

## INSTRUCTIVO DE LLENADO

**Las instrucciones específicas que no aparecen en el protocolo aparecen en ROJO en este INSTRUCTIVO DE LLENADO.**

### SECCIÓN 1. ANTECEDENTES ADMINISTRATIVOS

Número asignado por el CEC-CAA:	XXXXXXXXX <i>Acá indique el número de plataforma de 9 dígitos Ej: 200512007</i>	Fecha envío 1ª versión:	XX/XX/XXXX			
Versión, marcar con X:	1: <input type="checkbox"/>	2: <input type="checkbox"/>	3: <input type="checkbox"/>	4: <input type="checkbox"/>	5: <input type="checkbox"/>	Otra versión: <input type="checkbox"/>

Título del proyecto:	...
Indicar Fuente de Financiamiento(s) y número asignado: (Ej. Fondecyt Regular 11170303)	... <i>Indique el financiamiento del proyecto, fuente de recursos que le permiten ejecutar este proyecto. Ej: FONDECYT Regular 2017 adjudicado, número xxxxxx, FONDECYT postdoctorado adjudicado número xxxxxx, proyecto Anillo xxxxx, fondos departamentales, etc. Si menciona un concurso debe indicar si ha sido adjudicado o está en periodo de postulación. Recuerde el CEC-CAA evalúa normalmente proyectos adjudicados. Si indica "Fondos propios" debe especificar y justificar.</i>
Indicar si esta investigación es: unidad de investigación / tesis de pregrado / doctorado / magister/ docencia/etc.:	... <i>Si contempla varios ítems o aún no está definido, mencionarlo.</i>
Otras instituciones participantes (ejemplo: INACH, industria, otras universidades):	...



EQUIPO DE INVESTIGACIÓN					
TIPO DE INTEGRANTE	Nombre:	Rol: Investigador principal, tesista doctorado, lab manager, técnico, etc.) y Categoría Académica si corresponde (Instructor, Profesor Asociado, etc.):	Institución:	e-mail:	Capacitación en Ética de Animal ✧ Indique *Si o **No
Académico Responsable	<i>Nombre y Apellido</i>	<i>Ej: Profesor Asociado</i>	<i>Ej: Pontificia Universidad Católica de Chile</i>	<i>xxxx@uc.cl</i>	<i>Ej: SI</i>
Investigador Principal		<i>Ej: Postdoctorado, Instructor</i>			<i>Ej: NO</i>
Miembro del equipo					
... Agregue más filas si requiere <i>Otros ejemplos: Coinvestigador, director, coordinador, etc.</i>					

**Toda investigación debe contar con un Académico Responsable UC**

***El académico responsable UC es el Tutor, Patrocinante que supervisa y acompaña al Investigador Responsable.***

***Investigador Responsable:*** Es el responsable intelectual de la investigación (titular de tesis de pregrado, doctorado, proyecto postdoctorado) y aquel que realiza la mayoría de los experimentos o procedimientos incluidos en el proyecto. Hay veces en que el Académico Responsable e Investigador Responsable son los mismos. Ej. Académico UC, líder de su propio laboratorio que es Investigador Principal en Fondecyt de Iniciación.

✧ **Capacitación en Ética de Investigación con Animales y/o bienestar y manejo en animales de experimentación.**

\*De indicar SI, adjunte certificación. \*\*El siguiente link lo llevará al programa de capacitación en ética y bioseguridad de la investigación: <https://www.citiprogram.org/>. Una vez finalizado el programa CITI, el mismo generará automáticamente un certificado que debe adjuntar.

EN CASO DE UNA EMERGENCIA CON LOS ANIMALES EN HORARIO NO LABORAL AVISAR A:	
Nombre:	Teléfono:
Nombre:	Teléfono:

... Agregue más filas si requiere

***Identificar a la(s) persona(s) que será(n) responsable(s) de acudir al bioterio durante los fines de semana, días feriados, en caso de emergencia como: desastres naturales (ej: terremoto), incendios, fuga de animales, daño al operador, etc.***

## SECCIÓN 2. PROPÓSITOS Y JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

### 2.1. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICA: Señale la(s) relevancia(s) principal(es) del Proyecto.

*Aproximadamente 300 palabras. Mencione de qué se tratará el proyecto y el modelo animal a utilizar (borre esta frase al completar).*

...

*La fundamentación científica debe introducir la investigación, para qué se requiere, cuál es la pregunta que responderá y/o información nueva que aportará, así como en qué consistirá el proyecto en forma general. Fundamente su relevancia. Ej. Debe demostrar claramente que el estudio es relevante para: la salud humana o animal, el avance del conocimiento científico en general o bien de la sociedad. No olvide mencionar el uso de animales.*

### 2.2. FUNDAMENTACIÓN PARA EL CIUDADANO COMÚN. Esta sección podrá ser de conocimiento público

*Aproximadamente 300 palabras. Utilice un lenguaje fácil de comprender para el ciudadano común, mencionar de qué se tratará el proyecto y el modelo animal a utilizar (borre esta frase al completar).*

...

*Similar a la anterior, pero debe ser explicada de manera que sea comprensible para el ciudadano común informado y cualquier evaluador. Imagine que es una explicación para un alumno de enseñanza media. Reemplace palabras técnicas por palabras de lenguaje común. Ej. Etiología=> causa, fibrosarcoma => tipo de cáncer, esteatosis hepática => hígado graso. No olvide mencionar el uso de animales.*

<b>2.3. HIPÓTESIS DEL PROYECTO:</b>	...	
<b>2.4. OBJETIVO GENERAL DEL PROYECTO:</b>	...	
<b>2.5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS DEL PROYECTO:</b>	<b>Objetivo específico</b>	<b>¿Se realiza en la UC?, SI/NO*</b>
	1.	
	2.	
	3.	
	... Agregue más filas si requiere	

**\*NOTA:** Si su proyecto es financiado por un programa de investigación colaborativo (**Iniciativa Científica Milenio, Anillo de investigación, FONDAP, BASAL o algún otro que tenga colaboración**), es importante que especifique objetivos que serán ejecutados en esta institución y cuáles en la institución colaboradora.

## SECCIÓN 3. DISEÑO EXPERIMENTAL

### 3.1. DESCRIPCIÓN DEL DISEÑO EXPERIMENTAL

Describa los grupos experimentales (controles y tratamientos) que se comparan como parte de los objetivos. Indique el n (n=número) de cada grupo (identifique unidad experimental y réplicas si corresponde) y el n total por objetivo. Mencione las variables que serán cuantificadas y que serán objeto de análisis estadístico posterior.

*Describa en forma narrativa los procedimientos experimentales del proyecto y su temporalidad (borre esta frase al completar).*

*La descripción debe ser breve, con una extensión deseable de una página. No incluya aquí los detalles de análisis bioquímicos, ni de procedimientos. Existen secciones para esto más adelante (sección 5).*

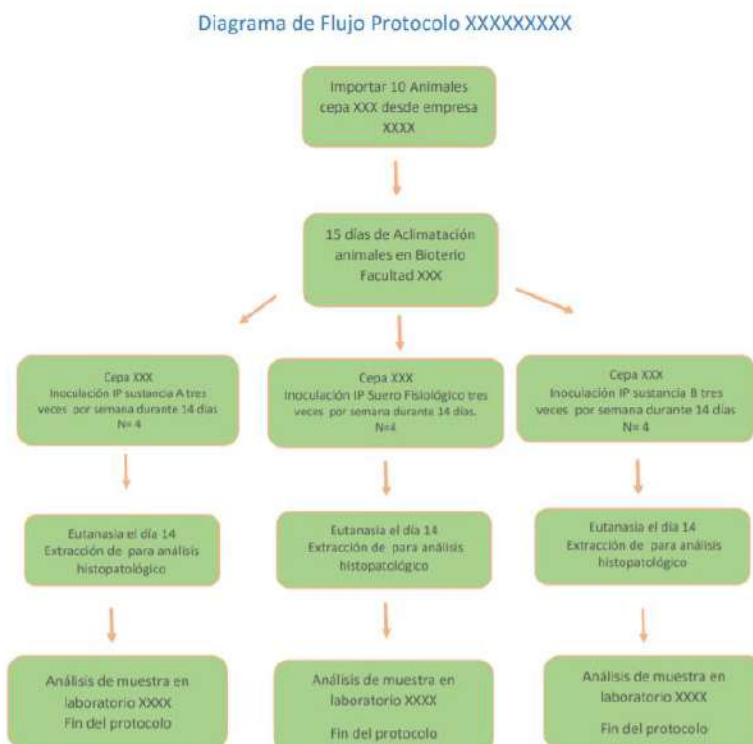
### 3.2. DIAGRAMA DE FLUJO

Integre lo explicado en la sección anterior (3.1) en uno o más diagrama(s) de flujo, que incluya los grupos experimentales, controles, tratamientos, tiempos, n de animales, parámetros/variables a analizar, etc. Puede utilizar este link para generar su diagrama: <https://eda.nc3rs.org.uk/>

*Recuerde que su diagrama debe contener el número de animales a utilizar, grupos experimentales y temporalidad. Puede hacer más de un diagrama si lo estima conveniente. Ej.: uno para el diseño que incluya los grupos y otro para el esquema temporal (borre esta instrucción al completar).*

*En esta sección debe incluir un diagrama que describa los procedimientos del diseño experimental. El diagrama debe contener el N de animales por objetivo y temporalidad.*

#### Ejemplo Diagrama



### 3.3. JUSTIFICACIÓN DEL NÚMERO DE ANIMALES

Justifique número de animales (n) a utilizar, incluya el cálculo del tamaño muestral y fundamente si es que existe una excepción. Considere si tendrá un porcentaje de pérdida de animales y justifique. Use Instructivo.

*Justifique el número de animales a utilizar, recuerde incluir el cálculo del tamaño muestral si procede (borre esta instrucción al completar).*

#### **Justificación del Número de Animales**

*Un principio rector para el uso ético de animales en investigación y docencia es que no se desperdicie ninguna vida animal: el número de animales usados en cada proyecto debe ser el mínimo necesario para obtener resultados válidos y con sentido.*

*Todos los animales deben contabilizarse y justificarse, incluyendo animales experimentales, donantes, crías vivas de animales gestantes y animales que se generan en colonias pero que no pueden ser usados para la investigación. Las pérdidas de animales por morbilidad, mortalidad u otras dificultades esperables con los procedimientos experimentales deben ser cuidadosamente descritas para justificar la necesidad de animales adicionales.*

*Las investigaciones deben ser diseñados para producir un resultado significativo con el mínimo número de animales, por lo que el método para determinar este número debe estar claramente precisado. En la mayoría de los casos las técnicas estadísticas y/o cálculo de la potencia estadística (Power Analysis) son adecuados para maximizar el análisis de los datos generados por cada animal. Sin embargo, hay que reconocer que la base de una justificación adecuada del número de animales depende en gran parte de la naturaleza del estudio. La experiencia previa y la familiaridad con el modelo pueden también tomarse en cuenta, pero deben ser cuidadosamente documentados en el protocolo.*

*Una consulta con un estadístico o el uso de un programa estadístico durante la etapa de diseño puede ser útil. Uno de los sitios que pueden apoyar en el cálculo de la potencia estadística (Power Analysis) es el siguiente <http://statpages.info/>*

*A continuación, se detallan 5 tipos de estudios, junto a guías para justificar el número de animales para cada tipo. Estas guías proveen apoyo, pero un estudio puede no calzar precisamente en una de las 5 categorías.*

**Protocolos docentes:** *El número de animales está determinado por el índice del número de estudiantes, el que debe explicarse en la descripción de la justificación. Considere minimizar el número de animales sin sacrificar la calidad de la experiencia directa para los estudiantes.*

**Recolección de tejidos para estudios in vitro (incluyendo generación de anticuerpos):** *El número de animales debe estar determinado por la cantidad total de tejido requerido y rendimiento que provee un animal. Explicar y justificar detalladamente de cómo se calculó el número requerido.*

**Estudios pilotos que no requieren análisis estadístico (uso de animales para determinar éxito o fracaso de un objetivo, como la generación de animales transgénicos):** *El número de animales debe justificarse según la estimación de éxito del procedimiento experimental, lo que debe detallarse en la descripción.*

**Estudios piloto:** *El número de animales está determinado por la experiencia y el criterio personal del investigador y son típicamente pequeños. Los datos recolectados en los estudios pilotos son generalmente empleados para determinar el tamaño muestral de experimentos futuros.*

*Estudios que requieren análisis estadístico inferencial: Si es posible, el número de animales debe ser determinado por un análisis estadístico de poder; la justificación debe incluir los valores de alfa, beta, sigma y el efecto de tamaño usado en el análisis de poder para determinar el tamaño muestral. Alternativamente, el número mínimo de animales puede ser determinado por referencias a estudios comparables en que los tamaños deseables demostraron significancia estadística.*

**NOTA:** *El número de animales no puede justificarse por el número de experimentos que el personal del laboratorio puede realizar en una semana, mes, etc.*



*El presente texto ha sido adaptado de University of California Office of Research <https://research.uci.edu/compliance/animalcare-use/protocol-writing-tips-andguidance/justify-numbers.html#justify2>*

*Actualización junio 2020 CEC para el Cuidado de Animales y Ambiente. PUC*

#### SECCIÓN 4. USO DE ANIMALES

Tipo	Animal de laboratorio	Animal de granja	Animal silvestre*	Animal de compañía	Otro(s) (detalle)
Marcar con una X					

\*Si no sabe que especie muestreará, indique cuales son las especies más comunes que podría encontrar y cuáles de ellas son protegidas.

##### 4.1. DETALLE DE ANIMALES A UTILIZAR POR OBJETIVO

Indique el número de animales a utilizar según especie, cepa, peso, sexo y estado de desarrollo. Verifique que sea coherente con el diagrama de flujo.

Objetivo	Especie / Cepa	Edad / Estado de desarrollo	Peso	Sexo	Número a utilizar	Estado de conservación de la especie	Autorización SAG/ Sernapesca/otro
1	<i>Ej: Mus musculus/C57B L/6</i>	<i>Ej: 8 semanas, E7, adulto</i>	<i>Ej: 20 gr</i>	<i>Ma- cho  Hem- bra</i>		<i>Indique: en peligro / vulnerable/rara/N/A  Si no corresponde a una especie protegida, indique No aplica (NA). Generalmente esta pregunta aplica para los animales silvestres.</i>	<i>Indique: Si/No/ En trámite/N/A  Generalmente esta pregunta aplica para los animales silvestres.</i>
2							
3							
<b>*Número TOTAL A UTILIZAR = <i>Suma total, separar por especie.</i></b>							

... Agregue más filas si requiere

\*Si usted está cambiando el n en una enmienda, agregue espacio en esta fila y escriba cuáles eran los números originales y los enmendados.

##### 4.2. JUSTIFICACIÓN DEL USO DE ANIMALES versus modelos alternativos:

*Justifique por qué requiere usar animales (borre esta frase al completar)*

...



*Justifique por qué los métodos alternativos existentes en la actualidad no logran responder la pregunta de investigación, haciendo necesario el uso de animales.*

*Las siguientes son bases de datos donde podrá buscar si existe o no una alternativa al uso de animales en el marco de su investigación*

*<http://cidportal.jrc.ec.europa.eu/ftp/jrc-opendata/EURL-ECVAM/datasets/DBALM/LATEST/online/dbalm.html>*

*<https://www.nlm.nih.gov/enviro/altbib.html>*

*<https://www.nal.usda.gov/awic/alternatives-literature-searching>*

#### 4.3. JUSTIFICACIÓN DE ESPECIE(S) a utilizar:

*Justifique por qué requiere usar la especie en particular (borre esta frase al completar)*

...

*Justifique basándose en las respuestas que le dará el uso de esta especie en particular. Además, explique las diferencias con otros modelos animales que puedan dar similares respuestas.*

*El costo del animal no debe ser considerado como una justificación primaria para usar una especie o modelo particular.*

#### 4.4. ORIGEN Y MANTENCIÓN DE LOS ANIMALES:

<p><b>a) Origen de los animales:</b></p>	<p>...</p> <p><i>Indique de donde provienen los animales. Ej: The Jackson Laboratory, Bioterio CIBEM, donación de otra institución (especifique).</i></p>
<p><b>b) Indique si realizará transporte de animales dentro de la institución, de una institución a otra, desde terreno (campo) a una institución. Describa desde y hasta donde, así como el medio y condiciones de transporte:</b></p>	<p>...</p> <p><i>En este casillero debe ingresar la información respecto a cómo realizará el transporte de los animales ya sea dentro de la institución, desde una institución a otra, desde el estudio en terreno hasta nuestra institución o viceversa. Indicar las características del medio de transporte, tiempo que demora este proceso, número de animales a transportar, indique también si serán transportados en jaulas, cajas o recipientes de plásticos (el medio debe ser adecuado para la especie) si cuentan con ventilación, etc.</i></p> <p><b><i>Puede acceder al instructivo de transporte para roedores generado por el CEC.</i></b></p> <p><i>En caso de requerirlo, consulte el siguiente link:</i> <b><i><u><a href="#">Instructivo traslado de roedores de experimentación.</a></u></i></b> <b><i><u><a href="#">Welfare of Animal During transport</a></u></i></b></p>
<p><b>c) Lugar de mantención de los animales durante el desarrollo del protocolo:</b></p>	<p>...</p> <p><i>Indique el lugar donde mantendrá los animales durante la ejecución de su proyecto.</i></p>





d) Nombre y correo electrónico del encargado del lugar de mantención de los animales:	...		
e) ¿Posee usted una carta o email de autorización del uso de animales del encargado del recinto? Marcar con una X  Toda/o investigador/a debe contactar al encargado del recinto para una <u>asesoría de factibilidad</u> .	<input type="checkbox"/>	SI	No olvide adjuntarla
	<input type="checkbox"/>	En trámite	Recuerde adjuntarla para la próxima ronda de revisiones
	<input type="checkbox"/>	NO	Debe iniciar este trámite tan pronto como sea posible, pues es requisito para la aprobación del protocolo
	<input type="checkbox"/>	N/A	Si no aplica o no puede obtenerla, justifique: ...
d) En los bioterios es obligatorio el uso de enriquecimiento ambiental. En caso de no utilizar o decidir utilizar elementos distintos, describa y justifique. Si no aplica, escriba N/A.	... <i>En los bioterios de roedores se utiliza enriquecimiento ambiental para todos los animales, por ejemplo, papel tissue, conos de cartón, etc. Si indicará el uso de elementos distintos o no va a utilizar, debe entregar una justificación.</i>		
e) Densidad animal (número de animales por jaula, corral, recinto, indique también las dimensiones de estas: área de piso/animal y altura).	... Esto sólo debe ser completado por quienes desarrollan investigación fuera de los bioterios UC  <i>Links de interés:</i> <b><u>Densidades apropiadas para ratas y ratones</u></b>  <b><u>Directiva Europea 2010</u></b> <b><u>Guide For The Care and Use of Laboratory Animals (ed. 2011)</u></b>		
f) Lugar de procedimientos y ubicación física del lugar de procedimientos: (si es fuera del bioterio, indique nombre y contacto del encargado)	... Indique el lugar donde realizará los procedimientos con animales. Ej: sala de cirugía CIM, sala de procedimientos Bioterio FCB.  <i>Ej. "Laboratorio de neurofisiología", 3er piso, Edificio XX.</i> <i>Encargado: John Doe, Lab manager, jdoe@uc.cl</i>		
g) Método(s) de Identificación del animal, marcar con una X:	<input type="checkbox"/>	Marcador	<input type="checkbox"/> Otro (describa)
	<input type="checkbox"/>	Muesca oreja	

#### 4.5. USO o GENERACIÓN DE ANIMALES GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

Marcar con una X. Si no aplica, marque o escriba N/A.

<input type="checkbox"/>	Uso	<input type="checkbox"/>	Generación	<input type="checkbox"/>	N/A
a) Describa genotipo y fenotipo de los animales genéticamente modificados a utilizar, y la temporalidad de aparición de signos/síntomas:					
...					





*Indique el genotipo y fenotipo del animal genéticamente modificado. Ej., Genotipo ratón B6.129P2-Il10<sup>tm1Cgn</sup>/J .  
Fenotipo: no produce la citoquina IL-10 y presenta colitis espontánea, la que generalmente se manifiesta desde las 6 semanas de edad.*

**b) Indique el tipo de cruzamiento (refiérase al genotipo parental) utilizado para generar los animales:**

...

*Ej. Homocigoto x Heterocigoto, se espera X % del genotipo X (el deseado) en la descendencia.*

## SECCIÓN 5. PROCEDIMIENTOS A REALIZAR CON LOS ANIMALES

### 5.1. PERSONAL AUTORIZADO

**Complete el siguiente Listado de Personas Autorizadas para el Manejo de Animales.** Si incluye personal con experiencia en manejo animal, adjunte certificaciones. Si planea reclutar personal, pero aún no lo ha hecho, identifíquelo como NN e indique qué capacitación debería tener. Recuerde que toda nueva inclusión de personal debe ser informada al comité mediante una enmienda antes de que la persona comience su trabajo con animales.

#### LISTADO DE PERSONAS AUTORIZADAS PARA EL MANEJO DE LOS ANIMALES

<b>Nombre:</b>		
<b>Función y técnicas a realizar en este protocolo:</b>	<i>Indique las funciones relacionadas con el manejo de animales a realizar en este protocolo: Ej. Quirúrgicas, supervisión de los animales, administración de compuestos. Indique también las técnicas a realizar específicas para este protocolo, ej: cirugía estereotáxica, inyecciones intraperitoneales, etc.</i>	
<b>Experiencia en manejo animal. Marcar con X:</b>	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO
<b>Si indico "SI", mencione quién lo capacitó y los años de experiencia en las funciones y técnicas a realizar en este protocolo:</b>	<i>Describir los años de experiencia y las técnicas que maneja: quirúrgica, sexado, inyecciones IP, EV. Supervisión de animales, etc; así como el/los responsables de su capacitación.</i>	
<b>Si indicó "NO, indique quién lo capacitará en las funciones y técnicas a realizar en este protocolo:</b>	<i>Indique quién será el encargado de capacitar, el tiempo que invertirá y las técnicas en las que será capacitado(a). Si aún no puede especificar, explique. Recuerde que los médicos veterinarios encargados de los bioterios pueden realizar estas capacitaciones.</i>	

**Copie y complete esta tabla para cada integrante del equipo de investigación asociado a este protocolo que manejará animales.**

### 5.2. PROCEDIMIENTOS NO QUIRÚRGICOS

Detalle los procedimientos NO QUIRÚRGICOS, incluyendo aquellos realizados bajo anestesia. Ejemplos: administración de sustancias, test de comportamiento, diferentes tipos de dieta, métodos de sujeción o inmovilización, condiciones de temperatura, estudios de supervivencia, lavado broncoalveolar, etc.

...

*Deberá describir detalladamente los procedimientos no quirúrgicos, desde que se inicia hasta que finaliza el estudio. En caso de utilizar un procedimiento estándar (POE) aprobado previamente por el CEC-CAA, mencionar número de aprobación y adjuntar como anexo. Recuerde que para el comité es necesario que cada protocolo sea auto-explicativo: en vez de sólo nombrar un protocolo anterior en el que utilizó el mismo procedimiento, copie aquí la descripción que corresponda.*

*Detalle las condiciones de mantención de los animales durante y entre los procedimientos no quirúrgicos a realizar. Por ejemplo, si va a realizar la prueba de water maze, indique en qué lugar mantendrá a los animales durante esta prueba, bajo qué condiciones de temperatura y humedad, si utilizará medidas de apoyo, etc.*

**5.2. a) EXTRACCIÓN DE SANGRE.** En caso de extracción de sangre complete la siguiente tabla:

Sugerimos visitar: <https://www.nc3rs.org.uk/3rs-resources/blood-sampling>

Especie	Vía	Volumen a extraer cada vez	Frecuencia	Calibre aguja	Responsable

... Agregue más filas si requiere

Como referencia del volumen de sangre a extraer según especie, revise el Instructivo.

**Toma de muestra de sangre.**

*El volumen de sangren a extraer está determinado tanto por los requerimientos experimentales, y por el límite que nos asegure que no se le causará daño al animal. Como regla general, se deberá extraer el menor volumen posible, para que este procedimiento clasifique como de severidad leve no se deberá extraer más del 10% del volumen de sangre en una sola vez y menos del 15% del volumen de sangre podrá ser extraído en un periodo de 30 días.*

*Los animales poseen aproximadamente 70 ml de sangre por Kg de peso, esto varía según la especie (ver tabla 1 A y B), y la extracción de volúmenes menores puede generar efectos perjudiciales si el animal se encuentra de algún modo comprometido. La extracción de volúmenes mayores puede generar efectos menores si es que se realiza un reemplazo del volumen extraído.*

*El volumen máximo de sangre a extraer, así como su frecuencia deberá quedar estipulado en el protocolo experimental.*



**TABLAS REFERENCIALES QUE PUEDEN SERVIR COMO GUÍA:**

**Tabla 1A**

Especie	Peso de referencia	Volumen sanguíneo (ml/kg)	Volumen total de sangre en adulto (ml)	Volumen seguro de extraer en una sola vez (ml)*	Volumen de exanguinación (ml)
Ratón	18-40 g	58.5	M 1.5-2.4 H 1.0-2.4	0.1-0.2	M 0.8-1.4 H 0.6-1.4
Rata	250-500 g	54-70	M 29-33 H 16-19	M 2.9-3.3 H 1.6-1.9	M 13-15 H 7.5-9
Cobayo	700 g-1,2 kg	69-75	M 59-84 H 48-63	M 6-8 H 5-6	M 29-42 H 24-31

\* Una sola extracción de sangre de 10 % del volumen de sangre, promedio 7ml/kg.

**Tabla 1B**

Especie	Volumen sanguíneo (ml/kg)	Volumen total de sangre en adulto (ml)	Volumen seguro de extraer en una sola vez (ml)*
Cerdo Large white	56-69	13.200-15.000	1320-1500
Cerdo Yucatan	56-69	4.200-4.800	420-480
Oveja	58-64	4060-4480	400-450
Cabra	57-90	3990-6300	400-630
Bovino	60	27.000-36.000**	2700-3600

\* Una sola extracción de sangre de 10 % del volumen de sangre

\*\* Se asume un peso adulto de 450-600 kg.

**Tabla 1 (A)** Volúmenes de extracción de sangre para animales de laboratorio. **(B)** Volúmenes de extracción de sangre en animales mayores. Toda la información fue extraída de "Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare. Sarah Wolfensohn and Maggie Lloyd. Fourth Edition (2013)."

**SI VA A REALIZAR EXTRACCIONES REPETIDAS DE SANGRE RECOMENDAMOS UTILIZAR de referencia el artículo: Diehl et al., 2001: A Good Practice Guide to the Administration of Substances and Removal of Blood, Including Routes and Volumes. [LINK](#).**

5.2. b) ADMINISTRACIÓN DE COMPUESTOS, EXCEPTO anestésicos, analgésicos y relacionados, los que se solicitarán en SECCIÓN 6 de Bienestar Animal. Es decir, en esta tabla incluya por ejemplo: dieta, alcohol, microorganismos, virus, fármacos, etc.						
Identifique el Compuesto	...	...	...	...	...	...
Producto farmacéutico terminado, marcar con una X:	SI	SI	SI	SI	SI	SI
	NO	NO	NO	NO	NO	NO
	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A



<b>Presentación farmacéutica:</b>	<i>Comprimido, solución, liofilizado, ungüento, vacuna, otro (explique si elige otro)</i>				
<b>Indique dosis letal 50 (cite referencia o link en <a href="http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov">pubchem.ncbi.nlm.nih.gov</a>. Si no puede obtenerla, explique:</b>					
<b>Indique cómo se prepara el compuesto:</b>	<i>No requiere preparación, preparado según indicaciones de fábrica, preparación propia (en este caso cómo lo preparará)</i>				
<b>Dosis:</b>	<i>Entregue la dosis en mg por kg del compuesto a administrar.</i>				
<b>Vía:</b>	<i>Indique la vía de administración del compuesto: Oral, IV, IP, SC, ID, etc.</i>				
<b>Volumen:</b>	<i>Volumen del producto a administrar por vez.</i>				
<b>Frecuencia de administración:</b>	<i>Ej. una vez por semana, una vez al día, una vez en todo el protocolo, etc.</i>				



<b>Duración tratamiento:</b>	<i>Ej. un mes, una semana, un día, etc.</i>				
<b>Responsable administración del compuesto:</b>	<i>Nombre del responsable de la administración del compuesto. Asegúrese de que esta persona cuente con la capacitación respectiva</i>				

Indique la fuente (bibliografía u otra) en la cual se basó para la elección de los compuestos indicados arriba, o justifique la elección del método:

...

*En esta sección debe indicar la bibliografía consultada para la elección de los compuestos a utilizar, si la elección no se basó en la bibliografía, detalle de dónde proviene y el porqué de su elección.*

**TABLAS REFERENCIALES QUE PUEDEN SERVIR COMO GUÍA:**

**Volúmenes adecuados de administración según vía y especie**

*Administración de volúmenes para animales de laboratorio*

<b>Especie</b>	<b>Peso de referencia</b>	<b>Intravenosa o Intra-arterial (ml)</b>	<b>Intra-peritoneal (ml/sitio)</b>	<b>Intra-muscular (ml/sitio)</b>	<b>Subcutáneo (ml/sitio)</b>	<b>Oral (ml)</b>	<b>Intra-dérmica (ul/sitio)</b>
<i>Ratón</i>	<i>20 g</i>	<i>0,2</i>	<i>1-2</i>	<i>0,05</i>	<i>0,5 *</i>	<i>0,4</i>	<i>100</i>
<i>Rata</i>	<i>250 g</i>	<i>1</i>	<i>2-4</i>	<i>0,1</i>	<i>1-2 *</i>	<i>5</i>	<i>100</i>
<i>Cobayo</i>	<i>500 g</i>	<i>1</i>	<i>5-7</i>	<i>0,1</i>	<i>1-2 *</i>	<i>5</i>	<i>100</i>

***Nota: Los valores han sido calculados según el tamaño promedio de la especie. Ajuste si es necesario para el peso específico de cada individuo.***

*\* Máximo de 4 sitios.*

*Calibre de agujas recomendadas para el trabajo con animales de laboratorio (G)*

<b>Especie</b>	<b>Intraperitoneal</b>	<b>Intramuscular</b>	<b>Intravenoso</b>	<b>Subcutáneo</b>
<b>Ratón</b>	<b>27</b>	<b>29-30</b>	<b>27-28</b>	<b>25</b>
<b>Rata</b>	<b>23-25</b>	<b>25</b>	<b>25-27</b>	<b>25</b>
<b>Cobayo</b>	<b>21-25</b>	<b>25</b>	<b>25-27</b>	<b>23-25</b>
<b>Oveja</b>	<b>19-21</b>	<b>21</b>	<b>19-21</b>	<b>19-21</b>

<b>Especie</b>	<b>Sitio</b>	<b>Calibre (gauge)</b>	<b>Largo</b>
<b>Rata</b>	<i>Vena de la cola</i>	24-25	12-19 mm
<b>Cerdo</b>	<i>Vena de la oreja</i>	21-23	25-40 mm
<b>Ovejas, cabras, bovinos</b>	<i>Vena yugular</i>	19-21	40 mm

**Información fue extraída de “Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare. Sarah Wolfensohn and Maggie Lloyd. Fourth Edition, 2013.”**

<b>5.3. PROCEDIMIENTOS QUIRÚRGICOS</b>			
Escriba aquí el detalle procedimientos quirúrgicos a realizar: Sugerimos visitar <a href="https://module.researchanimaltraining.com/nc3rs/21-3/#/">https://module.researchanimaltraining.com/nc3rs/21-3/#/</a>			
...			
<i>Realice una descripción de cada procedimiento quirúrgico que realizará en los animales desde que se inicia hasta que finaliza el estudio. Indique cómo controlará la profundidad anestésica antes de comenzar el procedimiento. No olvide incluir el monitoreo intraoperatorio, mencionando qué parámetro(s) controlará. Indique quién será el responsable de realizar cada procedimiento. Recuerde que para el comité es necesario que cada protocolo sea auto-explicativo: en vez de sólo nombrar un protocolo anterior en el que utilizó el mismo procedimiento, copie aquí la descripción que corresponda. En caso de utilizar un procedimiento estándar (POE) aprobado previamente por el CEC-CAA, mencionar número de aprobación y adjuntar como anexo.</i>			
<b>a) Indique las medidas de apoyo intraoperatorio. Marcar con una X.</b>	<input type="checkbox"/>	<b>Suero</b>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<b>Calor (indique cómo lo proporcionará): ...</b>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>		<b>Ungüento oftálmico</b>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>		<b>Otro (indique): ...</b>	<input type="checkbox"/>
<b>b) Métodos de asepsia durante la cirugía:</b>	<i>Describa método de asepsia a utilizar previo y durante la cirugía, ejemplos: Guantes estériles, paños de campo e instrumental quirúrgico estériles, alcohol al 70%, solución de clorhexidina, etc.</i>		
<b>c) Número de animales a operar/procesar por día y duración estimada de la cirugía/intervención:</b>	<i>Indique cuántos animales someterá a cirugías por día. Puede considerar estandarización de técnicas quirúrgicas, previo al desarrollo del experimento, de modo de verificar si la(s) técnica(s) quirúrgicas y cuidados post operatorios son los adecuados. Si decide realizar esto, debe indicarlo dentro de la sección 3.1. y considerar el número de animales necesarios.</i>		
<b>d) Describa procedimientos post-mortem. Recuerde que la asepsia es igual de importante.</b>	<i>Explique brevemente procedimientos “quirúrgicos” post-mortem si procede, incluyendo medidas de asepsia.</i>		
<b>e) Condiciones del lugar donde se efectuará el procedimiento quirúrgico.</b>	<i>Indique las condiciones del lugar donde realizará las cirugías. Control de temperatura, si la superficie donde la realizará es lavable, desinfectable. Mencione con qué equipamiento e instrumental cuenta para ejecutar el procedimiento de forma eficiente y aséptica.</i>		



<p>f) Si el o los procedimientos(s) quirúrgico(s) incluye(n) supervivencia del animal, defina la duración y cuidado del periodo postoperatorio inmediato y mediato. Indique la frecuencia de los cuidados. Identifique a la persona responsable.</p>	<p><i>Luego del procedimiento quirúrgico, se deben entregar una serie de cuidados post operatorios para asegurar la sobrevida y bienestar del animal. En esta sección debe detallar cuáles serán estos cuidados, frecuencia, duración e identificar a la persona encargada de ellos.</i></p>
<p>g) Indique si los animales a utilizar han sido previamente sometidos a algún procedimiento invasivo o quirúrgico o serán sometidos a procedimientos quirúrgicos más de una vez. En caso afirmativo, indique intervalo de tiempo entre las cirugías.</p>	<p><i>Si lo animales a utilizar en su estudio ya han sido sometidos a un procedimiento, y usted los va a reutilizar, debe indicar a cuáles procedimientos fueron sometidos anteriormente. La reutilización de animales se permitirá sólo si, las severidades de procedimientos anteriores fueron leves a moderados, el procedimiento actual es leve a moderado o sin recuperación y se cuenta con asesoramiento veterinario.</i></p>

**5.4. FECHA PROBABLE DE INICIO** de los procedimientos con animales: (debe incluir Carta Gantt)

...

*En esta sección debe indicar la fecha probable de inicio de los experimentos con animales. Esta pregunta es relevante, ya que el bioterio debe contar con esta información para disponer del espacio suficiente donde mantener a los animales de los distintos proyectos. La Carta Gantt permitirá al comité organizarse para realizar los seguimientos al proyecto.*

**SECCIÓN 6. BIENESTAR ANIMAL**

**6.1. IMPACTO EN EL BIENESTAR ANIMAL**

Indique qué grado de compromiso del bienestar general se espera considerando los procedimientos, especie, estado fisiológico y/o fenotipos de los animales en las condiciones experimentales y qué acciones tomará.

...

*Es imperativo evitar todo dolor y sufrimiento innecesario en cada animal que participa en un estudio científico. Toda manipulación que provoque dolor o aflicción del (de los) animal(es), debe justificarse en forma sólida y detallada. Especifique acciones tales como analgesia y/o aumento de supervisión, u otras medidas específicas que requiera su modelo de estudio. Considere también la hidratación adecuada y la utilización de suero, a la temperatura apropiada, así como suplementos nutricionales en animales que puedan requerirlo.*

*intervenciones para aliviar los procedimiento dolorosos, estresantes, Ej. uso de analgésicos, antiinflamatorios, reconsiderar o re evaluar cómo se están realizando los procedimientos en los animales. En aquellos protocolos en los que se requieren ejecutar procedimientos quirúrgicos, el contar con personal especializado en las técnicas quirúrgicas a realizar representa una forma de refinamiento, lo que se traducirá en menor sufrimiento animal, evitando el riesgo de deterioro del animal y la consiguiente pérdida de datos.*

*Por Ej. si su proyecto contempla la infección con un microorganismo, considere cuáles serían los efectos de éste sobre el animal, y qué medidas tomará para disminuir al máximo el sufrimiento. Si lo anterior no ha sido descrito, debiese considerar entonces la **realización de un piloto.***

*Ejemplos de Criterios de Morbilidad*





<b>Criterios de morbilidad y acción que se tomará</b>	
<b>PARAMETRO A EVALUAR</b>	<b>ACCIÓN A TOMAR</b>
<i>Pelo hirsuto</i>	<i>Aumentar supervisión. Consultar al Médico Veterinario (MV).</i>
<i>Separación del grupo</i>	<i>Aumentar supervisión. Consultar al Médico Veterinario (MV).</i>
<i>Pérdida de peso</i>	<i>Aumentar supervisión. Consultar al MV.</i>
<i>Descarga ocular</i>	<i>Consultar al MV.</i>
<i>Letargia</i>	<i>Aumentar supervisión. Consultar al MV</i>
<i>Dorso arqueado</i>	<i>Consultar MV. Considerar analgesia. Aumentar supervisión.</i>
<i>Movimientos espasmódicos o contracciones nerviosas</i>	<i>Consultar MV. Considerar analgesia. Aumentar supervisión.</i>
<i>Inapetencia</i>	<i>Consultar MV. Facilitar alimentación, entregar alimento palatable. Aumentar supervisión.</i>
<i>Ataxia</i>	<i>Consultar MV. Aumentar supervisión.</i>
<i>Tremor</i>	<i>Consultar MV. Aumentar supervisión</i>
<i>Ulceración (tumor, herida operatoria, sitio inyección)</i>	<i>Consultar MV. Aumentar supervisión</i>
<i>Infección (tumor, herida operatoria, sitio inyección)</i>	<i>Consultar MV. Aumentar supervisión</i>
<i>Diarrea</i>	<i>Consultar MV. Hidratar Aumentar supervisión.</i>
<i>Pérdida de equilibrio y movimientos espasmódicos.</i>	<i>Consultar MV. Considerar analgesia. Aumentar supervisión.</i>
<i>Cambio en la frecuencia respiratoria (lenta, superficial, rápida, laboriosa/ trabajosa)</i>	<i>Consultar MV. Aumentar supervisión.</i>

*Extraído del protocolo utilizado por el IACUC del Instituto del Cáncer Roswell Parck, versión año 2010.  
Adaptado por el CEC-CAA el año 2020.*

***Para reducir el sufrimiento animal durante los procedimientos, le sugerimos seguir el siguiente hipervínculo.  
<http://www.procedureswithcare.org.uk/>***

## 6.2. SUPERVISIÓN

Indique frecuencia y periodo de supervisión de los animales en caso de ser requerido. Recuerde esta información también debe quedar establecida en la pauta de supervisión de los animales.

Sugerimos visitar: [http://cbctraining.ncl.ac.uk/eM-EU5/story\\_html5.html](http://cbctraining.ncl.ac.uk/eM-EU5/story_html5.html)

...

*Anexe la (s) pauta(s) de supervisión de los animales: ésta deberá ser ESPECÍFICA (aplicable a la condición experimental de cada modelo animal propuesto). Para tener acceso a los ejemplos de pauta de supervisión abra el siguiente hipervínculo [Pautas de supervisión](#)*

*La **pauta de supervisión** permite cuantificar, mediante la medición de ciertos indicadores de bienestar, el efecto del tratamiento realizado a los animales, así como detectar en forma temprana signos de anormalidad que pueden ser producto, o no, de la manipulación experimental. Esto permite definir puntos finales humanitarios cuando un animal se deteriora, permitiendo retirarlo a tiempo del experimento y rescatar información que, de morir el animal, se podría perder. Existen numerosas pautas de supervisión, éstas deben ser elegidas o generadas, de acuerdo a los procedimientos a realizar durante su protocolo. Es así como, un protocolo en el que se realizarán cirugías, deberá contar entre sus indicadores la evaluación del estado de la herida. En cambio, un protocolo donde sólo se realicen pruebas de comportamiento, sin intervención quirúrgica, no requerirá la medición de este indicador sino de otros más adecuados al procedimiento realizado en el animal.*



**Esta pauta debe adjuntarse al protocolo para ser evaluada por el CEC.**  
En campo que sigue se entrega acceso a los ejemplos de pauta de supervisión a través de hipervínculos.

<b>¿Anexa la (s) pauta(s) de supervisión de los animales o no aplica?, marcar con una X</b>  Recuerde esta pauta deberá ser ESPECÍFICA, es decir, aplicable a la condición experimental de cada modelo animal propuesto. Revise LINK: <a href="#">Ejemplos PAUTAS DE SUPERVISION</a>		SI
		NO
		N/A

### 6.3. ANESTESIA Y ANALGESIA

Indique los compuestos que utilizará para inducir anestesia, analgesia y otros cuidados paliativos, es decir, incluya antiinflamatorios, tranquilizantes y sedantes.

Sugerimos visitar

<https://www.flairelearning.com/eModule/21-2/#/>

[http://cbctraining.ncl.ac.uk/eM-EU20/story\\_html5.html](http://cbctraining.ncl.ac.uk/eM-EU20/story_html5.html)

<https://module.researchanimaltraining.com/nc3rs/21-5/#/lessons/WNkSJdJlJU4LWEP-ABE2R0ZcsxdMsuJcN>

Anestésicos	Dosis	Vía	Volumen	Frecuencia	Duración tratamiento	Procedimiento en que se utilizará
<i>Ej. Isoflurano</i>	<i>4-5% inducción</i>	<i>Inhalatoria</i>		<i>1 vez</i>	<i>1-3 minutos</i>	<i>Cirugía implante de bomba osmótica</i>
<i>Ej. Isoflurano</i>	<i>1-2 % mantención</i>	<i>Inhalatoria</i>		<i>1 vez</i>	<i>30 minutos</i>	<i>Cirugía implante de bomba osmótica</i>

Analgésicos y/o antiinflamatorios	Dosis	Vía	Volumen	Frecuencia	Duración tratamiento	Procedimiento en que se utilizará
<i>Ej. Ketoprofeno</i>	<i>5 mg/kg</i>	<i>SC</i>	<i>0,5 ml</i>	<i>1 vez</i>	<i>30 minutos</i>	<i>Pre quirúrgico</i>
<i>Ej. Tramadol</i>	<i>20 mg/kg</i>	<i>Oral</i>	<i>1 gota</i>	<i>c/12 hrs</i>	<i>3 días</i>	<i>Post quirúrgico</i>

Sedantes y/o Tranquilizantes	Dosis	Vía	Volumen	Frecuencia	Duración tratamiento	Procedimiento en que se utilizará

... Agregue más filas si requiere

## SECCIÓN 7. EUTANASIA

### 7.1. CRITERIOS DE EUTANASIA COMO PUNTO FINAL HUMANITARIO



Describa el o los criterios para interrupción del trabajo con animales, según lo que dice en pauta de supervisión o si es que hay algún criterio extra a evaluar, en este último caso, recuerde agregarlo como nota a la pauta de supervisión.

...

*En qué momento y bajo qué criterios específicos (indicadores que le permitan percibir el sufrimiento animal) se decidirá interrumpir el experimento para cada animal. Qué acciones tomará para evitar la muerte como punto final. El equipo de investigación debe contemplar los posibles puntos finales humanitarios que se puedan presentar a lo largo de la ejecución del proyecto.*

*En esta sección deberá indicar el **punto final humanitario**, esto se refiere el o los signos que indiquen deterioro progresivo de un animal durante un experimento y que se encuentran cercanos al “punto de no retorno”.*

*El punto final humanitario no significa necesariamente el sacrificio humanitario del animal, sin embargo, en el caso de roedores el deterioro es tan rápido cuando ya aparecen los signos que lo más frecuente es proceder con la eutanasia (en otras especies, existen más posibilidades de intervención). Por eso es importante fijar adecuadamente los potenciales puntos finales humanitarios evitando así que el roedor muera con sufrimiento y realizando una eutanasia oportuna, lo que permite además rescatar la información del animal (ej. muestras de tejido).*

## 7.2. MÉTODO(S) DE EUTANASIA

ETAPA DEL PROTOCOLO	Indique método, dosis y vía de administración	Especie y estado de desarrollo	Persona responsable del procedimiento
<b>Eutanasia por Fin del protocolo</b>	Método:..... Dosis:..... Vía de administración:..... <i>Ej. Sobredosis de anestesia, CO2, Dislocación cervical previa anestesia, decapitación previa anestesia, exanguinación bajo anestesia profunda, sobre dosis de anestesia Ketamina/Xilacina etc. Indicar la dosis a administrar y la vía que utilizará para ello.</i>	Especie y estado de desarrollo: .....	Responsable:.....
<b>Eutanasia por Punto Final Humanitario</b>	Método:..... Dosis:..... Vía de administración:.....	Especie y estado de desarrollo: .....	Responsable:.....

... Agregue más filas si requiere

Indique el método de eutanasia a utilizar **tanto para punto final humanitario como para fin de protocolo**. Puede ingresar a link: [AVMA Euthanasia 2020](#). (American Veterinary Medical Association Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition) y consultar los métodos aceptados por especie.

## SECCIÓN 8. NIVEL DE SEVERIDAD



Complete la siguiente tabla con **cada uno de los procedimientos que realizará en animales, acorde a su nivel de severidad**. Para clasificar en Leve, Moderado y/o Severo guíese por Instructivo. Los procedimientos clasificados como moderados o severos deberán adoptar medidas paliativas como la utilización de analgésicos y el establecimiento de criterios de punto final.

PROCEDI- MIENTOS	LEVE	MODERADO	SEVERO	SIN RECUPERACIÓN
<b>NO- QUIRÚGICOS</b>	<i>Ej. Anote aquí los procedimientos no quirúrgicos que califican como leves. La tabla siguiente le servirá de guía para estimar la severidad del procedimiento.</i>	...	...	...
<b>QUIRÚGICOS</b>	...	...	...	<i>Ej. Anote los procedimientos quirúrgicos a realizar que son sin sobrevida del animal.</i>

**NIVEL DE SEVERIDAD DE LOS PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES**

<b>SIN RECUPERACIÓN</b>
<i>Los procedimientos que se realizan en su totalidad bajo anestesia general de la cual el animal no recuperará la consciencia, deben clasificarse como &lt;&lt;sin recuperación&gt;&gt;.</i>
<b>LEVE</b> <i>(Procedimientos a consecuencia de los cuales los animales es probable que experimenten 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).</i>
<i>Administración de anestesia, salvo para el único propósito de eutanasia.</i>
<i>Estudio farmacocinético donde se administra una única dosis y se recoge un número limitado de muestras de sangre (totalizando &lt; 10% del volumen circulante) y no se prevé que la sustancia cause ningún efecto nocivo perceptible.</i>
<i>Administración de sustancias por vía subcutánea, intramuscular, intraperitoneal, por sonda gástrica e intravenosa a través de los vasos sanguíneos superficiales, donde la sustancia solo tiene un efecto leve en el animal, y los volúmenes se encuentran dentro de límites apropiados para el tamaño y la especie del animal.</i>
<i>Aplicación de dispositivos exteriores de telemetría que únicamente causan al animal un debilitamiento menor o una interferencia menor con la actividad y comportamiento normales.</i>
<i>Procedimientos superficiales, por ejemplo: biopsia de oreja y cola, implantación subcutánea no quirúrgica de mini-bombas y transpondedores.</i>
<i>Confinamiento a corto plazo (&lt; 24 horas) en jaulas metabólicas.</i>
<i>Técnicas no invasivas de diagnóstico por imagen en animales (por ejemplo: resonancia magnética), con la sedación o la anestesia apropiada.</i>
<i>Estudios que implican la privación a corto plazo (&lt;24 horas) de compañeros sociales, enjaulado solitario a corto plazo de ratas o ratones adultos.</i>
<i>Alimentación con dietas modificadas, que no cubren todas las necesidades nutricionales de todos los animales, y se prevé que causen una anomalía clínica leve en el periodo de estudio.</i>



<p><i>Inducción de tumores, o tumores espontáneos, que no causen efectos nocivos clínicos perceptibles (ej: nódulos pequeños, subcutáneos, no invasivos).</i></p>
<p><i>Cría de animales genéticamente modificados que se prevé dé lugar a un fenotipo con efectos leves.</i></p>
<p><i>Modelos que exponen al animal a estímulos nocivos que se asocian brevemente con dolor, sufrimiento o angustia leve, y que el animal puede evitar.</i></p>
<p><i>Una combinación de o una acumulación de los siguientes ejemplos de procedimientos puede dar lugar a una clasificación leve:</i></p> <ul style="list-style-type: none"><li><i>.-Evaluación de la composición corporal a través de mediciones no invasivas y restricción mínima.</i></li><li><i>.-Supervisión ECG con técnicas no invasivas con una restricción mínima o nula de animales habituados.</i></li><li><i>.-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.</i></li><li><i>.-Cría de animales genéticamente modificados que no se espera que tengan ningún fenotipo adverso clínicamente perceptible.</i></li><li><i>.-Adición a la dieta de marcadores inertes para seguir el paso del bolo alimenticio.</i></li><li><i>.-Retiro de alimentación durante un periodo inferior a 24 horas, en ratas adultas.</i></li><li><i>.-Ensayos en campo abierto.</i></li></ul>
<p><b>MODERADO</b> <i>(Los procedimientos a consecuencia de los cuales es probable que los animales 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 del estado general de los animales).</i></p>
<p><i>Aplicación frecuente de sustancias que producen efectos clínicos moderados, y/o extracción de muestras de sangre (&gt; 10% de volumen circulante), en un animal consciente en el plazo de 14 días sin reemplazo del volumen.</i></p>
<p><i>Retirada de la alimentación durante 48 horas en ratas adultas.</i></p>
<p><i>Uso de jaulas metabólicas u otros implementos que implican una restricción moderada de movimientos</i></p>
<p><i>Cirugías bajo anestesia general y analgesia y medidas paliativas apropiadas para controlar el dolor o sufrimiento post quirúrgicos, o alteración post quirúrgica de la condición general. Los ejemplos incluyen: Toracotomía, craneotomía, laparotomía o orquiectomía, 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, mini-</i></p>
<p><i>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 (&lt; 5 días).</i></p>
<p><i>Modelos de inducción de tumores, o tumores espontáneos, que se prevé causen dolor o angustia moderados en los que se utiliza analgesia, o que lleven a una interferencia moderada con el comportamiento normal.</i></p>
<p><i>Estudios de determinación de la gama de dosis causante de toxicidad aguda, pruebas de toxicidad crónica/ carcinogenicidad, con puntos finales no letales.</i></p>
<p><i>Producción de animales genéticamente modificados mediante procedimientos quirúrgicos.</i></p>
<p><i>Cría de animales genéticamente modificados, que se espera den lugar a un fenotipo con efectos moderados.</i></p>
<p><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 periodo de estudio.</i></p>
<p><i>Provocar reacciones de escape en las que el animal no pueda escapar o evitar el estímulo, y que se espera den lugar a una angustia moderada.</i></p>



<b>SEVERO</b> (Los procedimientos a consecuencia de los cuales es probable que los animales 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).
Uso de jaulas metabólicas que impliquen una restricción severa de los movimiento durante un periodo duradero (> 48 horas).
Irradiación o quimioterapia con una dosis letal sin reconstitución del sistema inmunitario, o reconstrucción con la producción de la enfermedad de injerto contra huésped.
Ensayo de potencia de una vacuna caracterizada por la alteración persistente del estado del animal, enfermedad progresiva que causa la muerte, asociado con dolor, angustia o sufrimiento moderado duradero.
Ensayos de dispositivos en los que el fracaso pueda causar dolor o angustia severos, o la muerte del animal (ej: dispositivos de reanimación cardíaca).
Intervenciones quirúrgicas y de otro tipo, bajo anestesia general, que se espera den lugar a dolor, sufrimiento o angustia post-operatorio moderados severos o persistentes, o una alteración severa y persistente de la condición general del animal. Por ejemplo: producción de fracturas inestables, toracotomía sin analgesia adecuada, o traumatismo para producir fallo multi-orgánico.
Ensayos de toxicidad en donde la muerte sea el punto final o se prevean muertes y se causen estados fisiopatológicos intensos, (ej: ensayo de toxicidad aguda con una única dosis, DL50).
Reproducción de animales con trastornos genéticos que se espera experimenten una alteración severa y persistente de su estado general, ej: enfermedad de Huntington, distrofia muscular, modelos de neuritis crónica recurrente.
Trasplante de órgano donde es probable que el rechazo del órgano origine angustia o alteración severa del estado general del animal (ej: xenotransplante).
Aislamiento completo durante periodos prolongados de especies gregarias por ejemplo, ratones, ratas, cobayos, perros, bovinos, ovinos, cerdos.
Descarga eléctrica ineludible (ej: para producir indefensión aprendida).
Tensión de Inmovilización para inducir úlceras gástricas o fallo cardíaco en ratas.
Modelos con inducción de tumores, o con tumores espontáneos, que se espera causen enfermedad mortal progresiva, asociada a dolor, angustia o sufrimiento moderado duradero. (ej: tumores que causen caquexia, Natación forzada o pruebas de ejercicio con el agotamiento como punto final.

**Extraído y adaptado del Anexo IX "Clasificación de la severidad de los procedimientos" Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otro fines científicos, incluyendo la docencia.**