**UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES**

**Facultad de Ciencias Exactas y Naturales**

**Comisión Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL)**

**PROTOCOLO EXPERIMENTAL PARA TRABAJOS CON ANIMALES[[1]](#footnote-2)**

**PROTOCOLO Nº000/20\_ \_ *(a completar por CICUAL)***

**Nota para el Investigador:** A fin de facilitar la pronta evaluación de este protocolo, solicitamos leer atentamente cada ítem del presente formulario.

**Título del proyecto:**

**Datos del investigador responsable:(IR)**

* Nombre y Apellido:
* Profesión y máximo título académico alcanzado:
* *¿*Realizó curso obligatorio sobre animales de laboratorio FCEyN, UBA (Resolución del CD 3141) SI NO Fecha:
* Empresa/ Instituto / Universidad / Departamento o Cátedra:
* Teléfono/ Fax:
* Teléfono auxiliar:
* Correo electrónico:

**Datos de todas las personas que realizarán procedimientos que involucren animales en la ejecución de este protocolo** (Como orientación ver en anexo IV de este formulario la definición de procedimientos según la legislación del Reino Unido):

* Nombre y Apellido:
* Profesión y máximo título académico alcanzado:
* ¿Realizó curso obligatorio sobre animales de laboratorio FCEyN, UBA (Resolución del CD 3141)? SI NO Fecha:
* Tarea a realizar durante el protocolo (roles y responsabilidades)
* Capacitación, entrenamiento y experiencia específica en los procedimientos a realizar (certificados y/o registrados)
* Teléfono / Fax:
* Teléfono auxiliar
* Correo electrónico:

**Definiciones:**

Aplicable a siglas, abreviaturas, marcas, palabras de significado dudoso o infrecuentes, etc. En caso de que no sea necesario se colocará “**no aplicable**”.

1. **Objetivo y racionalidad del Proyecto o el valor docente previsto:**

Explique sucintamente el objetivo del estudio y porque es importante para la salud humana o animal, el avance del conocimiento científico o el bien de la sociedad. Utilice un lenguaje simple para comprensión de las personas que no sean de su especialidad**.** El texto debe ser suficientemente explícito para no tener que recurrir a la lectura del Proyecto completo o resumido que podrían ser solicitados por la CICUAL.

1. **Declaración de que el estudio propuesto no es una duplicación innecesaria de otros estudios ya realizados**
2. **Completar los siguientes ítems en caso de que correspondiera:**

Para cada experimento **(Asignar a cada experimento un número y título)**, indique las características del modelo animal que hacen a la especie / cepa, etc., apropiada para el estudio (la especie seleccionada debe ser la de menor posición posible en la escala filogenética).

* Género/ Especie / Cepa / Subcepa / Colonia/Construcción (transgénesis) o Raza seleccionada: *Utilizar nombre internacional registrado e informar catálogo o base de datos utilizados.*
* Proveedores de los animales (indicar si está registrado en algún catálogo internacional):
* Número de animales por experimento:
* Sexo:
* Edad al inicio del experimento (rango):
* Peso (rango):
* Local donde se alojarán los animales:
* Local donde se realizarán los procedimientos:
* Método de transporte entre edificios o locales:
* Indicar condición microbiológica (contaminación con virus, bacterias, hongos y parásitos). Realice una evaluación de los posibles efectos sobre la investigación. *Se recomienda buscar base de datos como, por ejemplo: Charles River Laboratories-Customer Support-Infectious Agents Information.*

1. **Alojamiento de los animales:**

Para cada experimento **(referirse a cada experimento con su número y título asignado en el apartado C)** detalle elalojamiento de los animales. *Si los estudios se realizan en las condiciones estándar del Bioterio Central FCEyN, UBA, consultar página Web CICUAL (FCEyN, UBA).*

* Individuos alojados por jaula:
* Tipo de jaula:
* Sala de alojamiento:
* Condiciones de Alojamiento:
* Tipo de dieta:
* Tipo de agua de bebida:
* Tipo de cama o lecho:
* Ventilación:
* Temperatura:
* Humedad:
* Iluminación:
* Rutina de limpieza:
* Aclaraciones:

**NOTA**: En caso de que el IR críe y mantenga sus propios animales, especifique brevemente el procedimiento.

1. **Procedimientos:**

Para cada experimento **(referirse a cada experimento con su número y título asignado en el apartado C)** realice una descripción detallada, clara, concisa y secuencial de los procedimientos experimentales a los que serán sometidos los animales. Esta descripción debe permitir que los miembros de la CICUAL entiendan los procedimientos que se realizarán en un animal desde su entrada en el experimento hasta el punto final planeado para el estudio, Puede acompañarse por un diagrama de flujo. El texto debe ser suficientemente explícito para no tener que recurrir a la lectura del Proyecto completo o resumido que podrían ser solicitados por la CICUAL.

1. **Métodos de identificación de los animales** (ej., tatuaje):
2. **Métodos de restricción** (ej., cepos) (describa la restricción aplicada para procedimientos de rutina como por ej. toma de muestras de sangre. Si la restricción de movimiento es prolongada debe justificarse y proveerse vigilancia para asegurar ausencia de daño o diestrés y describir cualquier sedación, aclimatación o entrenamiento a ser usado).
3. **Inyecciones o inoculaciones experimentales** (ej., agentes infecciosos, sustancias, adyuvantes, etc.). Indique dosis, sitios, vías, volúmenes y *horarios.*
4. **Toma de muestras de sangre** (Volumen, frecuencia, horarios, sitio y metodología)
5. **Radiación** (Dosis y horarios)
6. **Restricción de comida y fluidos.** Si se realizará describa el método para comprobar la salud y bienestar de los animales. Si se aparta de las recomendaciones internacionales provea una justificación científica.
7. **Grado farmacéutico o no farmacéutico de los compuestos usados**. Identifique cada droga, producto biológico o reactivo que será administrado a los animales. Si no son de grado farmacéutico humano o veterinario provea una justificación para su uso y describa los métodos que usará para asegurar la preparación y administración adecuada.
8. **Otros procedimientos** (ej., biopsias de cola)
9. **Efectos esperados**. Si corresponde, qué se espera que experimenten los animales (ej., dolor o diestrés, producción de ascitis, etc.)
10. **Otros factores estresantes (ej., estrés ambiental) y los procedimientos para monitorearlos y minimizar el diestrés.**

**Criterios de punto final experimental.** Se define como el punto final experimental del estudio el que ocurre cuando los objetivos científicos han sido alcanzados. Este punto final es diferente del Punto final Humanitario que se solicita en otro ítem más adelante. Sin embargo, pueden estar muy ligados en muchos experimentos invasivos como, por ejemplo: modelos de tumores, enfermedades infecciosas, desafíos en ensayos de vacunas, modelos de trauma, producción de anticuerpos monoclonales, evaluación de efectos tóxicológicos, fallas orgánicas o de sistemas y modelos de shock cardiovascular.

1. **Listar los criterios que serán usados** (signos y frecuencia de las observaciones) para determinar cuándo se separará al animal del estudio para proporcionar una terapia adecuada o practicar eutanasia.
2. **Cuidados veterinarios.** Indique el plan de acción en caso de enfermedad de los animales
3. **Procedimientos quirúrgicos.** Provea detalles de los procedimientos con sobrevida y sin sobrevida: 
   1. Identifique y describa los procedimientos incluyendo detalles preoperatorios (ej., ayuno), monitoreo y cuidados durante la cirugía incluyendo el método aséptico utilizado.
   2. Identifique las personas que realizarán la cirugía, su entrenamiento y experiencia.
   3. Identifique la sala donde se realizará la cirugía.
   4. Si es cirugía con sobrevida, describa los cuidados postoperatorios (mantenimiento de la temperatura corporal, reposición de fluidos, etc.), la frecuencia de las observaciones, las personas responsables de las mismas, salas donde se realizarán, detección y manejo de complicaciones postoperatorias durante y después del horario de trabajo, fines de semana y feriados.
   5. Si la cirugía es sin recuperación, describa que método de eutanasia que realizará y como determinará la muerte.
   6. Si se utilizarán agentes paralizantes, describa cómo se mantendrá la ventilación y como se controlará el dolor.
   7. Declare si el animal ya sufrió una cirugía mayor o menor antes de utilizarse para este estudio. Si la respuesta es sí, justifique.
   8. ¿Durante este estudio se realizará más de una cirugía con sobrevida en un animal? Si la respuesta es sí, justifique.
4. **Clasificación de Severidad de los Procedimientos**

Para cada experimento **(referirse a cada experimento con su número y título asignado en el apartado C)** clasifique, según su opinión, la SEVERIDAD de los procedimientos (Ver Adjunto I para orientación).

* Sin recuperación
* Leve
* Moderado
* Severo

1. **Justificación del uso de animales frente a métodos alternativos**

Para cada experimento **(referirse a cada experimento con su número y título asignado en el apartado C)**, justifique el uso del modelo animal frente a métodos alternativos:

**Para completar este ítem, por favor, primero leer el siguiente texto:**

**Métodos alternativos:**

Se refiere a aquellas técnicas o métodos que **Reemplazan** el uso de animales, **Reducen** el número requerido o **Refinan** un procedimiento o técnica existente para minimizar el nivel de dolor o diestrés sufrido por los animales (**3Rs**).

**REEMPLAZO:** Uso de modelo no animal o una especie con menor sensibilidad al dolor o diestrés que pueda ocasionar el procedimiento. Uso de materiales audiovisuales para docencia. Los reemplazos pueden ser absolutos o relativos. Las alternativas que remplazan modelos animales pueden clasificarse en las siguientes 3 categorías:

**Uso de sistemas vivos**

**Reducción filogenética.** Deben usarse los animales que están más abajo en la escala filogenética y que provean los resultados requeridos.

**Técnicas in Vitro.** Los sistemas vivos no animales más reconocidos son la utilización de órganos aislados perfundidos y los que caen en la categoría de métodos in Vitro tales como cultivos de órganos, tejidos y células.

**Animales invertebrados.** Como por ejemplo la mosca de la fruta Drosophila melanogaster, modelo clásico para el estudio de genética.

**Microorganismos.** Como por ejemplo el test de Ames para mutagenicidad y carcinogenicidad que usa cultivos de Salmonella-typhimurium.

**Plantas.** Pueden ser usadas para reemplazar animales en estudios de mecanismos moleculares básicos.

**Seres Humanos.** Como por ejemplo estudios de irritación dérmica en voluntarios, estudios clínicos en pacientes.

**Uso de sistemas no vivos**

**Técnicas químicas:** Como por ejemplolas inmunoquímicas usadaspara identificar sustancias y determinar su concentración o potencia reemplazando los ensayos biológicos.

**Sistemas físicos o mecánicos** particularmente los usados para docencia y para adquirir habilidades como los maniquís adosados a computadoras como por ejemplo para entrenamiento en resucitación cardiopulmonar

**Uso de simulación por computadoras** Como modelos matemáticos de relaciones estructura- actividad basados en las propiedades físico- químicas de las drogas y modelos por computadora de procesos biológicos. También es común su uso para simular experimentos de farmacología, fisiología, etc., utilizados como prácticas en las carreras biológicas.

**REDUCCIÓN:**Comprende las estrategias para obtener niveles comparables de información a través del uso de menor número de animales o para maximizar la información obtenida de un dado número de animales.

Las 4 grandes categorías para reducir el número de animales son:

**Compartir animales:** Como por ejemplo para practicar alguna técnica quirúrgica en un animal que esta anestesiado pronto para ser eutanasiado o proveer órganos o tejidos para alguna técnica al tiempo que se hace una necropsia.

**Mejora de los diseños estadísticos:** Están disponibles gran variedad de estrategias de diseño que pueden reducir el número de animales necesarios para un objetivo determinado además de asegurar que no se introduzcan vicios que invalidarían los resultados.

**Mejor calidad de animales:** La inadecuada calidad microbiológica y/o genética puede comprometer el resultado de las investigaciones por la aparición de enfermedades o la obtención de resultados inconsistentes e irrepetibles. Además puede aumentar la variabilidad de las respuestas y por lo tanto se requerir más animales para la significancia estadística.

**Publicación de resultados negativos:** A nivel internacional se ha comprobado que existe un gran problema de sesgo de publicación de resultados negativos. Esto lleva a repetición innecesaria de experimentos y sobre- estimación de los efectos positivos con implicancias severas en la traslación preclínica a clínica. Las principales entidades internacionales de financiamiento y Revistas biológicas están delineando estratégicas para evitar este problema.

**REFINAMIENTO***.* Se refiere a las técnicas que reducen el dolor sufrimiento diestrés o daño duradero al que son sometidos los animales. Pueden clasificarse en las siguientes categorías:

**Menor invasividad:** Como por ejemplo por uso de técnicas por imágenes que sustituyen la necesidad de sacrificar los animales a lo largo del tiempo para obtener muestras de tejidos.

**Mejora de la instrumentación:** Se puede minimizar el diestrés reduciendo el nivel de sujeción o manipulación necesaria para obtener muestras biológicas y datos como por ejemplo el uso de microchips implantables. También caen en esta categoría el uso de equipos de laboratorio que requieren solo micro-litros de muestras de sangre para una gran variedad de test de diagnóstico.

**Mejora en el control del dolor:** Como por ejemplo por el uso de tranquilizantes, analgésicos y anestésicos apropiados de acuerdo a la mejor práctica veterinaria moderna.

**Mejor control de las técnicas:** Tratar a los animales con cariño, introducir enriquecimiento ambiental, **a**segurar capacidad en el manipuleo y restricción de movimiento de las diferentes especies por entrenamiento adecuado de los técnicos e investigadores y entrenamiento o acondicionamiento de los animales para aceptar los procedimientos.

**Incorporación de Punto Final Humanitario** (Ver ítem específico más adelante)

***Se recomienda consultar bases de datos específicas y guardar la información por fecha de búsqueda y/o palabras claves utilizadas. Algunas bases de datos recomendadas****:*

* ALTBIB Alternatives to animal testing (Links to PubMed citations)
* AltWeb: Alternatives to Animal Testing (Johns Hopkins)
* eMICE: electronic models Information, Communication and Education
* NIH Model Organism
* Norina (A Norwegian Inventory of Alternatives) y EURCA (European Resource Centre for Alternatives)
* ZEBET Database on alternatives to animal experiments on the Internet (AnimalAlt-ZEBET)
* Center for animal Alternatives (UC Davis)
* EURL ECVAM- European Union Reference Laboratory for Alternatives to Animal Testing
* NC3Rs

1. **Diseño experimental**

Para cada experimento **(referirse a cada experimento con su número y título asignado en el apartado C)** informe:

El número de grupos controles y experimentales, y los pasos a seguir para minimizar el efecto de subjetividad cuando se adjudiquen los animales a los tratamientos (ejemplo: sistema de aleatorización, formación de bloques, etc.). Describir los criterios para asegurar el balance de las condiciones basales entre los grupos experimentales y los criterios de exclusión.

Describa los grupos control y explique por qué esos controles son importantes para responder la pregunta de la investigación.

Describa la aleatorización de las condiciones ambientales y el orden en el cual los animales de los diferentes grupos experimentales serán tratados y evaluados a fin de evitar vicios y, si es necesario, las medidas a tomar para asegurar que las personas que tratan y las que evalúan sean ciegos respecto de los tratamientos de cada grupo experimental.

Detallar las respuestas a registrar (parámetros de interés y métodos para su determinación).

Justifique el tamaño de cada grupo estadísticamente (por análisis de la potencia o ecuación recursiva) o por otros criterios (como por ejemplo datos de estudios previos).

El número de animales debe optimizarse aplicando sólidos estándares científicos y estadísticos.

Describa los métodos estadísticos a utilizar para el análisis de los resultados.

Se recomienda la consulta con un bioestadístico an*tes de la elaboración del protocolo.*

1. **Fecha de inicio del protocolo:**

**Fecha de finalización del protocolo:**

1. **Instrucciones para el personal técnico a cargo del cuidado de los animales (marque con una X):**

**Animales enfermos Animales muertos Problemas técnicos**

Llamar al investigador Llamar al investigador Llamar al investigador

Sacrificar los animales Descartar como residuos

patogénicos

Otros: (especificar instrucción)

1. **Uso de agentes peligrosos**

Dependiendo de dónde se alojen los animales, tener en cuenta:

**Reglamento Bioterio de especies no tradicionales**: Establece que se deberá contar con la aprobación por parte del Servicio de Higiene y Seguridad (Plan de Protección aprobado).

**Reglamento Bioterio Central**: En sus artículos 4 y 4 bis establece sustancias y materiales cuyo uso no esta permitido.

**Otros Establecimientos**: leer reglamento correspondiente.

1. **Indique (con una X) si los agentes que utiliza son:**

* Infecciosos
* Radionucleídos
* Carcinógenos
* Tóxicos químicos
* Vectores virales
* Animales modificados genéticamente
* Animales silvestres
* Animales experimentales con sustancias tóxicas
* Animales experimentales con material radiactivo
* Animales experimentales con material infeccioso
* Otros agentes peligrosos (especificar):……………………………………………………….

**Material biológico o productos animales para animales en experimentación (líneas celulares, antisueros, etc.):**

Especificar:

1. El tipo de material:
2. Fuente:
3. Certifico que, de acuerdo a mi conocimiento, estos materiales no están contaminados con agentes patógenos que pudieran implicar un perjuicio para los seres humanos y/o las especies animales alojadas en las instalaciones.

**Nota:** La declaración de alguno de estos agentes no implica aprobación por parte de este comité

1. **Indique (con una X) cuáles de los procedimientos detallados abajo se emplearán en este proyecto:**

* Restricción de agua y/o alimentos (acceso solo a tiempo controlado o restricción de volumen / peso consumido)
* Cateterización, intubación
* Extracción de sangre
* Modificación de conducta
* Procedimientos quirúrgicos con recuperación
* Procedimientos quirúrgicos sin recuperación
* Estudios LD50
* Restricción de movimiento prolongada
* Producción de anticuerpos monoclonales
* Producción de anticuerpos policlonales
* Otros (especificar)

1. **Agentes utilizados para evitar dolor o sufrimiento innecesario**

Para cada experimento **(referirse a cada experimento con su número y título asignado en el apartado C)**, indique los agentes y la bibliografía de referencia que utilizará para evitar el dolor o sufrimiento innecesario de los animales (anestésicos, analgésicos, sedativos, tranquilizantes).

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Especie/ cepa | Agente a utilizar | Dosis (mg/kg) | Vehículo | Vía de Administración | Frecuencia de Administración |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |

1. **Indique qué parámetros medirá para conocer si el resultado de los tratamientos descriptos en el cuadro anterior es el correcto.**

|  |
| --- |
|  |

En caso de no utilizar ningún tratamiento paliativo al sufrimiento del animal, justifique detalladamente su decisión.

1. **Al finalizar el protocolo de forma parcial o total, ¿se posibilita el uso de los animales con otro fin compatible? Explique brevemente su opinión** (Directiva 2010/63EU, Artículo 16 Reutilización de animales).

|  |
| --- |
|  |

1. **Punto final humanitario:**

Indique y justifique los signos clínicos a observar durante cada experimento, su frecuencia de observación, los criterios para determinar la aplicación del Punto Final Humanitario y el método a emplear. Se sugiere consulta con veterinario clínico.

**Para completar este ítem, por favor, primero leer el siguiente texto:**

Se define como punto final humanitario el momento anticipado en el cual se previene, alivia o termina el dolor y/o diestrés del animal mediante acciones tales como: eutanasia, finalización del procedimiento doloroso o administración de un tratamiento para aliviar el dolor y/ o diestrés. El uso de puntos finales humanitarios contribuye al refinamiento suministrando una alternativa al punto final experimental cuando este produce severo dolor y diestrés, o incluye la muerte. Sería ideal que los objetivos científicos del estudio puedan cumplirse sin efectos adversos, dolor o diestrés de los animales. Esto no siempre es posible y deben considerarse los requerimientos científicos, los efectos adversos esperados y/o posibles y su progresión en el tiempo como también los indicadores predictivos. Los estudios que comúnmente requieren especial consideración para puntos finales humanitarios son: Desarrollo de tumores, enfermedades desmielinizantes, producción de anticuerpos monoclonales, animales con fenotipos anormales, irradiación de todo el cuerpo, enfermedades infecciosas, desafíos en ensayos de vacunas, modelos de dolor y trauma, fallas orgánicas o de sistemas, modelos de sepsis, modelos de shock cardiovascular

Se recomienda consultar las siguientes publicaciones y el anexo V, sobre score para determinación de punto final:

* Subcomité ad hoc sobre puntos finales del Comité del Canadian Council on Animal Care (CCAC), “Normas sobre la selección del punto final apropiado en experimentos en que se utilizan animales para investigación científica, enseñanza y pruebas de laboratorio”. CCAC, Otawa, 1998.
* National Research Council, Institute for Laboratory Animal Research, USA, “Humane Endpoints for Animals Used in Biomedical Research and Testing” ILAR Journal volume 41, number 2, 2000.
* Morton David B. Informe de un Grupo de Trabajo “Punto final humanitario en la experimentación animal para la investigación biomédica: aspectos éticos, legales y prácticos”. Laboratory Animals, 8, 5-12, 2005.
* University of Pennsylvania´s Institutional Animal Care and Use Committee Guideline “Humane Endpoints for Laboratory Animals” Approved 12/09/14
* NIH, USA, Office of Animal Care and Use, Animal Research Advisory Committee, “Guidelines for Endpoints in Animal Study Proposals”. March, 2016.

1. **Detalle el destino de los animales luego del punto final experimental o Humanitario**

Para cada experimento **(referirse a cada experimento con su número y título asignado en el apartado “Procedimientos”)**, indicar el destino de los animales:

* Eutanasia
* Reutilización
* Adopción

En los dos últimos casos, indicar el protocolo de supervivencia si corresponde.

En caso de que el destino fuera la eutanasia, detalle:

1. Método eutanásico:
2. Justificación del método:
3. Persona a cargo de la realización de la maniobra y su entrenamiento para el procedimiento:
4. **Riesgos para el personal o para la población animal del Bioterio/Establecimiento:**

* Sin riesgo
* Riesgo potencial (describir)

Medidas para disminuir el riesgo:

Personas a contactar en caso de emergencia fuera de horario:

Nombre----------------------Te: -----------------Alternativo-------------------

Nombre-----------------------Te-----------------Alternativo-------------------

**Compromiso para el Cuidado y Uso Ético de los Animales de Laboratorio.**

Declaro haber leído y completado el presente formulario, comprometiéndome a cumplir y hacer cumplir mi protocolo de investigación de acuerdo con los principios éticos adoptados por la Resolución CD 140/00, Consejo Directivo, FCEyN, UBA.

Asimismo, me comprometo a educar al personal a mi cargo y exigirles el respeto de estos principios y de los aspectos relacionados con el cuidado y uso de animales de laboratorio detallados en los documentos: “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”, 8th Edition, National Research Council, The National Academies Press, Washington DC, 2011 y Directiva 2010/63/UE del Parlamento Europeo relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos.

Nombre del investigador principal:

Título académico:

Fecha:

Firma:

**Para el Uso del Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio**

Aprobado para su realización

Aprobado a condición de:

Remitir para su corrección

Comentarios:

Firma y sello responsable CICUAL

**ANEXO I**

**CLASIFICACIÓN DE LA SEVERIDAD DE LOS PROCEDIMIENTOS (Directiva 2010/63/UE)**

La severidad de un procedimiento irá determinada por el grado de dolor, sufrimiento, angustia o daño duradero que se prevé que experimente un animal individual durante el procedimiento.

**Sección I: Categorías de severidad**

**No recuperación**:

Los procedimientos que se realizan enteramente bajo anestesia general tras la cual el animal no recuperará la conciencia deben clasificarse como de no recuperación.

**Leve:**

Los procedimientos en animales a consecuencia de los cuales es probable que experimenten dolor, sufrimiento o angustia leves de corta duración, así como los procedimientos sin alteración significativa del bienestar o del estado general de los animales deben clasificarse como leves.

**Moderado:**

Los procedimientos en animales a consecuencia de los cuales es probable que experimenten dolor, sufrimiento o angustia moderados de corta duración, o leves pero duraderos, así como los procedimientos que pudieran causar una alteración moderada del bienestar o el estado general de los animales deben clasificarse como moderados.

**Severo:**

Los procedimientos en animales a consecuencia de los cuales es probable que experimenten dolor, sufrimiento o angustia intensos, o moderados pero duraderos, así como los procedimientos que pudieran causar una alteración grave del bienestar o del estado general de los animales deben clasificarse como severos.

**Sección II: Criterios de atribución**

La atribución de la categoría de severidad tendrá en cuenta cualquier intervención o manipulación de un animal en un procedimiento determinado. Se basará en los efectos más severos que pueda experimentar un animal después de aplicar todas las técnicas apropiadas de refinamiento.

Al atribuir un procedimiento a una categoría particular, el tipo de procedimiento y demás factores se tendrán en cuenta. Todos estos factores deben considerarse caso por caso.

Los factores relativos al procedimiento deben incluir:

— el tipo de manipulación, el tratamiento,

— la naturaleza del dolor, sufrimiento, angustia o daño duradero causados por todos los elementos del procedimiento, y su intensidad, duración y frecuencia y la multiplicidad de técnicas empleadas,

— el sufrimiento acumulativo en un procedimiento,

— la prevención de la expresión del comportamiento natural incluidas las restricciones en las normas de alojamiento, zootécnicas y de cuidado de los animales.

En la sección III se facilitan ejemplos de procedimientos atribuidos a cada categoría de severidad sobre la base de los factores relativos al tipo de procedimiento de que se trate. Facilitarán la primera indicación sobre la clasificación que sería la más adecuada para un determinado tipo de procedimiento. Sin embargo, a efectos de la clasificación final de severidad del procedimiento, se tendrán en cuenta los siguientes factores adicionales, evaluados caso por caso:

— tipo de especie y genotipo,

— madurez, edad y sexo del animal,

— experiencia de formación del animal en el procedimiento,

— si se reutiliza el animal, la severidad real de los procedimientos anteriores,

— los métodos utilizados para reducir o suprimir el dolor, el sufrimiento y la angustia, incluidos refinamiento de condiciones de alojamiento, zootécnicas y de cuidado de los animales,

— uso de puntos finales incruentos.

**Sección III:**

Ejemplos de diversos tipos de procedimiento atribuidos a cada categoría de severidad sobre la base de los factores relativos al tipo de procedimiento1. **Leve:**

a) Administración de anestesia, salvo para el único propósito de sacrificar;

b) Estudio farmacocinético donde se administra una única dosis y se recoge un número limitado de muestras de sangre(totalizando < 10 % del volumen circulante) y no se prevé que la sustancia cause ningún efecto nocivo perceptible;c) Técnicas no invasivas de diagnóstico por imagen en animales (por ejemplo resonancia magnética) con la sedación o la anestesia apropiadas;d) Procedimientos superficiales, por ejemplo biopsias de oreja y rabo, implantación subcutánea no quirúrgica de minibombas y transpondedores;

e) Aplicación de dispositivos exteriores de telemetría que únicamente causan al animal un debilitamiento menor o una interferencia menor con la actividad y el comportamiento normales;

f) Administración de sustancias por vía subcutánea, intramuscular, intraperitoneal, por sonda gástrica e intravenosa a través de los vasos sanguíneos superficiales, donde la sustancia sólo tiene un efecto leve en el animal, y los volúmenes se encuentran dentro de límites apropiados para el tamaño y la especie del animal;

g) Inducción de tumores, o tumores espontáneos, que no causan ningún efecto nocivo clínico perceptible (por ejemplo, nódulos pequeños, subcutáneos, no invasivos);

h) Cría de animales genéticamente modificados que se prevé que dé lugar a un fenotipo con efectos leves;

i) Alimentación con dietas modificadas, que no cubren las necesidades nutricionales de todos los animales y se prevé que causen una anomalía clínica leve en el período de estudio;

j) Confinamiento a corto plazo (< 24 h) en jaulas metabólicas;

k) Estudios que implican la privación a corto plazo de interlocutores sociales, enjaulado solitario a corto plazo de ratas o ratones adultos de cepas gregarias;

l) Modelos que exponen al animal a estímulos nocivos que se asocian brevemente con dolor, sufrimiento o angustia leve, y que el animal puede evitar;

**m)** **Una combinación o una acumulación de los siguientes ejemplos puede dar lugar a una clasificación leve:**

i) Evaluación de la composición corporal a través de mediciones no invasivas y restricción mínima,

ii) Supervisión ECG con técnicas no invasivas con una restricción mínima o nula de animales habituados,

iii) Aplicación de dispositivos exteriores de telemetría que no se prevé que causen ningún impedimento a animales socialmente adaptados y que no interfieren con la actividad y el comportamiento normales,

iv) Cría de animales genéticamente modificados que no se espera que tengan ningún fenotipo adverso clínicamente perceptible,

v) Adición a la dieta de marcadores inertes para seguir el paso de la digesta,

vi) Retirada de la alimentación durante un período inferior a 24h en ratas adultas,

vii) Ensayos a campo abierto.

2. **Moderado:**

a) Aplicación frecuente de sustancias de prueba que producen efectos clínicos moderados, y extracción de muestras de sangre (> 10 % de volumen circulante) en un animal consciente en el plazo de algunos días sin reemplazo del volumen;

b) Estudios de determinación de la gama de dosis causante de toxicidad aguda, pruebas de toxicidad

crónica/carcinogenicidad, con puntos finales no letales;

c) Cirugía bajo anestesia general y analgesia apropiada, asociada con dolor o sufrimiento posquirúrgicos o alteración posquirúrgica de la condición general. Los ejemplos incluyen: toracotomía, craneotomía, laparotomía, orquidectomía, linfodenectomía, tiroidectomía, cirugía ortopédica con estabilización efectiva y cuidado de heridas, trasplante de órganos con tratamiento efectivo del rechazo, implantación quirúrgica de catéteres, o dispositivos biomédicos (por ejemplo, transmisores de telemetría, minibombas, etc.);d) Modelos de inducción de tumores, o tumores espontáneos, que se prevé que causen dolor o angustia moderados o interferencia moderada con el comportamiento normal;

e) Irradiación o quimioterapia con una dosis subletal, o con una dosis que de otro modo sería letal, pero con reconstitución del sistema inmunitario. Cabría esperar que los efectos nocivos fueran leves o moderados y que fueran efímeros (< 5 días);

f) Cría de animales genéticamente modificados que se espera den lugar a un fenotipo con efectos moderados;

g) Producción de animales genéticamente modificados mediante procedimientos quirúrgicos;

h) Uso de jaulas metabólicas que impliquen una restricción moderada de movimientos durante un período prolongado (hasta 5 días);

i) Estudios con dietas modificadas que no cubren las necesidades nutricionales de todos los animales y que se espera que causen una anomalía clínica moderada en el período de estudio;

j) Retirada de la alimentación durante 48 horas en ratas adultas;

k) Provocar reacciones de escape y evitación en las que el animal no pueda escapar o evitar el estímulo, y que se espera que den lugar a una angustia moderada.3. **Severo:**

a) Ensayos de toxicidad en los que la muerte sea el punto final o se prevean muertes y se provoquen situaciones fisiopatológicas intensas. Por ejemplo, ensayo de toxicidad aguda con una única dosis (véanse las directrices de la OCDE sobre ensayos);

b) Ensayos de dispositivos en los que el fracaso pueda causar dolor o angustia severos o la muerte del animal (por ejemplo, dispositivos de reanimación cardiaca);

c) Ensayo de potencia de una vacuna caracterizada por la alteración persistente del estado del animal, enfermedad progresiva que causa la muerte, asociada con dolor, angustia o sufrimiento moderados duraderos;

d) Irradiación o quimioterapia con una dosis letal sin reconstitución del sistema inmunitario, o reconstitución con la producción de enfermedad de injerto contra huésped;

e) Modelos con inducción de tumores, o con tumores espontáneos, que se espera causen enfermedad mortal progresiva asociada con dolor, angustia o sufrimiento moderados duraderos. Por ejemplo, tumores que causan caquexia, tumores óseos invasivos, tumores que dan lugar a diseminación metastástica, y tumores que se permite que se ulceren;

f) Intervenciones quirúrgicas y de otro tipo en animales bajo anestesia general que se espera den lugar a dolor, sufrimiento o angustia postoperatorios severos, o moderados pero persistentes, o a una alteración severa y persistente de la condición general del animal. Producción de fracturas inestables, toracotomía sin analgesia adecuada, o traumatismo para producir el fallo multiorgánico;

g) Trasplante de órgano donde es probable que el rechazo del órgano origine angustia o la alteración severa del estado general del animal (por ejemplo, xenotransplante);

h) Reproducción de animales con trastornos genéticos que se espera experimenten una alteración severa y persistente de su estado general, por ejemplo, la enfermedad de Huntington, distrofia muscular, modelos de neuritis crónicas recurrentes;

i) Uso de jaulas metabólicas que impliquen una restricción severa de los movimientos durante un período prolongado;

j) Choque eléctrico ineludible (por ejemplo, para producir invalidez inducida);

k) Aislamiento completo durante períodos prolongados de especies gregarias, por ejemplo, perros y primates no humanos;

l) Inmovilización de ratas para inducirles úlceras gástricas o fallo cardiaco por estrés;

m) Natación forzada o pruebas de ejercicio con el agotamiento como punto final.

**ANEXO II**

**Información que debe contener el protocolo para su apreciación por el CICUAL (Directiva 2010/63/UE,**

**Anexo VI)**

1- Pertinencia y justificación de lo siguiente:

a) utilización de animales, incluso por lo que se refiere a su origen, número estimado, especies y etapas de su vida.

b) procedimientos

2- Aplicación de métodos para reemplazar, reducir y refinar la utilización de animales en procedimientos.

3- Uso previsto de anestésicos, analgésicos y otros medios para calmar el dolor

4- Medidas adoptadas para reducir, evitar y aliviar cualquier forma de sufrimiento de los animales a lo largo de toda su vida, cuando así proceda

5- Uso de puntos finales incruentos

6) Estrategia experimental o de observación y modelo estadístico utilizado para reducir al mínimo el número de animales utilizados, el dolor , sufrimiento, angustia y el impacto medioambiental cuando proceda

7- Reutilización de animales y su efecto acumulativo sobre el animal.

8- Clasificación propuesta de la severidad de los procedimientos

9- Medidas adoptadas para evitar la repetición injustificada de procedimientos cuando sea conveniente

10- Condiciones de alojamiento zootécnicas y de cuidado para los animales

11- Métodos de sacrificio

12- Competencia de las personas que participan en el proyecto

**ANEXO III**

**Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 8th Ed. 2010, NRC, USA (Pag. 25-26)**

Protocol Review

The animal use protocol is a detailed description of the proposed use of laboratory animals. The following topics should be considered in the preparation of the protocol by the researcher and its review by the IACUC:

* rationale and purpose of the proposed use of animals
* a clear and concise sequential description of the procedures involving the use of animals that is easily understood by all members of the committee
* availability or appropriateness of the use of less invasive procedures, other species, isolated organ preparation, cell or tissue culture, or computer simulation (see Appendix A, Alternatives)
* justification of the species and number of animals proposed; whenever possible, the number of animals and experimental group sizes should be statistically justified (e.g., provision of a power analysis; see Appendix A, Experimental Design and Statistics)
* unnecessary duplication of experiments
* nonstandard housing and husbandry requirements
* impact of the proposed procedures on the animals’ well-being
* appropriate sedation, analgesia, and anesthesia (indices of pain or invasiveness might aid in the preparation and review of protocols; see Appendix A, Anesthesia, Pain, and Surgery)
* conduct of surgical procedures, including multiple operative procedures
* postprocedural care and observation (e.g., inclusion of post-treatment or postsurgical animal assessment forms
* description and rationale for anticipated or selected endpoints criteria and process for timely intervention, removal of animals from a study, or euthanasia if painful or stressful outcomes are anticipated
* method of euthanasia or disposition of animals, including planning for care of long-lived species after study completio
* adequacy of training and experience of personnel in the procedures used, and roles and responsibilities of the personnel involved
* use of hazardous materials and provision of a safe working environment.

While the responsibility for scientific merit review normally lies outside the IACUC, the committee members should evaluate scientific elements of the protocol as they relate to the welfare and use of the animals. For example, hypothesis testing, sample size, group numbers, and adequacy of controls can relate directly to the prevention of unnecessary animal use or duplication of experiments. For some IACUC questions, input from outside experts may be advisable or necessary. In the absence of evidence of a formal scientific merit review, the IACUC may consider conducting or requesting such a review (Mann and Prentice 2004). IACUC members named in protocols or who have other conflicts must recuse themselves from decisions concerning these protocols.

At times, protocols include procedures that have not been previously encountered or that have the potential to cause pain or distress that cannot be reliably predicted or controlled. Relevant objective information about the procedures and the purpose of the study should be sought from the literature, veterinarians, investigators, and others knowledgeable about the effects on animals. If little is known about a specific procedure, limited pilot studies, designed to assess both the procedure’s effects on the animals and the skills of the research team and conducted under IACUC oversight, are appropriate. General guidelines for protocol or method evaluation for some of these situations are provided below, but they may not apply in all instances.

**ANEXO IV**

**Introductory Notes Animals (Scientific Procedures) Act 1986 and key definitions in the UK**

The use of animals in scientific procedures is regulated by the Animals (Scientific Procedures) Act 1986, an animal protection measure that requires licensing and oversight of all places, projects and personnel involved in such work. The general system of control under the 1986 Act is explained in detail in the Appendix. The purpose of this publication is to meet the requirements of the 1986 Act to collect and publish statistical information on the use of protected animals in regulated procedures during the previous calendar year and to lay that information before the Northern Ireland Assembly. Protected animals are defined in the 1986 Act as any living vertebrate other than man and any living cephalopod. Regulated procedures are defined in the 1986 Act as any procedure applied to a protected animal for an experimental or other scientific purpose, or for an educational purpose, that may have the effect of causing an animal pain, suffering, distress or lasting harm equivalent to, or higher than, that caused by the introduction of a needle in accordance with good veterinary practice. As the 1986 Act indicates, the breeding of an animal is a regulated procedure if the animal is bred from, or is the descendant of, an animal whose genes have mutated or been modified. For simplicity, these procedures will be referred to from this point on as the creation/breeding of genetically altered animals. The number of regulated procedures, which will be simply referred to as procedures from this point on, usually corresponds with the number of animals used. However, animals are sometimes ‘re-used’ when they have fully recovered from a previous procedure and in these instances they are counted as separate, additional, procedures. Overall, the number of procedures is always slightly higher than the number of animals used. The figures in this release focus on the number of procedures, not the number of animals, unless otherwise stated.

**ANEXO V**

El siguiente es un ejemplo del tipo de signos a observar que debe ser adaptado por el IR dependiendo del tipo de investigación llevado a cabo.

Score para determinación de punto final

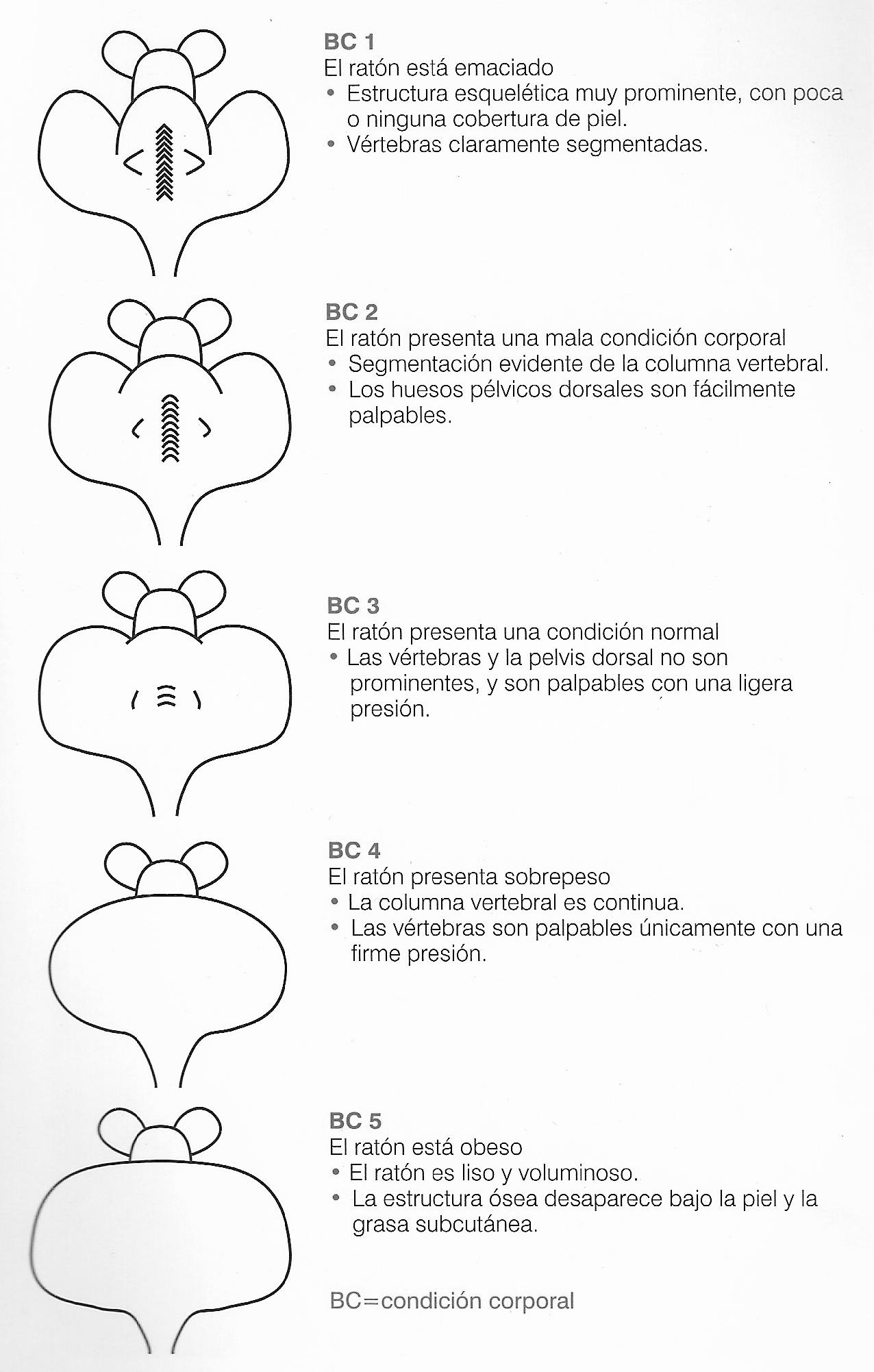
|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **PARAMETRO** | **OBSERVACIÓN** | **SCORE** |
| **APARIENCIA** | Normal | 0 |
| Falta de acicalamiento | 1 |
| Descarga nasal y/ u ocular | 2 |
| Pilo-erección/ Postura encorvada | 3 |
| **CAMBIOS EN EL PESO CORPORAL** | Normal | 0 |
| < 10% de pérdida de peso | 1 |
| 10-15% de pérdida de peso | 2 |
| >20% de pérdida de peso | 3 |
| **CONDICIÓN CORPORAL**  **(ver diagrama para detalles)** | Condición corporal score >3 | 0 |
| Condición corporal score >2 y <3 | 1 |
| Condición corporal score >1 y <2 | 2 |
| Condición corporal score ≤1 | 3 |
| **SIGNOS CLINICOS** | T°, ritmo cardíaco y respiratorio normal | 0 |
| Leves cambios | 1 |
| Cambios de T° de 1°C-2°C  Incremento en el ritmo cardíaco y respiratorio >30% | 2 |
| Cambios de T° de >2°C  Incremento en el ritmo cardíaco y respiratorio >50% | 3 |
| **CONDUCTA ESPONTÁNEA** | Normal | 0 |
| Leves cambios | 1 |
| Disminución movilidad, estado de alerta o animal inactivo | 2 |
| Vocalización, automutilación, movilidad limitada o inmovilidad | 3 |
| **CONDUCTA PROVOCADA** | Normal | 0 |
| Depresión leve o repuesta exagerada | 1 |
| Cambios moderados en la conducta esperada | 2 |
| Reacción violenta o muy deprimido y comatoso | 3 |
| **SCORE** | Si Ud. ha puntuado con 3 más de una vez,  Súmele un punto extra por cada 3 | 2±6 |
|  | **TOTAL 24** | |

Referencias:

* 0 a 5 Normal.
* 6 a 12 Monitorear cuidadosamente, considerando analgesia.
* 13 a 17 Proveer alivio y observar regularmente, considerar punto final.
* 18 a 24 Dolor severo, reevaluación del protocolo experimental.

Evaluación del estado general del cuerpo de un ratón

Al calificarse la condición corporal se tiene una manera de evaluar la salud y el peso general de un animal por medio de la observación y la palpación.

*Modificado de Ullman- Cullere, M. H. & Foltz, J. Body condition scoring: a rapid and accurate method for assessing health status in mice. Lab. Anim. Sci. 49, 319-323 (1999*).

1. **En la redacción del presente formulario se tuvieron en cuenta las recomendaciones de los siguientes documentos: a) La información requerida en las solicitudes de autorización de proyectos de la Directiva 2010/63/UE (Ver anexo II de este formulario), b) Las recomendaciones para el contenido de los Protocolos de la Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 8th Ed. NRC, USA, 2011 (Ver anexo III de este formulario) c) El documento Sample Animal Study Proposal , NIH, Office of Laboratory Animal Welfare, USA, 2015, d) La definición de “procedimiento” de la ley del Reino Unido sobre protección de animales de experimentación de 1986 (ver Anexo IV de este formulario), e) The ARRIVE Guidelines Checklist Animal Research: Reporting in Vivo Experiments, Kilkenny C. et al., PLos Biology June 2010 y f) A Gold Standard Publication Checklist to Improve the Quality of Animal Studies, to Fully Integrate the Three Rs, and to Make Systematic Reviews More Feasible, Hooijmans C. R., Leenaars M. and Ritskes-Hoitinga M., ATLA 38,167-182, 2010.**  [↑](#footnote-ref-2)