytowych - **niski poziom stresu u uśmiercanych zwierząt.**

Nie stosować w przypadku form embrionalnych i noworodków gryzoni ze względu na ich dużą odporność na niedotlenienie!

System do eutanazji przy pomocy CO₂



METODY UŚMIERCANIA ZWIERZĄT

3. Tabela

W procesie uśmiercania zwierząt używa się metod wymienionych poniżej w tabeli.

Zwierzęta – uwagi/ metody	Ryby	Płazy	Gady	Ptaki	Gryzonie	Króliki	Psy, koty, fretki i lisy	Duże ssaki	Zwierzęta z rzędu ssaków naczelnych
Przedawkowanie środka znieczulają- cego	1)	1)	1)	1)	1)	1)	1)	1)	1)
Strzał zabloko- wanym bolcem	X	X	2)	X	X	X	X	X	X
Dwutlenek węgla	X	X	X	X	3)	X	X	X	X
Dyslokacja kręgów szyjnych	X	X	X	4)	5)	6)	X	X	X
Wstrząśnienie mózgu/uderzenie pałką w głowę	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Dekapitacja	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Oszołamianie elek- tryczne	13)	13)	X	13)	X	X	X	X	X
Gazy obojętne (Ar, N ₂)	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Zastrzelenie wolnym pociskiem, z użyciem odpo- wiednich strzelb, pistoletów i amunicji	X	X	15)	X	X	X	X	X	X

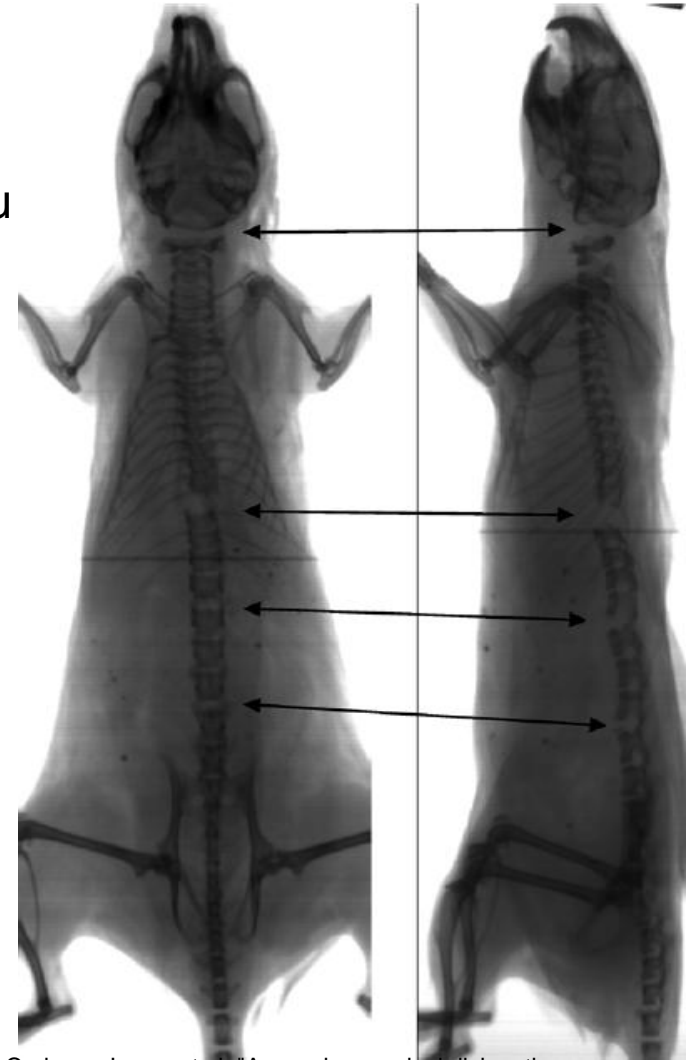
4) Stosować wyłącznie w przypadku **ptaków o masie ciała poniżej 1 kg**. Ptaki powyżej **250 g** podlegają sedacji.

5) Stosować wyłącznie w przypadku **gryzoni o masie ciała poniżej 1 kg**. Gryzonie **powyżej 150 g** podlegają sedacji.

6) Stosować wyłącznie w przypadku **królików o masie ciała poniżej 1 kg**. Króliki powyżej **150 g** podlegają sedacji.

Dyslokacja kręgów szyjnych

- Szybka śmierć na skutek uszkodzenia pnia mózgu (bez stosowania środków chemicznych)
- Spore ryzyko błędu – cierpienie zwierzęcia
- Budzi opór emocjonalny u uśmiercającego
- Najczęściej stopowana jako metoda potwierdzająca śmierć
- Bardzo dobra metoda uśmiercania w sytuacjach awaryjnych



Carbone, Larry, et al. "Assessing cervical dislocation as a humane euthanasia method in mice." *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 51.3 (2012): 352-356.

METODY UŚMIERCANIA ZWIERZĄT

3. Tabela

W procesie uśmiercania zwierząt używa się metod wymienionych poniżej w tabeli.

Zwierzęta – uwagi/ metody	Ryby	Płazy	Gady	Ptaki	Gryzonie	Króliki	Psy, koty, fretki i lisy	Duże ssaki	Zwierzęta z rzędu ssaków naczelnych
Przedawkowanie środka znieczulają- cego	1)	1)	1)	1)	1)	1)	1)	1)	1)
Strzał zabloko- wanym bolcem	X	X	2)	X	X	X	X	X	X
Dwutlenek węgla	X	X	X	X	3)	X	X	X	X
Dyslokacja kręgów szyjnych	X	X	X	4)	5)	6)	X	X	X
Wstrząśnienie mózgu/uderzenie pałką w głowę	X	X	X	7)	8)	9)	10)	X	X
Dekapitacja	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Oszołamianie elek- tryczne	13)	13)	X	13)	X	13)	13)	13)	X
Gazy obojętne (Ar, N ₂)	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Zastrzelenie wolnym pociskiem, z użyciem odpo- wiednich strzelb, pistoletów i amunicji	X	X	15)	X	X	X	X	X	X

7) Stosować wyłącznie w przypadku
ptaków o masie ciała **poniżej 5 kg.**

8) Stosować wyłącznie w przypadku
gryzoni o masie ciała **poniżej 1 kg.**

9) Stosować wyłącznie w przypadku
królików o masie ciała **poniżej 5 kg.**

10) Stosować **wyłącznie u nowo
narodzonych** zwierząt.

METODY UŚMIERCANIA ZWIERZĄT

3. Tabela

W procesie uśmiercania zwierząt używa się metod wymienionych poniżej w tabeli.

Zwierzęta – uwagi/ metody	Ryby	Płazy	Gady	Ptaki	Gryzonie	Króliki	Psy, koty, fretki i lisy	Duże ssaki	Zwierzęta z rzędu ssaków naczelnych
Przedawkowanie środka znieczulają- cego	1)	1)	1)	1)	1)	1)	1)	1)	1)
Strzał zabloko- wanym bolcem	X	X	2)	X	X	X	X	X	X
Dwutlenek węgla	X	X	X	X	3)	X	X	X	X
Dyslokacja kręgów szyjnych	X	X	X	4)	5)	6)	X	X	X
Wstrząśnienie mózgu/uderzenie pałka w głowę	X	X	X	7)	8)	9)	10)	X	X
Dekapitacja	X	X	X	(11)	(12)	X	X	X	X
Oszołamianie elek- tryczne	13)	13)	X	X	X	X	X	X	X
Gazy obojętne (Ar, N ₂)	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Zastrzelenie wolnym pociskiem, z użyciem odpo- wiednich strzelb, pistoletów i amunicji	X	X	15)	X	X	X	X	X	X

11) Stosować wyłącznie w przypadku **ptaków o masie ciała poniżej 250 g.**

12) Stosować wyłącznie, **gdy inne metody nie są możliwe.**

Dekapitacja

- Szybka metoda uśmiercania
- Brak chemicznej kontaminacji tkanek
- Wykonana prawidłowo nie wywołuje stresu u uśmiercanego zwierzęcia (??)



METODY UŚMIERCANIA ZWIERZĄT

3. Tabela

W procesie uśmiercania zwierząt używa się metod wymienionych poniżej w tabeli.

Zwierzęta – uwagi/ metody	Ryby	Płazy	Gady	Ptaki	Gryzonie	Króliki	Psy, koty, fretki i lisy	Duże ssaki	Zwierzęta z rzędu ssaków naczelnych
Przedawkowanie środka znieczulają- cego	1)	1)	1)	1)	1)	1)	1)	1)	1)
Strzał zabloko- wanym bolcem	X	X	2)	X	X	X	X	X	X
Dwutlenek węgla	X	X	X	X	3)	X	X	X	X
Dyslokacja kręgów szyjnych	X	X	X	4)	5)	6)	X	X	X
Wstrząśnienie mózgu/uderzenie pałką w głowę	X	X	X	7)	8)	9)	10)	X	X
Dekapitacja	X	X	X	(11)	(12)	X	X	X	X
Oszołamianie elek- tryczne	13)	13)	X	13)	X	13)	13)	13)	X
Gazy obojętne (Ar, N ₂)	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Zastrzelenie wolnym pociskiem, z użyciem odpo- wiednich strzelb, pistoletów i amunicji	X	X	15)	X	X	X	16)	15)	X

13) Konieczny jest **specjalistyczny sprzęt**

METODY UŚMIERCANIA ZWIERZĄT

3. Tabela

W procesie uśmiercania zwierząt używa się metod wymienionych poniżej w tabeli.

Zwierzęta – uwagi/ metody	Ryby	Płazy	Gady	Ptaki	Gryzonie	Króliki	Psy, koty, fretki i lisy	Duże ssaki	Zwierzęta z rzędu ssaków naczelnych
Przedawkowanie środka znieczulają- cego	1)	1)	1)	1)	1)	1)	1)	1)	1)
Strzał zabloko- wanym bolcem	X	X	2)	X	X	X	X	X	X
Dwutlenek węgla	X	X	X	X	3)	X	X	X	X
Dyslokacja kręgów szyjnych	X	X	X	4)	5)	6)	X	X	X
Wstrząśnienie mózgu/uderzenie pałką w głowę	X	X	X	7)	8)	9)	10)	X	X
Dekapitacja	X	X	X	(11)	(12)	X	X	X	X
Oszołamianie elek- tryczne	13)	13)	X	13)	X	13)	13)	13)	X
Gazy obojętne (Ar, N ₂)	X	X	X	X	X	X	X	14)	X
Zastrzelenie wolnym pociskiem, z użyciem odpo- wiednich strzelb, pistoletów i amunicji	X	X	15)	X	X	X	16)	X	X

14) Stosować wyłącznie u świń.

METODY UŚMIERCANIA ZWIERZĄT

3. Tabela

W procesie uśmiercania zwierząt używa się metod wymienionych poniżej w tabeli.

Zwierzęta – uwagi/ metody	Ryby	Płazy	Gady	Ptaki	Gryzonie	Króliki	Psy, koty, fretki i lisy	Duże ssaki	Zwierzęta z rzędu ssaków naczelnych
Przedawkowanie środka znieczulają- cego	1)	1)	1)	1)	1)	1)	1)	1)	1)
Strzał zabloko- wanym bolcem	X	X	2)	X	X	X	X	X	X
Dwutlenek węgla	X	X	X	X	3)	X	X	X	X
Dyslokacja kręgów szyjnych	X	X	X	4)	5)	6)	X	X	X
Wstrząśnienie mózgu/uderzenie pałką w głowę	X	X	X	7)	8)	9)	10)	X	X
Dekapitacja	X	X	X	(11)	(12)	X	X	X	X
Oszołamianie elek- tryczne	13)	13)	X	13)	X	13)	13)	13)	X
Gazy obojętne (Ar, N ₂)	X	X	X	X	X	X	X	14)	X
Zastrzelenie wolnym pociskiem, z użyciem odpo- wiednich strzelb, pistoletów i amunicji	X	X	15)	X	X	X	16)	15)	X

15) Metoda **stosowana wyłącznie w terenie** przez **doświadczonego strzelca**.

16) Metoda stosowana wyłącznie przez **doświadczonych strzelców w terenie**, gdy inne metody nie są możliwe.

Uśmiercanie noworodków

Mysz, szczur, chomik do 10 d.ż.:

- Dojrzewanie nocycceptorów, rozwój systemów pobudzenia i hamowania – od okresu tuż przed urodzeniem do 2-go tygodnia życia;
- **Odporne na niedotlenienie** – wydłużenie czasu ekspozycji na CO₂ do utraty świadomości (czas zależny od wieku oraz wrażliwości szczepu) – do 7 d.ż.

Wymagany czas do 50 min.;

- W przypadku eutanazji metodą z CO₂ konieczne potwierdzenie śmierci przed zamrożeniem zwłok – min 3 min bez czynności życiowych.;
- Chemiczne iniekcyjne środki do eutanazji;
- Dekapitacja;
- Dyslokacja kręgów szyjnych;
- Zamrożenie w ciekłym azocie lub perfuzja środkami utrwalającymi – tylko po uprzednim znieczuleniu;
- Znieczulenie noworodków – wziewne lub iniekcyjne – wydłużony czas reakcji na anestetyki wziewne, do 6 d.ż. także hipotermia;

Noworodki świnek morskich – jak dorosłe.

Mysz, szczur, chomik pow. 10 d.ż. – jak dorosłe.

Uśmiercanie płodów

- Eutanazja płodów American College of Laboratory Animal Medicine (ACLAM).
- 3 trymestr ciąży – cewka nerwowa -> mózg.
- Wątpliwości dotyczące możliwości odczuwania bólu – odruchy nocycytywne zbliżone do osobników dorosłych.

Mysz, szczur, chomik – do 15 d.c. (świnka morska do 35 d.c.):

- Minimalny rozwój układu nerwowego – prawdopodobny brak odczuwania bólu.
- Szybka eutanazja matki i ewakuacja płodów – śmierć w wyniku braku zaopatrzenia w krew i braku możliwości przeżycia poza organizmem samicy.

Mysz, szczur, chomik – po 15 d.c. (świnka po 35 d.c.) – do porodu:

- Rozwój neuronalny prawdopodobnie umożliwia odczuwanie bólu – odpowiedź behawioralna na stymulację in vivo.
- Eutanazja chemiczna (inj.);
- Dekapitacja;
- Dyslokacja kręgów szyjnych;
- Zamrożenie w ciekłym azocie uznane jest za niehumanitarne;

W przypadku perfuzji/wykorzystania całego płodu – wskazana uprzednia anestezja – środki iniekcyjne lub hipotermia (umieszczenie w płynie fizjologicznym 4-8 st. C do pełnej immobilizacji).

Płody gryzoni są odporne na hipoksję! Wymagają długiej ekspozycji na gazy anestetyczne oraz CO₂ (szczurze płody w okresie okołourodzeniowym wciąż wykonują ruchy oddechowe po 40 min od zaciśnięcia pępowiny).

W przypadku eutanazji samicy ciężarnej (bez wykorzystania płodów) – metoda prowadząca do niedotlenienia mózgu, najlepiej bez ingerencji w środowisko macicy (wskazane CO₂, następnie dyslokacja kręgów szyjnych).

W przypadku eutanazji samicy z wykorzystaniem płodów – ewakuacja całej ciężarnej macicy – dekapitacja w przypadku obserwacji ruchów oddechowych.

Potwierdzenie zgonu

Załącznik nr IV do dyrektywy 2010/63/UE

Zaobserwowanie oznak:

- trwałego zaniku krążenia (brak akcji serca), brak samoistnego oddychania;
- brak reakcji na bodźce - utrata wszelkich odruchów (czucie głębokie sprawdzamy narzędziem);
- spadek temperatury ciała poniżej 25°C i/lub pojawienie się stężenia pośmiertnego;
- zniszczenie mózgu;
- zniszczenie pnia mózgu (dyslokacja kręgów szyjnych)

Zastosowanie drugiej metody uśmiercania:

- zniszczenie mózgu;
- dyslokacja kręgów szyjnych;
- wykrwawienie
- dekapitacja

Wybór metody uśmiercania

Zastosowanie metody, która:

- minimalizuje ból;
- powoduje jak najszybszą utratę świadomości;
- minimalizuje stres poprzez skrócenie procedury;
- jest odpowiednia do gatunku i wieku;
- jest skuteczna, nieodwracalna, powtarzalna;
- jest bezpieczna dla operatora;
- jest etyczna.

Wpływ metody eutanazji na parametry naukowe

Proces uśmiercenia powoduje zmiany w parametrach fizjologicznych i biochemicznych organizmu. Eutanazja jako czynnik zmieniający wyniki badań powinien być rozpatrywany indywidualnie.

Table 1. Biologic effects of decapitation^{3,5,16,49,56,60,66}

Effect	Mechanism
Increase in plasma sodium	
Increase in plasma potassium	
Increase in GABA concentrations (brain)	
Increase in Alanine (brain)	
Increase in plasma ascorbic acid (30-40% > resting state)	Hemolysis
Increase in blood catecholamine levels	Continued postmortem neurochemical alterations
Increased plasma calcium, magnesium	
No change in vasoactive intestinal peptides (brain)	
No change in neuropeptide Y (brain)	
Alteration in rat heart mitochondria function	
Increase in serum corticosterone	Stress stimulus → mobilization from tissues to blood; generalized metabolic response secondary to sympathoadrenal response some handling related stimulation.
	Possible handling stress

Table 3. Effects on reproductive hormones: The following combinations may be unsuitable for studies of serum androgens

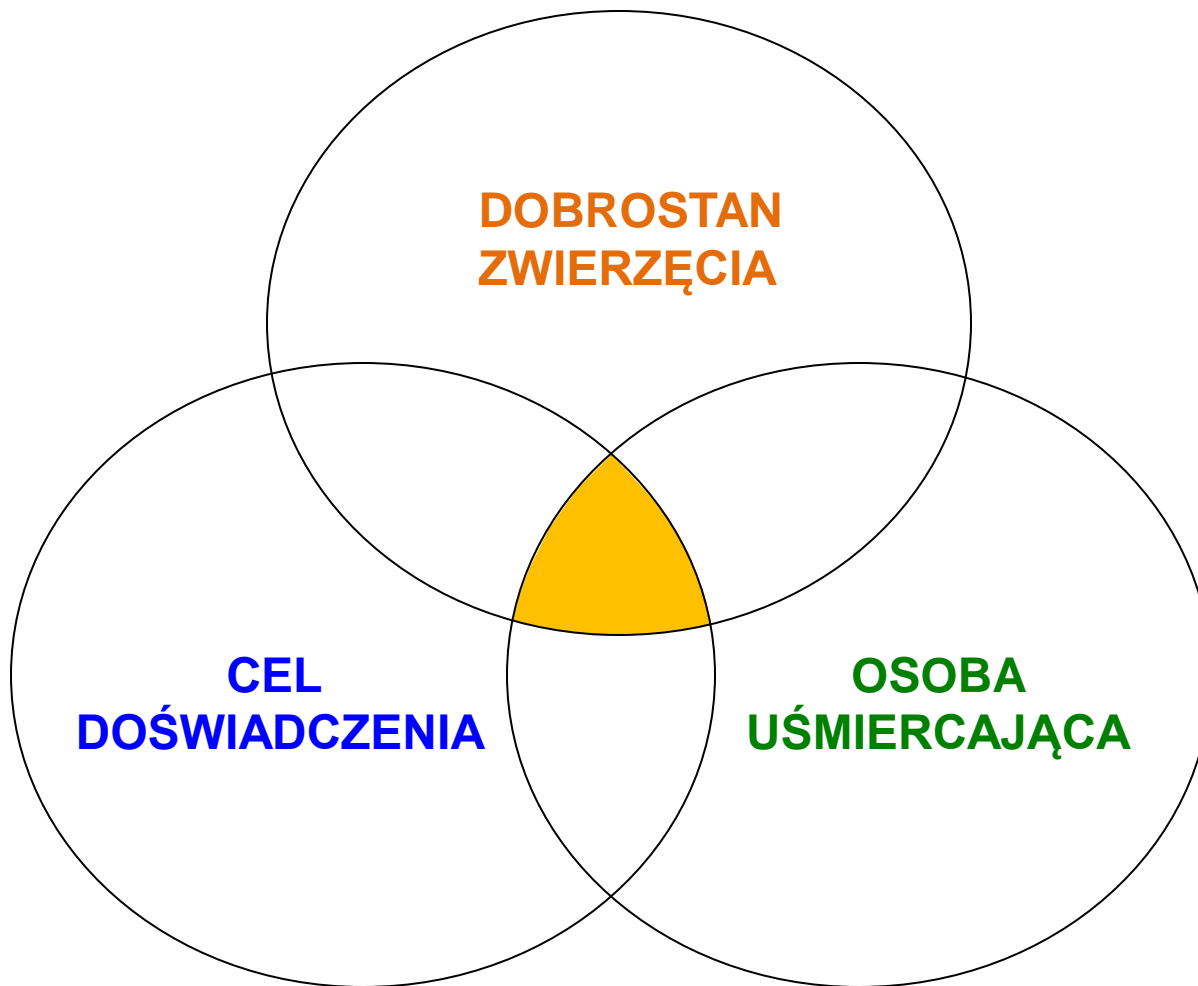
Decapitation in combination with agents listed below ^{49, 71}	Male rats								Mechanism: direct effect on testes	
	Immature				Mature				Circulating Androstenedione	
	LH	FSH	Prolactin	Testosterone	LH	FSH	Prolactin	Testosterone	Castrated	Intact
Xylazine	-	-		↓	-	-	↑	↓		↓ or -
Biotin	-	-			-	-		↓		↓ or -
Thiopental	-	-			-	-		↓		↓ or -
Pentobarbital	-	-		↓	-	-	↑	↓		↓ or -
Ketamine	↓	↓		↓	-	-		↓	↑	↓ or -
Halothane	↓	↓		↓	-	-		↓		↓ or -
Ether (tested on castrated rats)	↑	↑	↑	↓	-	-		↓		↓ or -

↓ = decreased ↑ = increased - = no change.

Artwohl, James, et al. "Report of the ACLAM task force on rodent euthanasia." *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 45.1 (2006): 98-105.

Wybierając metodę eutanazji należy **wziąć pod uwagę cel** doświadczenia, do którego użyto zwierząt aby **uzyskać miarodajne wyniki przy minimalnym wpływie na dobrostan zwierząt.**

Czynniki istotne przy wyborze metody uśmiercania w doświadczeniu



Literatura

- Dyrektywy Parlamentu Europejskiego i Rady 2010/63/UE
- Ustawa z 15 stycznia 2015 r. o ochronie zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych lub edukacyjnych (Dz.U. poz. 266)
- Bryony, C., K. Banister, V. Baumans, E.V. Bernoth, N. Bromage, J. Bunyan, W. Erhardt, P. Flecknell, N. Gregory, H. Hackbarth, D. Morton, and C. Warwick, **Zalecenia dotyczące eutanazji zwierząt doświadczalnych.** *Laboratory Animals*, 1996.30: p. 293-316.
- Leary, Steven, et al. "**AVMA guidelines for the euthanasia of animals: 2013 edition.**" (2013).
- <https://www.humane-endpoints.info/en>
- Artwohl, James, et al. "Report of the ACLAM task force on rodent euthanasia." *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 45.1 (2006): 98-105.
- Overmyer, Katherine A., et al. "Impact of anesthesia and euthanasia on metabolomics of mammalian tissues: studies in a C57BL/6J mouse model." *PloS one* 10.2 (2015): e0117232.