**PROTOCOLO DE MANEJO Y CUIDADOS DE ANIMALES EN INVESTIGACIÓN 2022**

**Instrucciones**

El presente protocolo deberá ser completado en **español** y enviado una vez completo al correo del comitedeetica@usach.cl.

Si alguna de la información solicitada en este protocolo no aplica a su proyecto, no deje los campos sin completar, indique **No Aplica** (**NA**).

Una vez que el Comité de Ética Institucional revise su protocolo, las **observaciones** serán enviadas al correo del Investigador responsable.

Si una vez aprobado el protocolo, este sufre modificaciones, debe enviar una solicitud de enmienda, enviando el mismo protocolo destacando en amarillo las modificaciones realizadas.

|  |  |
| --- | --- |
| **USO INTERNO** | |
| **Número asignado** |  |
| **Fecha de presentación** |  |
| **Versión presentada** |  |

**A.- ANTECEDENTES ADMINISTRATIVOS**

|  |  |
| --- | --- |
| Título del Proyecto: |  |
| Académico Responsable/  Alumno Responsable |  |
| Laboratorio o Unidad Docente al que pertenece el Académico Responsable: |  |
| Unidad Académica (Facultad, Departamento, Escuela): |  |
| Teléfono de emergencias: |  |
| Email  Fax: |  |
| Fechas estimadas de inicio y duración del proyecto |  |
| Marco de la propuesta (Fondo concursable, Tesis, Investigación, Servicio. otro) |  |
| Fuentes de financiamiento: |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Listado de personas consideradas en el proyecto para el manejo de los animales.  Indique su capacitación, función y vínculo con el laboratorio o Unidad Docente (ej. Nombre/apellido, Técnico, inoculación de animales, honorarios) | | | |
| **NOMBRE** | **CAPACITACIÓN** | **FUNCIÓN** | **VINCULO/LAB** |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |

**B.- ANTECEDENTES DE LOS ANIMALES DE INVESTIGACIÓN**

|  |  |
| --- | --- |
| **Especie (s) utilizada (s):** |  |
| Edad/Estado de desarrollo: |  |
| Peso: |  |
| Sexo: |  |
| Lugar de obtención de los animales: |  |
| Lugar de mantención (Todo bioterio debe cumplir con las normas internacionales de mantención de animales de experimentación. |  |
| Ubicación física del lugar de procedimientos: |  |
| Número total de animales a utilizar: |  |
| Método(s) de Identificación del animal: |  |
| Si el lugar de obtención de los animales **es distinto** del lugar de mantención, indique detalladamente las condiciones de transporte de los animales. |  |
| Mencione el tipo y marca de alimento que utilizará. |  |
| Remita certificación del SAG o institución autorizada, si procede. |  |
| Indicar utilización de enriquecimiento ambiental y describa |  |

**C.- PROPÓSITOS DE LA INVESTIGACIÓN**

|  |
| --- |
| Señale el o los propósito(s) principal(es) del Proyecto en un párrafo no superior a 12 líneas. Éstos deben ser explicados de manera que sean **comprensibles para el ciudadano común, informado**. Además, **la relevancia** del Proyecto debe quedar clara para cualquier evaluador. |
|  |

|  |
| --- |
| Señale el o los objetivos del Proyecto. |
|  |

|  |
| --- |
| Describa las condicionales de macro y microambiente donde se alojarán los animales |
|  |

|  |
| --- |
| Justifique el uso de **animales**, en vez de usar modelos alternativos (técnicas in vitro, técnicas químicas, sistemas físicos y/o mecánicos, simulación computarizada)  **Indique también si realizó búsqueda de alternativas al uso de animales en bases de datos bibliográficas científicas como: MEDLINE, EMBASE; bases de datos específicas como: Animal ALT-ZEBET; buscadores semánticos como: Go3R, etc.** |
|  |

|  |
| --- |
| Explique las características que justifiquen el uso de esta(s) **especies(**s). |
|  |

|  |
| --- |
| Justifique **estadísticamente** el **número** de animales a utilizar. Recuerde que de acuerdo a las normas internacionales de bioética animal, se debe utilizar el mínimo de animales necesario para obtener resultados válidos. Incluya citaciones de la revisión bibliografía realizada para la elección del tamaño de la muestra (N), si es que corresponde, y el análisis estadístico realizado. Se sugiere adjuntar un diagrama o esquema para el mejor entendimiento del protocolo. |
|  |

**D.- DESCRIPCIÓN DEL EXPERIMENTO**

|  |
| --- |
| Describa **todos** los procedimientos a seguir con los animales. El detalle de los  procedimientos quirúrgicos debe incluirse en la **Sección F**  **(Incluya en su descripción** Administración de substancias, vía, sitio y forma de administración, volumen horario y frecuencia, métodos de sujeción o inmovilización del animal, uso de Radiación: Dosis, horario y frecuencia, otros procedimientos: estudios de supervivencia – biopsias) |
|  |

|  |
| --- |
| **Describa el o los criterios de interrupción del trabajo con el animal durante el experimento “Punto final humanitario”.** Si el procedimiento implica la alteración de ciertos parámetros bioquímicos y/o conductuales en los animales, indique qué grado de compromiso de bienestar general se espera en esas condiciones. Cómo lo evaluará o estandarizará (Recuerde anexar la **Pauta de supervisión ESPECÍFICA para su proyecto,** que utilizará para justificar la decisión de interrupción). |
|  |

**E.- PROCEDIMIENTOS NO QUIRÚRGICOS**

|  |
| --- |
| **Identifique y describa el o los procedimiento(s) no quirúrgicos(s) a realizar. (Incluya en su descripción: Administración de sustancias, vía, sitio y forma de administración, volumen, horario y frecuencia, otros procedimientos: Estudios de supervivencia- biopsias).** Adjunte protocolo o pauta de supervisión diaria (las pautas de supervisión serán exigidas durante una auditoría). |
|  |

|  |
| --- |
| Indique la fuente (bibliográfica u otra) en la cual se basó para la elección de los compuestos indicados arriba. Justifique |
|  |

|  |
| --- |
| Indique nombre y experiencia de la(s) persona(s) que efectuará(n) procedimientos no quirúrgicos |
|  |

|  |
| --- |
| Indique las condiciones en que se mantendrán los animales en los periodos entre las distintas intervenciones. |
|  |

**F.- PROCEDIMIENTOS QUIRÚRGICOS**

|  |
| --- |
| Identifique y describa con detalle el o los procedimiento(s) quirúrgicos(s) a realizar. Indique métodos de asepsia que utilizará. |
|  |

|  |
| --- |
| Indique nombre y experiencia de la(s) persona(s) que efectuará(n) procedimientos quirúrgicos. |
|  |

|  |
| --- |
| **Condiciones del lugar** donde se efectuará el procedimiento quirúrgico |
|  |

|  |
| --- |
| Si el o los procedimientos(s) quirúrgico(s) incluye **supervivencia del animal** **indique** el cuidado postoperatorio requerido e identifique a la persona responsable |
|  |

|  |
| --- |
| Indique si los animales a utilizar en el estudio, han sido previamente sometidos a algún procedimiento invasivo o quirúrgico |
|  |

|  |
| --- |
| Justifique si un mismo animal será sometido a procedimientos quirúrgicos más de una vez. |
|  |

**G.- DOLOR Y AFLICCIÓN.**

Es imperativo observar el principio fundamental de **evitar todo dolor y sufrimiento innecesario en cada animal que participa en un estudio científico**. Los procedimientos clasificados como moderados o severos deberán adoptar medidas paliativas como la utilización de analgésicos y el establecimiento de criterios de punto final.

**Indique en la Tabla**, cuántos animales sufrirán las siguientes categorías de dolor o incomodidad producido en los animales a manipular cada año ( Ver anexo n°1)

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Método paliativo(si/no) | N° animales año 1 | N° animales año 2 | N° animales año 3 | N° animales año 4 |
| Alto\* |  |  |  |  |  |
| Medio \*\* |  |  |  |  |  |
| Bajo |  |  |  |  |  |

\* Requiere método efectivo de alivio de distrés y/o dolor y de un método de eutanasia aceptable.

\*\* Requiere método efectivo de alivio de distrés y/o dolor. En caso de no aliviar por medidas apropiadas, debe ser claramente justificado.

|  |
| --- |
| Toda manipulación que provoque dolor o aflicción del (de los) animal(es), **debe justificarse** en forma sólida y detallada, por qué está contraindicado el uso de anestésicos, analgésicos, sedantes o tranquilizantes durante, o después de los procedimientos que causan dolor o aflicción (incluya referencias). |
|  |

**H.- ANESTESIA, ANALGESIA Y TRANQUILIZANTES**

|  |
| --- |
| Para los animales indicados en la **Tabla de la Sección F, especifique** los anestésicos, analgésicos, sedantes o tranquilizantes que serán utilizados. Indique el (los) nombre(s) de(los) **agente**(s) usado(s), la **dosis (mg/kg pv), ruta de administración (PO, EV, IM, IP, SC) y frecuencia de administración.** |
|  |

**I.- DISPOSICIÓN DE LOS ANIMALES AL FINAL DEL ESTUDIO**.

|  |
| --- |
| **EUTANASIA**:  Describa detalladamente el método de eutanasia. Si se usa un agente químico, especifique, dosis y ruta de administración. Si su método de eutanasia no es aquel comúnmente utilizados por veterinarios, o incluye decapitación o dislocación cervical **SIN** anestesia, incluya una justificación científica. |
|  |

|  |
| --- |
| Describa la disposición y destino de los animales en caso de experimentos con sobrevivencia. |
|  |

**J.- SUBSTANCIAS DAÑINAS PARA ANIMALES, SERES HUMANOS Y/O MEDIO AMBIENTE.**

El uso de substancias peligrosas en la investigación con animales requiere de una aprobación separada. Es su responsabilidad contar con la(s) autorización(es) correspondiente(s). Si es relevante, incluya las autorizaciones correspondientes, con este documento.

Señale a continuación aquellas substancias que utilizará.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | **SI** | **NO** | **Lista de substancias y documentación, si corresponde** |
| Radionúclidos |  |  |  |
| Agentes Biológicos |  |  |  |
| Drogas o químicos peligrosos |  |  |  |
| ADN Recombinante |  |  |  |

|  |
| --- |
| Consideraciones de seguridad adicionales, cuál será la disposición final de los restos de carcasas de animales y tejidos que no se utilicen. |
|  |

**K.- MATERIAL BIOLÓGICO/PRODUCTOS ANIMALES PARA SU USO EN ANIMALES** (por ej., líneas celulares, antisueros, etc).

|  |  |
| --- | --- |
| Especifique el material: |  |
| Origen: |  |
| Material estéril o pre-tratado: | **Si ..... No......**. |
| Indique si el material ha sido probado para las potenciales infecciones conocidas que derivan de él | **Si .... No ......** |
| Certifico que este material proviene de fuentes formales, no contaminadas y no ha estado en contacto con animales o posibles fuentes de contaminación: | **Si … No .....** |

**L.- REQUERIMIENTOS ESPECIALES**

Especifique algún requerimiento especial de la investigación propuesta.

**M.- CERTIFICACIONES DEL ACADÉMICO RESPONSABLE** **Y/O INVESTIGADOR RESPONSABLE DE LOS PROCEDIMIENTOS DESCRITOS EN ESTE PROTOCOLO**

1.- **Certifico** que, a mi juicio, la investigación propuesta no constituye una duplicación innecesaria de investigaciones previas.

2.- **Certifico** que todas las personas bajo mi supervisión y responsabilidad que participan en los procedimientos con los animales, trabajarán de acuerdo con las normas y reglas éticas vigentes nacionales e internacionales.

3.- Si ha completado la SECCIÓN F:

**Certifico** que he revisado la literatura científica y base de datos pertinentes sin encontrar procedimientos válidos alternativos, y no estoy en condiciones de desarrollarlos.

4.- **Certifico** que los antecedentes presentados en este Protocolo **incluyen la totalidad** de los procedimientos con animales propuestos en el Proyecto.

5.- Me comprometo a solicitar y obtener la aprobación del Comité de Bioética Sobre Investigación en Animales Universidad de Santiago de Chile antes de iniciar **CUALQUIER** cambio al Protocolo aprobado, **sea de procedimientos** como de **personal.**

6.- **Certifico** que el personal que estará a cargo del manejo y o manipulación de los animales cuenta con experiencia, certificación o algún tipo de calificación que evite exponer a los animales a situaciones que ponen en riesgo su bienestar.

7.- Será obligación del Investigador Responsable informar de la fecha de inicio (considerar fecha de obtención de los animales y comienzo de experimentación) y termino (finalización de la utilización de animales para este proyecto), finalizando el proceso mediante un reporte dirigido al Comité.

8.- **Declaro** estar en conocimiento que se realizará **SEGUIMIENTO** por parte del Comité de Ética Institucional para confirmar el cumplimiento de este Protocolo.

**9.- Certifico** que las personas involucradas en este protocolo han leído y aprobado la versión definitiva de este documento.

10.- Académico Responsable:

**Fecha Firma**

**ANEXO 1. NIVEL DE SEVERIDAD DE LOS PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES**

Clasificación del procedimiento según intensidad del dolor y frecuencia.

El análisis previo del impacto de distrés o dolor en animales de experimentación es fundamental para mantener un adecuado bienestar. Es por esto que todo investigador o investigadora debe conocer a cabalidad el comportamiento del modelo animal con que está trabajando. Además, debe contar con un protocolo que le permita supervisar el bienestar animal y tomar decisiones en caso de ser necesario aliviar algún grado de distrés, dolor y/o considerar la eutanasia.

Cada investigador/a deberá indicar el número de animales que podrían presentar un riesgo de sufrir distrés o dolor durante cada año de ejecución del estudio, según intensidad y temporalidad del posible sufrimiento (ver ejemplos).

Para esto, se sugiere aplicar la siguiente matriz:

**1. Determinar la probabilidad con que ocurrirán procedimientos asociados a distrés y dolor.**

**Frecuente:** La probabilidad de que ocurra un evento doloroso o que cause distrés en reiteradas oportunidades (más de una) es muy alta.

**Probable:** La probabilidad de que ocurra un evento doloroso o de distrés es alta, pero de manera irregular o impredecible.

**Ocasional o Remota:** La probabilidad de que ocurra el evento doloroso o de distrés es baja o casi nula.

**2. Determinar la consecuencia o severidad del procedimiento para el animal.**

**Sin recuperación:** El dolor y/o distrés es de carácter muy severo como resultado del procedimiento. Si algún animal es clasificado en esta categoría, se deberá realizar el procedimiento bajo anestesia general y realizar eutanasia, previo a que el animal recupere la consciencia.

**Severo:** El dolor y/o distrés es de carácter severo a muy severo como resultado del procedimiento. Si algún animal es clasificado en esta categoría, podría ser necesario realizar un procedimiento de eutanasia inmediatamente posterior al procedimiento para evitar el sufrimiento innecesario.

**Moderado:** El dolor o distrés es de carácter temporal, sin embargo, puede ser aliviado en el corto plazo aplicando las medidas adecuadas.

**Leve o nulo:** Se produce incomodidad leve a moderada y es de corta duración.

Tabla 1. Matriz de clasificación del grado de distrés o dolor posible de ocasionar de acuerdo con los procedimientos contemplados en el estudio.

Tabla

Descripción generada automáticamente

Tabla adaptada del anexo VIII de la Directiva 2010/63/UE del Parlamento Europeo y del Consejo

https://www.boe.es/doue/2010/276/L00033-00079.

**Ejemplos frecuentes para determinar la severidad de procedimientos.**

1. Leve:

a) Administración de anestesia, salvo para el único propósito de eutanasia.

b) Estudio fármaco-cinético 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 cola, implantación subcutánea no quirúrgica de mini-bombas y transmisores.

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 (ej. nódulos pequeños, subcutáneos, no invasivos).

h) Cría de animales genéticamente modificados resultante en 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.

**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 ingesta.

vi) Ayuno durante un período inferior a 24h en ratas y ratones adultos.

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, 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 (ej. transmisores de telemetría, minibombas, etc.).

d) Modelos de inducción de tumores, o tumores espontáneos, que se prevé que causen dolor o angustia moderada 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 (> 24 h).

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.

b) Ensayos de dispositivos en los que el fracaso pueda causar dolor o angustia severos o la muerte del animal (ej. 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.

e) Modelos de inducción de tumores o de tumores espontáneos, en donde se permita el desarrollo de la enfermedad mortal progresiva asociada con dolor, ansiedad o sufrimiento moderados duraderos. Por ejemplo, tumores que causan caquexia, tumores óseos invasivos, tumores que dan lugar a diseminación metastástica, y tumores que se permite que se ulceren.

f) Intervenciones quirúrgicas y de otro tipo en animales bajo anestesia general que se espera generen dolor, sufrimiento o ansiedad 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 órganos donde es probable que el rechazo del órgano origine angustia o la alteración severa del estado general del animal (ej. xenotransplante), sin considerar medidas para la mitigación del sufrimiento.

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 (>24h).

j) Choque eléctrico ineludible (ej. para producir invalidez inducida).

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

**Extraído de “ESTÁNDARES BIOÉTICOS PARA LA INVESTIGACIÓN EN ANIMALES, ANID. 2022.**