

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

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

Sección I: Categorías de severidad

No recuperación:

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

Leve:

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

Moderado:

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

Severo:

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

Sección II: Criterios de atribución

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

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

Los factores relativos al procedimiento deben incluir:

- el tipo de manipulación, el tratamiento,
- la naturaleza del dolor, sufrimiento, angustia o daño duradero causados por (todos los elementos de) el procedimiento, y su intensidad, duración y frecuencia y la multiplicidad de técnicas empleadas,
- el sufrimiento acumulativo en un procedimiento,
- la prevención de la expresión del comportamiento natural incluidas las restricciones en las normas de alojamiento, zootécnicas y de cuidado de los animales.

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

- tipo de especie y genotipo,
- madurez, edad y sexo del animal,
- experiencia de formación del animal en el procedimiento,
- si se reutiliza el animal, la severidad real de los procedimientos anteriores,
- los métodos utilizados para reducir o suprimir el dolor, el sufrimiento y la angustia, incluidos refinamiento de condiciones de alojamiento, zootécnicas y de cuidado de los animales,
 - uso de puntos finales incruentos.

Sección III:

Ejemplos de diversos tipos de procedimiento atribuidos a cada categoría de severidad sobre la base de los factores relativos al tipo de procedimiento

1. Leve:

- a) Administración de anestesia, salvo para el único propósito de sacrificar;
- b) Estudio farmacocinético donde se administra una única dosis y se recoge un número limitado de muestras de sangre (totalizando < 10 % del volumen circulante) y no se prevé que la sustancia cause ningún efecto nocivo perceptible;
- c) Técnicas no invasivas de diagnóstico por imagen en animales (por ejemplo resonancia magnética) con la sedación o la anestesia apropiadas;
- d) Procedimientos superficiales, por ejemplo biopsias de oreja y rabo, implantación subcutánea no quirúrgica de minibombas y transpondedores;
- e) Aplicación de dispositivos exteriores de telemetría que únicamente causan al animal un debilitamiento menor o una interferencia menor con la actividad y el comportamiento normales;
- f) Administración de sustancias por vía subcutánea, intramuscular, intraperitoneal, por sonda gástrica e intravenosa a través de los vasos sanguíneos superficiales, donde la sustancia 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;
- g) Inducción de tumores, o tumores espontáneos, que no causan ningún efecto nocivo clínico perceptible (por ejemplo, nódulos pequeños, subcutáneos, no invasivos);
- h) Cría de animales genéticamente modificados que se prevé que dé lugar a un fenotipo con efectos leves;
- i) Alimentación con dietas modificadas, que no cubren las necesidades nutricionales de todos los animales y se prevé que causen una anomalía clínica leve en el período de estudio;
- j) Confinamiento a corto plazo (< 24 h) en jaulas metabólicas;
- k) Estudios que implican la privación a corto plazo de interlocutores sociales, enjaulado solitario a corto plazo de ratas o ratones adultos de cepas gregarias;

- l) Modelos que exponen al animal a estímulos nocivos que se asocian brevemente con dolor, sufrimiento o angustia leve, y que el animal puede evitar;
- m) Una combinación o una acumulación de los siguientes ejemplos puede dar lugar a una clasificación leve:
 - i) Evaluación de la composición corporal a través de mediciones no invasivas y restricción mínima,
 - ii) Supervisión ECG con técnicas no invasivas con una restricción mínima o nula de animales habituados,
 - iii) Aplicación de dispositivos exteriores de telemetría que no se prevé que causen ningún impedimento a animales socialmente adaptados y que no interfieren con la actividad y el comportamiento normales,
 - iv) Cría de animales genéticamente modificados que no se espera que tengan ningún fenotipo adverso clínicamente perceptible,
 - v) Adición a la dieta de marcadores inertes para seguir el paso de la digesta,
 - vi) Retirada de la alimentación durante un período inferior a 24h en ratas adultas,
 - vii) Ensayos en campo abierto.

2. Moderado:

- a) Aplicación frecuente de sustancias de prueba que producen efectos clínicos moderados, y extracción de muestras de sangre (> 10 % de volumen circulante) en un animal consciente en el plazo de algunos días sin reemplazo del volumen;
- b) Estudios de determinación de la gama de dosis causante de toxicidad aguda, pruebas de toxicidad crónica/carcinogenicidad, con puntos finales no letales;
- c) Cirugía bajo anestesia general y analgesia apropiada, asociada con dolor o sufrimiento posquirúrgicos o alteración posquirúrgica de la condición general. Los ejemplos incluyen: toracotomía, craneotomía, laparotomía, orquidectomía, 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.

3. Severo:

- a) Ensayos de toxicidad en los que la muerte sea el punto final o se prevean muertes y se provoquen situaciones fisiopatológicas intensas. Por ejemplo, ensayo de toxicidad aguda con una única dosis (véanse las directrices de la OCDE sobre ensayos);
- b) Ensayos de dispositivos en los que el fracaso pueda causar dolor o angustia severos o la muerte del animal (por ejemplo, dispositivos de reanimación cardiaca);
- c) Ensayo de potencia de una vacuna caracterizada por la alteración persistente del estado del animal, enfermedad progresiva que causa la muerte, asociada con dolor, angustia o sufrimiento moderados duraderos;
- d) Irradiación o quimioterapia con una dosis letal sin reconstitución del sistema inmunitario, o reconstitución con la producción de enfermedad de injerto contra huésped;
- e) Modelos con inducción de tumores, o con tumores espontáneos, que se espera causen enfermedad mortal progresiva asociada con dolor, angustia o sufrimiento moderados duraderos. Por ejemplo, tumores que causan caquexia, tumores óseos invasivos, tumores que dan lugar a diseminación 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 cardiaco por estrés;
- m) Natación forzada o pruebas de ejercicio con el agotamiento como punto final.

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

- 1- Pertinencia y justificación de lo siguiente:
 - a) utilización de animales, incluso por lo que se refiere a su origen , número estimado, especies y etapas de su vida.
 - b) procedimientos
- 2- Aplicación de métodos para reemplazar, reducir y refinar la utilización de animales en procedimientos.
- 3- Uso previsto de anestésicos, analgésicos y otros medios para calmar el dolor
- 4- Medidas adoptadas para reducir, evitar y aliviar cualquier forma de sufrimiento de los animales a lo largo de toda su vida, cuando así proceda
- 5- Uso de puntos finales incruentos
- 6) Estrategia experimental o de observación y modelo estadístico utilizado para reducir al mínimo el número de animales utilizados, el dolor , sufrimiento, angustia y el impacto medioambiental cuando proceda
- 7- Reutilización de animales y su efecto acumulativo sobre el animal.
- 8- Clasificación propuesta de la severidad de los procedimientos
- 9- Medidas adoptadas para evitar la repetición injustificada de procedimientos cuando sea conveniente
- 10- Condiciones de alojamiento zootécnicas y de cuidado para los animales
- 11- Métodos de sacrificio
- 12- Competencia de las personas que participan en el proyecto

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.