Povjerenstvo za dobrobit životinja
Sveučilište u Rijeci • Medicinski fakultet
Braće Branchetta 20 | HR - 51000 Rijeka
www.medri.uniri.hr

Najčešći komentari nacionalnog etičkog povjerenstva za dobrobit životinja: kako ih izbjeći u prijavi projekta

Edukativni materijal za istraživače, izrađen prema strukturi Obrasca D11 (Zahtjev za odobrenje projekta) i na temelju stvarnih komentara povjerenstva na prijave.

Čemu služi ovaj dokument

Povjerenstvo svoje primjedbe najčešće vezuje uz poglavlja Obrasca D11. Većina komentara ne odnosi se na znanstvenu ideju, nego na nedosljednosti, nejasnoće i nedostatke u opisu koji se mogu ispraviti prije predaje. Dokument je podijeljen po poglavljima obrasca, a na kraju je kontrolni popis za samoprovjeru. Cilj je smanjiti broj krugova revizije i ubrzati odobrenje.

Svi primjeri preuzeti su iz stvarnih komentara, ali su preformulirani opće, bez navođenja konkretnih projekata.

U nastavku slijedi razrada tema koje povjerenstvo najčešće komentira, složena prema poglavljima Obrasca D11

1. Podaci o projektu

Datumi i trajanje

- Trajanje projekta računa se od trenutka dobivanja rješenja nadležnog tijela, a ne od datuma koji ste sami unaprijed odredili. Provjerite da razdoblje odgovara planiranom trajanju (npr. 60 mjeseci).
- Početak *in vivo* istraživanja treba definirati kao „od dobivanja etičke dopusnice“, a ne fiksnim datumom koji je u trenutku odobrenja možda već prošao.
- U netehničkom sažetku (NTS) nemojte upisivati datume početka i završetka pokusa jer te podatke ispunjava nadležno ministarstvo.

Uvodni opis modela

- Uvod treba sadržavati biološku podlogu modela, npr. kako se infekcija prirodno prenosi i koji dio tog procesa model simulira. Povjerenstvo to traži kako bi moglo procijeniti odgovara li model znanstvenom pitanju.
- Ako se mladunci odvajaju od majki, opišite što se događa s majkama nakon odvajanja.

Životinje, dobavljač i sojevi

- **Podrijetlo životinja:** navedite jasno koriste li se životinje kupljene izravno od vanjskog dobavljača ili životinje uzgojene u vlastitoj uzgajalištu iz kupljenih osnivača. Najčešća nedosljednost je da se u tablici navodi uzgajalište ustanove, a u opisu sojeva vanjski dobavljač ili istraživačka skupina.
- **Podsojevi:** za uobičajene sojeve (npr. C57BL/6, BALB/c) navedite točan podsoj (npr. N ili J), jer se podsojevi razlikuju genetski i fenotipski.
- **Genetski modificirane životinje:** opišite postupak genotipizacije (kontrola kvalitete) i na potomcima i na roditeljima te navedite metodu.
- **Spol:** ako se koriste samo mužjaci (ili samo jedan spol), to treba znanstveno obrazložiti. Povjerenstvo upućuje na smjernice PREPARE i ARRIVE: podatci dobiveni na jednom spolu ne mogu se bez dodatnog obrazloženja prenijeti na cijelu humanu populaciju. Ako se u ovom

projektu koristi jedan spol, navedite da će se buduća ekvivalentna istraživanja provesti na oba spola.

Broj životinja

- Ukupan broj životinja mora biti **identičan** u glavnom obrascu, tablicama po specifičnim ciljevima i NTS-u.
- Zbrojite životinje po sojevima i usporedite s navedenim ukupnim brojem. Čest je slučaj da zbroj u tablici ne odgovara broju u tekstu.

2. Opis i tijek pokusa (točka 3.2)

Struktura opisa

- U projektima s više specifičnih ciljeva (SC) **u potpunosti opišite jedan cilj i podcilj prije prelaska na sljedeći.** Ne miješajte sojeve za SC-1a i SC-1b u jednoj tablici učinaka, jer je tada nemoguće pratiti koje se životinje kada koriste.
- U svakoj tablici učinaka mora biti navedeno koji se soj koristi, njihov broj i spol. Provjerite jesu li svi sojevi navedeni u opisu cilja prisutni i u tablici učinaka (i obrnuto) te jesu li ukupni brojevi usklađeni.
- **Terminalne procedure** (usmrćivanje, uzorkovanje) treba opisati kao zasebnu završnu stavku u opisu pokusa i u tablici učinaka za svaki cilj, jednako kao i ostale postupke.
- Koristite dosljednu terminologiju. Primjerice, „imunizirani“ miševi su cijepljeni, a „inficirani“ su oni izloženi patogenu. Ne koristite te izraze naizmjenično.

Tablice učinaka na životinje

- Za **svaku tvar** koja se primjenjuje (lijek, agonist, inhibitor, vektor) navedite moguće negativne učinke. Povjerenstvo često vraća prijave jer u tablici nedostaje opis nuspojava za pojedinu tvar.
- Opišite **mjesto i način primjene** u svim poglavljima (npr. i.v. lateralna repna vena; intranazalno naspram intramuskularno; intragastrična sonda, a ne „na usta“). Isti način mora biti naveden u glavnom obrascu i NTS-u.
- Obavezno navedite **volumene injekcija** za svaku primjenu i uskladite ih s vrstom, sojem, dobi i načinom primjene (npr. i.v., i.p., s.c., intranazalno). Volumen koji je prihvatljiv za odraslog miša nije primjeren za mladunče ili manji soj. Provjerite da volumen ne prelazi preporučene vrijednosti za put primjene i tjelesnu masu životinje te da odgovara koncentraciji tvari. Isti volumeni moraju biti navedeni u svim tablicama i u NTS-u.
- Navedite i predvidite sve moguće **rizike** kod različitih načina primjene. Primjerice, za primjenu sondom navedite rizik (npr. intrapulmonalna aplikacija) i što ćete učiniti u tom slučaju. Kod intraperitonealne primjene treba se paziti da se iglom ne probiju unutarnji organi te navesti kojim se postupkom to može spriječiti (npr. aspiracija prije injiciranja).
- Za **intravensku primjenu** poboljšajte postupak zagrijavanjem životinja (npr. grijaći kabinet, oko 38 °C, 10 min), što širi žile i povećava uspješnost i preciznost postupka.
- Za **višestruke injekcije** (osobito intraperitonealne) vodite evidenciju lokacije svake primjene (lijevo/desno od *linea albae*) i mijenjajte iglu pri svakoj novoj primjeni.
- Za **intraorganske injekcije** (npr. slezena) navedite broj injekcija, područja, način definiranja i nadzora područja te trenutak primjene. Povjerenstvo posebno upozorava na povećan rizik rupture kod većeg broja injekcija i kod organa koji su zbog upale povećani.
- Za kontrolne skupine jasno navedite što primaju (npr. PBS) i **kojim putem**.

Rad s mladunčadi

Za pokuse na novorođenim ili vrlo mladim životinjama u stupcu o smanjenju patnje navedite konkretne mjere, na primjer:

- ograničeno vrijeme odvojenosti mladunaca od majke (npr. kraće od 10 minuta) radi smanjenja rizika odbacivanja i kanibalizma,
- zamjena rukavica nakon rukovanja jednim leglom radi sprječavanja prijenosa mirisa i patogena među leglima,
- oprezno rukovanje iglom pri intraperitonealnoj primjeni zbog sićušnih i zbijenih abdominalnih organa, uz obaveznu aspiraciju prije primjene sadržaja injekcije.

Znanstvena logika dizajna

- **Povezanost pokusa s istraživačkim pitanjem.** Ako se u projektu mijenja mehanizam ili supstanca (npr. drugi agonist istog receptora ili druga metoda izazivanja stresa), obrazložite razliku u odnosu na prethodne pokuse i razlog promjene. Povjerenstvo će pitati zašto je potreban novi pokus kad je dizajn gotovo identičan.
- **Primjerenost metode cilju.** Provjerite uzrokuje li metoda uzorkovanja ili izazivanja stresa vlastiti učinak koji ometa mjereni parametar (npr. mjerenje kateholamina nakon stresnog uzorkovanja). Razmotrite blaže metode ili obrazložite zašto nisu primjerene.
- **Usklađenost mehanizma s ciljem.** Ako ciljate određeni receptorski put, provjerite aktivira li odabrana metoda upravo taj put ili neki drugi, i obrazložite.
- **Ponavljanje pokusa.** Pokusi koji se razlikuju samo po vrsti prikupljenog uzorka (serum, pluća, oboje) ili jednoj vremenskoj točki djeluju kao duplikati. Ako je razlog nedovoljna količina uzorka, to izričito napišite. Ako je dizajn isti, napišite da je isti kao prethodni i zašto se ponavlja.

Nadzor životinja

- Učestalost kontrola mora biti **ista na svim mjestima u prijavi** (opis, tablica, HEP).
- U kasnijim fazama dugotrajnijih stresnih postupaka (npr. gladovanje, hladni izazov) nadzor treba biti češći, npr. svakih 30 minuta.
- Navedite kako ćete smanjiti stres (grupni smještaj, stelja, obogaćenje okoliša).

3. Usmrćivanje (točka 3.2.5.1)

- Kod eutanazije CO_2 opišite postupak: postupno povećanje, kojim protokom ili koncentracijom, konačnu koncentraciju i trajanje izlaganja.
- U NTS-u pod „razlozima za planiranu sudbinu životinja“ nemojte upisati „N/P“. Navedite da će životinje biti eutanazirane radi prikupljanja organa za analizu.

4. Načelo 3R (poglavlje 4)

Smanjenje

- **Kontrolne skupine.** Ako više tretmana ima zasebne kontrole, broj životinja se višestruko povećava. Koristite zajedničke kontrolne skupine za sve tretmane ili znanstveno obrazložite zašto to nije moguće. Ako smanjite broj, uskladite ga i u NTS-u.
- Navedite kako je izračunat broj životinja (statistička snaga, pilot-pokusi, ponovno korištenje tkiva).

Poboljšanje

- U odjeljku o analgeziji navedite i **trajanje analgezije**, ne samo lijek i dozu.
- U točki 4.3.4 navedite **pribor i opremu** koji će se koristiti dok su životinje žive. To uključuje i držače za životinje, te šprice i igle za koje je obavezno navesti promjere (Gauge).
- U prijavi se ne navode uređaji koji se koriste za *post mortem* analize uzoraka žrtvovanih životinja.

5. Humane krajnje točke (HEP) i težina postupka

- Tablica za praćenje i bodovanje mora biti u skladu s deklariranom težinom. Ako se očekuju blagi simptomi, granična vrijednost HEP-a od 6 bodova nije primjerena i treba je sniziti na 4 ili 5.
- **Gubitak tjelesne mase** od 25 do 30 % ne prihvaća se kao dopuštena granica. Provjerite da su granice HEP-a realne s obzirom na predviđeni postupak.
- Pri **kombinaciji postupaka** (npr. gladovanje i hladni izazov) zbrojite trajanje: 24 sata gladovanja prije hladnog izazova u praksi znači znatno dulje gladovanje nego što se čini u opisu.
- Dokumentirajte **omjer koristi i štete**. Povjerenstvo može zatražiti temeljitu prilagodbu metodologije i reviziju prijave ako je težina postupka previsoka u odnosu na očekivanu korist.

6. Netehnički sažetak (NTS)

- Pišite na odgovarajućem obrascu iz sustava DECLARE-ALURES.
- Sažetak mora biti **kratak (najviše dvije stranice)** i napisan **jezikom razumljivim široj javnosti**. Izbjegavajte kratice i stručne nazive sojeva, virusa i genetskih konstrukata, odnosno objasnite ih jednostavnim riječima.
- Provjerite da su brojevi životinja, način primjene, vrsta postupaka i težina isti kao u glavnom obrascu (D11).
- Ne upisujte datume početka i završetka pokusa.

Kontrolni popis prije predaje

- ☐ Ukupan broj životinja isti je u D11, tablicama po ciljevima i NTS-u.
- ☐ Svaka tablica učinaka navodi soj, spol, starost i broj životinja, a zbrojevi se podudaraju.
- ☐ Podrijetlo životinja (dobavljač ili vlastiti uzgoj) navedeno je dosljedno; podsojevi su definirani.
- ☐ Za GM životinje opisana je genotipizacija; obrazložen je odabir spola.
- ☐ Za svaku tvar navedeni su mogući negativni učinci, put primjene i mjesto primjene.
- ☐ Terminalni postupci opisani su zasebno; način usmrćivanja je detaljno naveden.
- ☐ Učestalost nadzora je jednaka na svim mjestima; postoji plan smanjenja stresa.
- ☐ HEP bodovi i granice gubitka mase odgovaraju deklariranoj težini.
- ☐ Ponavljanje pokusa i višestruke kontrolne skupine obrazloženi su ili uklonjeni.
- ☐ Navedeno je trajanje analgezije i pribor koji se koristi na živim životinjama.
- ☐ NTS je kratak, jednostavan, bez datuma, bez stručnih izraza i usklađen s D11.

Napomena

Dokument je pripremljen na temelju uzorka komentara i ne zamjenjuje službene upute ministarstva ni zakonske propise (Zakon o zaštiti životinja i Pravilnik o zaštiti životinja koje se koriste u znanstvene svrhe). U slučaju dvojbe obratite se predsjedniku ili tajniku institucijskog Povjerenstva za dobrobit životinja.