

INSTRUCTIVO PARA COMPLETAR EL FORMULARIO

1. DATOS DEL INVESTIGADOR RESPONSABLE DEL PROYECTO

Complete la información correspondiente del responsable del proyecto (Jefe de grupo/Director de tesis, etc.).

2. DATOS DEL PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

Para cada punto, complete la información correspondiente.

3. OBJETIVOS DEL PROCEDIMIENTO

Anote el objetivo general y los objetivos particulares del protocolo en cuestión.

4. ANIMALES A UTILIZAR

4.1 Clasifique su protocolo según el grado de agresión que causa a los animales

Remítase al Anexo A de este instructivo y seleccione la opción correspondiente.

4.2 Identificación de los animales

Indique en cada punto la información correspondiente sobre la/las especie/s a utilizar, el lugar de procedencia de los animales y detalle, cuando corresponda, número de permiso y/o certificados requeridos para la obtención de los animales.

4.3–4.7 Transporte de los animales

Indique las características de traslado de los animales antes del inicio de la experimentación.

4.8 Justificación de la elección de la especie, raza, línea o cepa de animales a utilizar.

Indique las razones científicas o técnicas para utilizar la especie en cuestión y si los animales requieren contar con alguna(s) característica(s) específica(s).

4.9 Declaración de métodos alternativos

Seleccione la opción e indique el motivo por el cual no se plantea aplicar métodos alternativos al procedimiento propuesto. Justifique con bibliografía afín.

4.10 Justificar el tamaño de la muestra

Indique si ha planteado desde un punto de vista estadístico la idoneidad del diseño experimental, el número de animales a utilizar (estadísticamente, trabajos previos del grupo, publicaciones de otros autores o por otros criterios).

5. PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES

5.1 Procedimientos que se emplearán en este protocolo.

Seleccione la(s) opción(es) correspondientes.

5.2 Si algún procedimiento de los seleccionados en el punto anterior ya ha sido presentado y aprobado por el CICUA E PATNOR, consigne el número de protocolo.

5.3 Personas implicadas en el procedimiento

Debe anotar todas las personas que trabajarán con los animales. No olvide incluir al investigador responsable. Especifique cuáles serán las responsabilidades de cada persona en el procedimiento, describiendo las tareas específicas. Ej: atención, manejo, alimentación, supervisión, etc.

Debe indicar si ha cursado el curso introductorio anual dictado por el CICUAE PATNOR. Además, puede ser requerido adjuntar el/los certificado(s) de aprobación del mismo.

5.4 Describa la metodología (procedimientos) que utilizará durante la experimentación; incluya las técnicas de manejo y sujeción de los animales que se realizará durante el(los) experimento(s)

Describa las técnicas a emplear, aunque estas sean rutinarias, durante la experimentación con los animales.

5.5 Administración de productos (principios activos, biológicos, adyuvantes, anestésicos, analgésicos, eutanasicos u otros a utilizar durante el procedimiento experimental).

Seleccione la opción correspondiente. En caso afirmativo, complete la tabla con todos los datos requeridos.

5.6 Indique que parámetros medirá para conocer si el resultado de la anestesia es el correcto

Seleccione la opción correspondiente.

5.7 Técnicas quirúrgicas con sobrevivencia del animal

Describa con detalle los cuidados en el pre y post operatorio del animal.

6. INSTALACIONES

6.1 Ubicación física de la experiencia.

Complete con la información correspondiente.

6.2 Estado de las instalaciones.

Seleccione la opción correspondiente.

6.3 Alojamiento de los animales.

Indique las condiciones de alojamiento: jaulas, corrales, potreros con eléctricos, etc. Detalle, cuando corresponda, las condiciones especiales (temperatura, inmovilización, iluminación, aislamiento, etc.)

6.4 Tiempo de adaptación a las instalaciones experimentales previo al inicio de la experiencia.

Indique el periodo de tiempo de adaptación que tendrán los animales antes de iniciar el procedimiento experimental.

6.5 Supervisión de los animales

Describa aquellas fases del procedimiento en el que se prevea que el animal puede experimentar alteraciones del bienestar, dolor o angustia (durante la sujeción, durante los procedimientos, inmediatamente después de los mismos, durante la recuperación, a largo término) y especifique el momento en que se iniciará el control, la duración y la frecuencia de la supervisión (Ver Anexo B de este instructivo).

7. DESTINO FINAL DE LOS ANIMALES

Seleccione la opción correspondiente. En caso de que el destino final sea eutanasia, describa el método en el punto 7.1 (vea Métodos de eutanasia sugeridos para animales) y la disposición final de los cadáveres en el 7.2. Si el ensayo no se realizase, debe aclarar la disposición de los animales sobrevivientes en el punto 7.2.

7.3 Actuación en caso de manifestarse alteraciones del bienestar, dolor o angustia.

Remítase al Anexo B (punto 4).

7.4 Describa el método de eutanasia que se utilizará en caso de requerirla que estén fuera del diseño experimental (eutanasia no programada).

8. PREVENCIÓN DE RIESGOS LABORALES

Complete con la información correspondiente. Describa para el caso de utilizar agentes de riesgo y detalle las medidas de prevención y elementos de protección a adoptar

DATOS ADICIONALES

Otros elementos vinculados a la utilización de animales en el Proyecto que puedan resultar de interés para su evaluación por el CICUAE.

ANEXO A**CLASIFICACIÓN DE LOS PROTOCOLOS SEGÚN EL GRADO DE AGRESIÓN
QUE CAUSA A LOS ANIMALES****CATEGORIA A**

Experimentos que causan poca o ninguna molestia o estrés. Ejemplos: Experimentos que involucran invertebrados con un sistema nervioso complejo; estudios en vertebrados que incluyen la inmovilización con pericia y durante lapsos breves de los animales con propósitos de observación o examen físico; administración de sustancias no tóxicas por vía oral o parenteral transdérmica intravenosa, subcutánea, intramuscular o intraperitoneal; estudios agudos sin sobrevivencia en los cuales los animales están bajo anestesia profunda y no recuperan la consciencia; Métodos de eutanasia recomendados que están precedidos de inducción rápida de la inconsciencia, tales como sobredosis anestésica, decapitación precedida de sedación o anestesia superficial; lapsos breves de privación de agua y/o alimento equivalentes a los períodos de abstinencia en la naturaleza. Obtención de tejidos para cultivos celulares primarios luego de la eutanasia.

CATEGORIA B

Experimentos que causan estrés o dolor leve o dolor de corta duración. Ejemplos: Estudios en vertebrados que demandan la canulación o cateterización de vasos sanguíneos o cavidades corporales, bajo anestesia; procedimientos de cirugía menor bajo anestesia, tales como biopsias y laparoscopia, inyección por vía intracardiaca o intratorácica; lapsos cortos de inmovilización que van más allá de la simple observación o examen, pero que causan diestrés mínimo; lapsos cortos de privación de agua y/o alimento que exceden los períodos de abstinencia en la naturaleza; experimentos conductuales en animales conscientes que involucran inmovilización estresante de corta duración; estímulos nocivos de los cuales es imposible escapar.

CATEGORIA C

Experimentos que involucran dolor o estrés significativo e inevitable en especies animales vertebradas. Procedimientos que causen anorexia, deshidratación, hiperactividad, postración o somnolencia, aumento de las vocalizaciones y exacerbación de la conducta defensiva-agresiva o mostrar segregación social, aislamiento o automutilación. Ejemplos: Experimentos en vertebrados que involucran procedimientos de cirugía mayor conducidos bajo anestesia general y subsecuente recuperación; inducción de anormalidades anatómicas o fisiológicas que resultarán en dolor o diestrés; aplicación de estímulos nocivos de los cuales sea imposible escapar; lapsos prolongados de inmovilización física (varias horas o más); inducción de estrés conductual, tales como deprivación materna, agresión, interacciones depredador-presa,

procedimientos que causan desorganización sensomotriz severa, persistente o irreversible; el uso de adyuvante completo de Freund; producción de enfermedades por irradiación. Enfermedades infecciosas inducidas experimentalmente que presenten signos clínicos leves y que sean reversibles.

CATEGORIA D

Procedimientos que causen anormalidades clínicas, tales como: cambio evidente de los patrones conductuales o de actitudes, ausencia de acicalamiento, deshidratación, vocalizaciones anormales, anorexia prolongada, colapso circulatorio, letargia extrema, o renuencia a moverse, y signos clínicos de infección sistémica o local avanzada o severa, dolor severo, cercano o por encima del umbral de tolerancia al dolor en animales conscientes no anestesiados. Ejemplos: el uso de relajantes musculares o fármacos paralizantes, tales como la succinil colina y otros compuestos para inmovilización quirúrgica, utilizados sin combinación con anestésicos; quemaduras severas o traumas en animales no anestesiados; Pruebas de toxicidad y enfermedades infecciosas inducidas experimentalmente u otras condiciones cuya culminación es la muerte; intentos para inducir conductas similares a la psicosis; métodos de sacrificio no aprobados por las recomendaciones internacionales tales como la administración de estricnina; estrés severo o terminal.

NOTA: Los experimentos de esta categoría están considerados como altamente cuestionables o inaceptables, cualquiera que sea la significación de los resultados esperados.

ANEXO B

SUPERVISIÓN DE LOS ANIMALES

Control del bienestar de los animales durante el procedimiento:

1. Fases del procedimiento en las que el animal puede padecer dolor, estrés y/o angustia

En este apartado deben detallarse las situaciones en las que a priori se pueda esperar causar dolor, angustia, estrés y/o se comprometa el bienestar del animal. Ejemplos:

a) En el caso de inoculaciones, la/s fase/s en la/s que el animal puede presentar las alteraciones descritas serán:

- El momento de la inoculación si el agente en cuestión es irritante, etc.
- El momento de aparición de los efectos del agente inoculado (drogas cancerígenas, agentes tóxicos etc...)

b) En el caso de protocolos de irradiación:

- Fase en la que pueden presentarse diarreas etc., por efecto de la irradiación
- Fase en la que se prevea el desarrollo de tumores etc.

c) En el caso de generación de líneas de animales transgénicos cuyo genotipo predisponga a padecer alteraciones concretas:

- Edad a la que se prevea la aparición de los síntomas.

Especificar en tiempo, si se conoce, la fase en que se espera la aparición de estos síntomas (ej.; dos semanas post- irradiación, 3 días post-inoculación). Si no es así, la descripción de dicha fase se hará en función de los signos clínicos previstos.

Si se desconoce el potencial del procedimiento en cuestión para comprometer el bienestar del animal, el régimen de supervisión de los animales (tanto la frecuencia como duración e inicio de la misma) deberá ser el adecuado para poder detectar la aparición de dolor, estrés y/o angustia en sus primeras manifestaciones.

2. Protocolo de supervisión del bienestar de los animales

La supervisión de los animales debe realizarse mediante la valoración de ciertos parámetros indicativos del bienestar animal. Puesto que, dependiendo del procedimiento, el bienestar del animal puede verse comprometido de muy distintas maneras, aquí únicamente se especifican

aquellos parámetros "generales" comúnmente utilizados en la descripción del "estado de salud" de ratas y ratones.

Si por la naturaleza del procedimiento (ej.; ensayos de generación de tumores, generación de lesiones determinadas, protocolos de inducción de linfomas, líneas transgénicas que desarrollen patologías concretas) son esperables signos clínicos específicos (aparición de tumores, disnea, caquexia, fiebre, ulceraciones, etc) dichos signos deberán estar incluidos en la supervisión y ser valorados de acuerdo con la gravedad que presenten.

Los parámetros generales a observar son:

- Cambios en peso corporal
- Apariencia física: pilo-erección, posturas indicativas de dolor, etc.
- Comportamiento: aparición de comportamientos estereotipados, agresividad, cambios en comportamiento social, etc.
- Respuesta a estímulos externos
- Signos clínicos:
 - Respiración: normal, laboriosa...
 - Temperatura
 - Temblores
 - Convulsiones
 - Descarga nasal, salivación

3. Control, duración y frecuencia de la supervisión

En función de las alteraciones esperadas y el momento en que se prevea su aparición, detallar:

a) En qué momento se iniciará la supervisión del animal. Ej.;

- caso 1: dos horas después de la inoculación de un agente tóxico cuyos efectos son esperables a partir de ese momento,
- caso 2: 6 semanas tras un protocolo de inducción de linfomas tímicos

b) Duración. Ej.;

- caso 1: durante 4 horas
- caso 2: durante 16-20 semanas

c) Frecuencia. Ej.;

- caso 1: cada 15 min.
- caso 2: una vez por semana

4. Actuación en caso de manifestarse alteraciones del bienestar, dolor o angustia

a) Medidas correctoras previstas

Ejemplos:

- Si aparecen síntomas de dolor (Ej., dolor post-operatorio): detallar si está previsto la utilización de un agente analgésico y cuál sería el apropiado. De no ser así, explicar los motivos por los que no puede aportarse un régimen analgésico.
- Si debido al procedimiento el animal presenta alteraciones que impiden una correcta alimentación (ej.; procedimientos que afectan a la locomoción e incapacitan al animal para acceder a agua y comida): ¿Qué medidas correctoras están previstas?

b) Criterios de punto final

Basándose en los parámetros seleccionados para evaluar la condición del animal hay que determinar en qué momento se procederá a la eutanasia humanitaria del mismo. Para ello, los parámetros observados pueden "cuantificarse" asignando unos valores arbitrarios según la gravedad que presenten.

Por ejemplo, a la hora de valorar la variación de peso corporal, se considera como aceptable una disminución del 5-10%, moderada del 10-20% y substancial > al 20% siendo este último valor el que se tomaría como criterio de punto final. Los valores más difícilmente cuantificables como la postura, piloerección, comportamiento social, etc., pueden valorarse según la escala: 0 si es normal, 1 si el parámetro en cuestión se ve ligeramente alterado, 2 si está afectado, 3 si está muy afectado, tomándose como criterio de punto final el momento en que la suma de dicha puntuación alcance un valor determinado, o la suma de varios valores alcance un valor.

Vgr: si analizamos aspecto general y movilidad, si aparece 3 en algún valor o si la suma de ambos es mayor de 3.

Hay que tener en cuenta que no existe un criterio de punto final adaptable a todos los procedimientos y es el investigador responsable del experimento el que, basándose en observaciones de ensayos piloto o por datos de experimentos similares ya publicados, debe

confeccionar su propio protocolo de determinación de punto final de manera que, por una parte, cumpla la normativa vigente en cuanto a protección de los animales utilizados en experimentación, y por otra se evite la pérdida de datos del estudio.

Para más información sobre criterios de punto final visite la bibliografía en la página del CICUAE CeRBAS:

<http://colaboracion.inta.gob.ar/CICUAE-CERBAS/SitePages/Inicio.aspx>

c) Eutanasia no programada

La eutanasia no programada se refiere al procedimiento por el cual se van a sacrificar aquellos animales que presentan alteraciones que comprometen su bienestar y a los que, según el criterio de punto final elegido, es necesario eliminar.

Remítase a Métodos de eutanasia sugeridos para animales preparados por este comité

(http://colaboracion.inta.gob.ar/CICUAE-CERBAS/Anexos/2016_M%C3%A9todos%20de%20eutanasia%20sugeridos%20para%20animales_CICUAE%20CeRBAS.pdf?Web=1)

Este método de eutanasia puede coincidir o no con el descrito en el apartado 15.1 (Protocolo de eutanasia programada).

Por ejemplo:

- Caso 1: Eutanasia programada = Eutanasia no programada

En un procedimiento de inducción de tumores en el cual todos los animales son sacrificados por dióxido de carbono, tanto los animales de eutanasia programada (por ejemplo animales sacrificados a determinados tiempos para obtención de muestras) como aquellos que deben ser eliminados al aplicarse el criterio de punto final (por ulceración o crecimiento excesivo de un tumor, síntomas respiratorios, etc.).

- Caso 2: Eutanasia programada ≠ Eutanasia no programada

En un procedimiento de inmunosupresión por irradiación y posterior trasplante, puedo tener prevista una eutanasia programada x días post-trasplante por dislocación cervical, y una eutanasia no programada mediante dióxido de carbono para aquellos animales que, siguiendo el criterio establecido de punto final (pérdida de peso por diarreas, etc.) sea necesario eliminar por estar comprometido su bienestar.