

Instructivo para la presentación de Protocolos Experimentales (PE) con animales de laboratorio ante la CICUAL

El presente instructivo fue elaborado con el objeto de ayudar a la correcta presentación del Protocolo Experimental (PE) de trabajo con animales de laboratorio. Esta CICUAL entiende por “animales de laboratorio” a todos los considerados por la Directiva 2010/63/UE: cualquier animal vertebrado (incluyendo a los ciclóstomos y los fetos de mamíferos en el último tercio del período de su desarrollo), y/o cefalópodos. La experimentación en fetos y formas embrionarias en una fase de desarrollo poco avanzada puede provocar dolor, sufrimiento, angustia y daño duradero, si esas formas en desarrollo van a vivir más allá de los dos primeros tercios de su desarrollo.

La primera parte del formulario está destinada a la identificación de toda persona involucrada en el protocolo, tanto el investigador responsable (IR) como los miembros del proyecto (investigadores, becarios y personal técnico que tenga contacto con los animales).

Título del proyecto:

Además de consignar el título del proyecto al cual corresponde el presente protocolo, debe indicar fechas estimativas de inicio y finalización de los trabajos. Recuerde que la fecha de inicio no puede ser previa a la fecha de aprobación del presente protocolo (Res. CD 3141/2011).

Datos del investigador responsable (IR):

Se refiere a la persona que dirige el proyecto.

Si bien la CICUAL comprende que puede haber más de un investigador involucrado en un estudio, una persona debe asumir la responsabilidad por el cumplimiento del protocolo presentado y su ejecución, y deberá estar disponible para ser contactado en cualquier momento.

El IR debe ser alguien que tenga vínculo comprobable con la FCEN (personas con cargo docente en la FCEN y/o investigadores de CONICET con lugar de trabajo en la FCEN declarado ante CONICET). Alternativamente, en los casos en que la actividad se desarrolle en el ámbito de FCEN, podrá cumplir este rol alguien con un cargo externo, quien deberá presentar los avales requeridos de la institución de pertenencia.

En todos los casos, el IR deberá cumplir los requisitos que se mencionan a continuación.

Para protocolos de investigación:

Con probada actividad en investigación y méritos científicos relevantes, comprobables mediante **al menos dos** de las siguientes condiciones: i) Con doctorado/maestría o grado académico equivalente, ii) Con antecedentes curriculares suficientes y demostrables en publicaciones con prestigio académico reconocido, iii) Dirección/codirección de proyectos acreditados o antecedentes curriculares demostrables mediante actividades en un proyecto de I&D.

Para protocolos de docencia:

Cargo de Profesor o JTP (con aval del Profesor de la materia).

Se evaluará la experiencia y capacitación en las metodologías propuestas.

En todos los casos, de ser necesario, la CICUAL se reserva el derecho a realizar la evaluación exhaustiva de los antecedentes curriculares del IR y determinar su idoneidad para cumplir con la función correspondiente.

Personas que participarán en la ejecución de este protocolo

Debe completar los datos de **todas** las personas que realizarán procedimientos que involucren animales vivos en la ejecución del protocolo (como orientación ver en anexo IV de este instructivo la definición de procedimientos según la legislación del Reino Unido). Para ello, debe copiar, pegar y completar los ítems listados para cada una de las personas que serán parte de los trabajos que involucren animales. No debe incluir al personal del Bioterio Central involucrado en el mantenimiento de los animales.

Para completar las secciones de la A a la J deberá organizar la actividad experimental del proyecto en experimentos, asignando a cada uno un número y título.

C) Procedimientos:

Atención: en este formulario se utilizan 2 conceptos que deben diferenciarse para ser utilizados adecuadamente: Punto Final Experimental (PFE, ítem C.9) y Punto Final Humanitario (PFH, ítem H).

Punto Final Experimental y Punto Final Humanitario

Se define como el **PFE** del estudio (ítem C.9) al que ocurre cuando los objetivos científicos han sido alcanzados (ej. tamaño máximo que alcanzará el tumor; tiempo luego de la administración de un fármaco, etc.). Este punto final es diferente del PFH. Sin embargo, pueden estar muy ligados en ciertos experimentos 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.

Se define como **PFH (ítem H)** 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 del PFH contribuye al refinamiento suministrando una alternativa al PFE cuando éste 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 IV del presente instructivo, 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, Ottawa, 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.

D) Agentes utilizados para evitar dolor o sufrimiento innecesario

Para completar esta información, en el caso de mamíferos, se recomienda consultar Diehl et al., 2001: “A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes” en *J. Appl. Toxicol.* 21, 15–23 (<https://doi.org/10.1002/jat.727>).

E) Diseño experimental

Para completar este ítem, deberá considerar los puntos 1 a 7 de la guía ARRIVE 2.0 (<https://arriveguidelines.org/arrive-guidelines>), también descritos en Percie du Sert, et al. (2020). Reporting animal research: Explanation and elaboration for the ARRIVE guidelines 2.0. *PLoS Biol* 18(7): e3000411 (<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000411>).

A modo de resumen, **para cada experimento** se solicita que:

1. a) Especifique los grupos que se comparan, incluidos los grupos control y explique por qué dichos controles son importantes para responder la pregunta de la investigación. Si ningún grupo control se utilizara, debe justificarlo.
b) Describa la unidad experimental.
2. Especifique el número exacto de unidades experimentales asignadas a cada grupo y el total número en cada experimento. Indique también el número total de animales utilizados, describiendo los cálculos realizados. Optimice el número de animales aplicando sólidos estándares científicos y estadísticos. Justifique el tamaño de cada grupo estadísticamente (por análisis de la potencia o ecuación recursiva) o por otros criterios (ej. datos de estudios previos).
3. Describa los criterios de inclusión y exclusión.
4. Describa 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.), 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.
5. Especifique 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
6. Detalle las respuestas a registrar (parámetros de interés y métodos para su determinación).
7. Describa los métodos estadísticos a utilizar para el análisis de los resultados.

Se recomienda la consulta con un bioestadístico antes de la elaboración del protocolo.

F) Clasificación de Severidad de los Procedimientos

(adaptado de la 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. La atribución de la categoría de severidad tendrá en cuenta cualquier intervención o manipulación de un animal en un procedimiento determinado, y se basará en los efectos más severos (considerando el efecto acumulativo de los mismos) que puedan experimentar un animal después de aplicar todas las técnicas apropiadas de refinamiento. A tal efecto, los siguientes factores deben ser considerados, evaluando caso por caso:

- 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.
- 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.

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

Ejemplos de este nivel de severidad son:

- 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;
- k) **Una combinación o acumulación de los siguientes ejemplos:**
 - 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.

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.

Ejemplos de este nivel de severidad son:

- 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, linfodectomía, 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.

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.

Ejemplos de este nivel de severidad son:

- 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 cardíaca);
- 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 metastásica, 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, xenotrasplante);
- 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 cardíaco por estrés;
- m) Natación forzada o pruebas de ejercicio con el agotamiento como punto final.

G) Justificación del uso de animales frente a métodos de reemplazo

(adaptado de <https://www.nc3rs.org.uk/the-3rs>)

El cuidado y el uso de animales vivos para fines científicos se rige por los principios establecidos internacionalmente de Reemplazo, Reducción y Refinamiento (3Rs o Métodos alternativos). Los métodos alternativos incluyen 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.

El **Reemplazo**, en particular, se refiere a tecnologías o enfoques que reemplazan o evitan directamente el uso de animales en experimentación.

Durante muchos años, los animales de investigación se han utilizado para responder preguntas científicas importantes, incluidas las relacionadas con la salud humana. Los modelos animales a menudo son costosos y requieren mucho tiempo y, dependiendo de la pregunta de investigación, presentan limitaciones científicas, tales como escasa relevancia para la biología humana. Los modelos alternativos pueden abordar algunas de estas preocupaciones. En la última década, los avances en la ciencia y la tecnología han brindado oportunidades realistas para reemplazar el uso de animales.

Pueden considerarse dos categorías de reemplazo: reemplazo total y reemplazo parcial.

El **reemplazo total** evita el uso de animales de investigación. Incluye el uso de voluntarios humanos, tejidos y células, modelos matemáticos e informáticos, y líneas celulares establecidas.

El **reemplazo parcial** incluye el uso de algunos animales que, según el pensamiento científico actual, no se consideran capaces de experimentar sufrimiento. Esto incluye invertebrados como *Drosophila*, gusanos nematodos y amebas sociales, y formas inmaduras de vertebrados (las formas embrionarias y fetales de mamíferos, aves y reptiles están protegidas durante el último tercio de su período de gestación o incubación, los peces y anfibios una vez que pueden alimentarse de forma independiente, y los cefalópodos en el momento en que nacen). También incluye el uso de células (y tejidos) primarios extraídos de animales sacrificados únicamente para este fin (es decir, que no se hayan utilizado en un procedimiento científico que cause sufrimiento).

La **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. Se reconocen cuatro categorías de reducción: compartir animales, mejora de los diseños estadísticos, mejora de la calidad de los animales y publicación de resultados negativos.

El **Refinamiento** se refiere a las técnicas que reducen el dolor, sufrimiento, diestrés o daño duradero al que son sometidos los animales. Pueden reconocerse las siguientes categorías de reducción: disminución de la invasividad, mejora de la instrumentación, mejora en el control del dolor, mejora en el control de las técnicas, incorporación del PFH.

Para mayor información, se recomienda consultar las siguientes bases de datos específicas:

- 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

I) Detalle el destino de los animales luego del PFE o PFH

En caso de que el destino fuera la eutanasia, se recomienda considerar la Guía de Eutanasia de la American Veterinary Medical Association (<https://www.avma.org/sites/default/files/2020-02/Guidelines-on-Euthanasia-2020.pdf>).

ANEXO I

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

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 II

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 completion
- 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 III

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 IV

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

Score para determinación de punto final

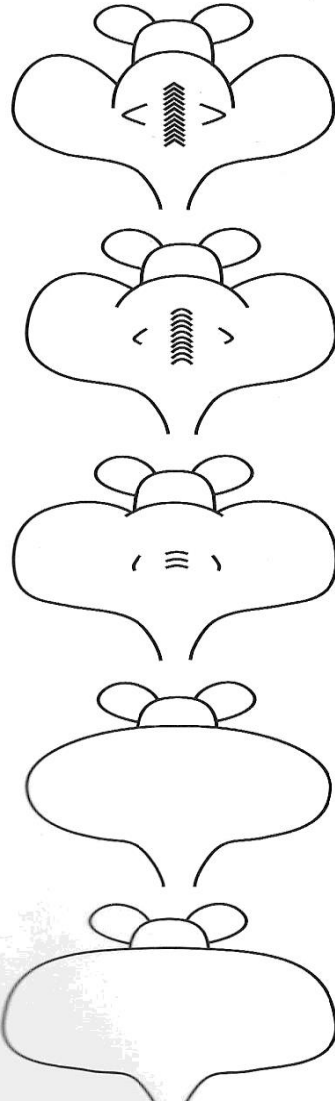
PARAMETRO	OBSERVACIÓN	SCORE
APARIENCIA	Normal	0
	Falta de acicalamiento	1
	Descarga nasal y/ u ocular	2
	Pilo-erección/ Postura encorvada	3
CAMBIOS EN EL PESO CORPORAL	Normal	0
	< 10% de pérdida de peso	1
	10-15% de pérdida de peso	2
	>20% de pérdida de peso	3
CONDICIÓN CORPORAL (ver diagrama para detalles)	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 clasificarse la condición corporal existe una manera de evaluar la salud y el peso general de un animal por medio de la observación y la palpación.



BC 1
El ratón está emaciado

- Estructura esquelética muy prominente, con poca o ninguna cobertura de piel.
- Vértebras claramente segmentadas.

BC 2
El ratón presenta una mala condición corporal

- Segmentación evidente de la columna vertebral.
- Los huesos pélvicos dorsales son fácilmente palpables.

BC 3
El ratón presenta una condición normal

- Las vértebras y la pelvis dorsal no son prominentes, y son palpables con una ligera presión.

BC 4
El ratón presenta sobrepeso

- La columna vertebral es continua.
- Las vértebras son palpables únicamente con una firme presión.

BC 5
El ratón está obeso

- El ratón es liso y voluminoso.
- La estructura ósea desaparece bajo la piel y la grasa subcutánea.

BC=condición corporal

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).