



# PROTOCOLO DE MANEJO Y CUIDADO DE ANIMALES

*Comité Institucional de Cuidado y Uso  
de Animales (CICUA)*

**UNIVERSIDAD DE O'HIGGINS  
COMITÉ INSTITUCIONAL de CUIDADO y USO de ANIMALES (CICUA)  
PROTOCOLO DE MANEJO Y CUIDADO DE ANIMALES**

**Uso interno**

Investigador:

Código CICUA: CICUAUOH-

Evaluadores:

Fecha de recepción:

Fecha certificación:

**INSTRUCCIONES PARA COMPLETAR ESTE PROTOCOLO:**

- **Por favor lea atentamente las instrucciones de cada apartado.**
- **El protocolo debe ser enviado en formato word y en español para su aprobación.**
- **Todas las observaciones realizadas por el CICUA deben ser respondidas con control de cambios para una revisión más expedita, sin eliminar los comentarios.**
- **Una vez corregido el protocolo por el cicua y con todas las observaciones resueltas, se debe enviar la versión final con todas las firmas del apartado J de certificaciones para su aprobación.**



## **B. ANTECEDENTES DE LOS ANIMALES A UTILIZAR**

**B.1. Nombre común y científico de la especie. Raza, cepa, y línea transgénica (si aplica) utilizada(s).**

**B.2. Edad/Estado de desarrollo.**

**B.3. Peso.**

**B.4. Sexo.**

**B.5. Indique el origen de los animales (lugar de procedencia).**

**B.6. Indique el lugar donde se realizarán los procedimientos y código de certificación.**

**B.7. Señale solo el número total de animales a utilizar en el proyecto. Señale además si se compartirán animales con otro proyecto. El desglose por objetivos se debe incluir en la sección C.4.**

**B.8. Señale el método(s) de identificación de los animales.**

**B.9. Describa detalladamente las condiciones, tiempo y distancia de traslado de los animales y la(s) persona(s) responsable(s) del traslado.**

**B.10. Si procede, remita el certificado de SAG o institución que autoriza el uso (en caso de animales silvestres).**

## C. PROPÓSITOS DE LA INVESTIGACIÓN

**C.1. Señale el o los propósito(s) principal(es) del Proyecto en un párrafo no superior a 12 líneas.** Estos deben ser explicados de manera que sean comprensibles para el ciudadano común. Además, la relevancia del proyecto debe quedar claramente señalada para cualquier evaluador éticista.

**C.2. Justifique el uso de ANIMALES, en vez de usar modelos alternativos.** Por modelos alternativos se entienden aquellos que reemplacen la utilización de animales vertebrados. Indique los motivos por los cuales no se plantea aplicar un método alternativo al procedimiento propuesto.

**C.3. Explique las características que justifiquen el uso de esta(s) ESPECIE(s).** Indique la especie y raza (o cepa) que se propone utilizar y los motivos de esta selección.

**C.4. Justifique estadística y/o bibliográficamente el número de animales a utilizar por cada uno de los objetivos del estudio. Incluir tabla, figura y/o esquema descriptivo del diseño, indicando el número de sujetos por grupo/condición experimental.** Recuerde que de acuerdo a las normas internacionales de bioética animal, se debe utilizar el mínimo de animales necesario para obtener resultados válidos **Aplicar el principio de las 3 Rs:** Reemplazar animales por otro sistema (ej. in vitro); Reducir número de animales; Refinar los procedimientos realizados.

## D. DESCRIPCIÓN GENERAL DEL EXPERIMENTO

**D.1. Enumere la secuencia de TODOS los procedimientos a seguir con los animales. Sólo indique el curso temporal en los procedimientos. No explique en detalle los procedimientos. El detalle de los procedimientos no quirúrgicos y quirúrgicos debe incluirse en secciones posteriores.**

**Procedimiento 1 -**

**Procedimiento 2 -**

**D.2. Describa el o los criterios de interrupción del trabajo con los animales durante el experimento.**

Incluya en su descripción el procedimiento esperado de finalización y las circunstancias en que el experimento será interrumpido para evitar sufrimientos innecesarios al animal. Si su protocolo incluye experimentos crónicos con inducción de patologías y/o el animal presenta o desarrolla un fenotipo que involucre compromiso del bienestar, indique explícitamente el grado de este último y en qué momento se realizará la eutanasia. **Adjunte la pauta de supervisión del bienestar animal que utilizará.** Para esto se sugiere usar como guía los protocolos de supervisión modificados de Morton y Griffiths (Veterinary Record, 116: 431-36, 1985) según corresponda, establecidos en los Anexos II y III. Puede modificarlo según las condiciones del estudio y las características de su modelo animal.

## **E. PROCEDIMIENTOS NO QUIRÚRGICOS (MANIPULACIÓN DEL ANIMAL Y ADMINISTRACIÓN DE SUSTANCIAS)**

**E.1. Identifique y describa el o los procedimiento(s) no quirúrgico(s) a realizar. Incluya en su descripción: administración de sustancias, vía, sitio de inoculación, forma de administración, dosis, volumen y frecuencia de administración, métodos de sujeción o inmovilización del animal, uso de radiación (dosis y frecuencia), otros procedimientos: estudios de supervivencia, biopsias, entre otros.**

**E.2. Indique el nombre de la(s) persona(s) que efectuarán los procedimientos no quirúrgicos.**

**E.3. Indique las condiciones en que se mantendrán los animales en los periodos de tiempo entre las distintas intervenciones.**

## F. PROCEDIMIENTOS QUIRÚRGICOS

**F.1. Identifique y describa detalladamente el o los procedimiento(s) quirúrgico(s) a realizar. Incluya métodos de asepsia.**

**F.2. Indique el número de la(s) persona(s) que efectuará (n) los procedimientos.**

**F.3. Describa detalladamente el cuidado pre- y postoperatorio.**

**F.4. Indique el nombre de la(s) persona(s) que efectuará(n) los cuidados pre y postoperatorios.**

**F.5. Condiciones e infraestructura del lugar donde se efectuarán los procedimientos quirúrgicos.**

**F.6. Si corresponde justifique si un mismo animal será sometido a procedimientos quirúrgicos más de una vez e indique el procedimiento previo.**

## 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**. Toda manipulación que provoque dolor o aflicción del o de los animal(es), **debe justificarse** en forma sólida y detallada.

**G.1. Indique en la siguiente Tabla, el nivel de dolor según el grado de estrés o malestar producido en los animales a manipular cada año. Los diferentes niveles de dolor o aflicción en el manejo de animales se explican en el Anexo IV. \* Es obligatorio completar esta Tabla.**

Nivel de Dolor	Indique Número de Animales por Año				
	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5
A. Mínimo dolor y estrés					
B. Dolor asistido por medidas apropiadas (analgésico u otro)					
C. Dolor no asistido por medidas apropiadas					

**G.2. Anestesia, Analgesia y Tranquilizantes.** Para los animales indicados en la Tabla anterior (G1), en la categoría B, especifique los anestésicos, analgésicos, sedantes o tranquilizantes que serán utilizados. Indique el o los nombre(s) de(los) agente(s) usado(s), la dosis, ruta, frecuencia y duración de administración.

No Aplica

Sustancia	Dosis	Condiciones de Administración			Duración del Tratamiento	Responsable
		Volumen	Vía	Frecuencia		

**G.3. Si hay animales indicados en la categoría C de la Tabla G.1., se debe justificar 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. DISPOSICIÓN FINAL DE LOS ANIMALES

**H.1. Eutanasia.** Describa detalladamente el método de eutanasia. Si se usa un agente químico, especifique, dosis y ruta de administración. Si su método es físico o mecánico, describa y justifique el método a utilizar. Indique la(s) persona(s) encargada(s) de esta función. (Se sugiere revisar *The AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition, American Veterinary Medical Association, USA*).

**H.2. Eliminación de desechos.** Describa brevemente el proceso de eliminación de los cadáveres de acuerdo con las normas de Bioseguridad de su Unidad. Si la eliminación es diferente a lo establecido, debe explicar el procedimiento en detalle y justificarlo.

**H.3. Mantenimiento de especímenes muertos.** Describa la finalidad y las normas establecidas en cada caso (conservación en museos, docencia, otros).

**H.4. Supervivencia.** Describa y justifique la disposición y destino de los animales en caso de experimentos o actividades docentes en que los animales no son eutanasiados al término del procedimiento.

## I. SUBSTANCIAS ADMINISTRADAS A LOS ANIMALES QUE REQUIERAN CERTIFICACIÓN ESPECIAL

I.1. El uso de fármacos o sustancias 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, adjunte las autorizaciones a este documento.

**Nota:** Si en su proyecto considera la utilización de agentes psicotrópicos, debe llevar un control y registro del uso de éstos. Además, todo excedente deberá ser comunicado a Unidad de Prevención de Riesgos y Bioseguridad de su unidad para su resguardo o eliminación.

Señale a continuación en las siguientes Tablas aquellas sustancias que utilizará.

SUSTANCIAS QUE NO REQUIEREN APROBACIÓN	Lista de sustancias
Agentes Biológicos	
Fármacos	
Otros	

SUSTANCIAS DAÑINAS PARA LOS ANIMALES O HUMANOS QUE REQUIEREN APROBACIÓN	Lista de sustancias y documentación, si corresponde
Radionúclidos	
Agentes Biológicos	
Drogas o químicos peligrosos	
ADN Recombinante	
Fármacos	
Otros	

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

- J.1. Certifico** que, a mi juicio, la investigación propuesta no constituye una duplicación innecesaria de investigaciones previas.
- J.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.
- J.3. Certifico** que he revisado la literatura científica y la base de datos pertinentes sin encontrar procedimientos válidos alternativos, o no estoy en condiciones de desarrollarlos.
- J.4. Confirmo** que he completado la Tabla en el ítem G.1
- J.5. Certifico** que los antecedentes presentados en este Protocolo **incluyen la totalidad** de los procedimientos con animales propuestos en el Proyecto.
- J.6.** Me comprometo a solicitar y obtener la aprobación del CICUA de la Universidad de O'Higgins antes de iniciar **CUALQUIER** cambio al Protocolo aprobado, **sea de procedimientos** como de **personal**.
- J.7. 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.
- J.8. Declaro** estar en conocimiento de que se realizará **SEGUIMIENTO** por parte del CICUA para confirmar el cumplimiento de este Protocolo.
- J.9. Certifico** que las personas involucradas en este protocolo han leído y aprobado la versión definitiva de este documento.
- J.10. Declaro que si tengo potenciales conflictos de interés, serán indicados al Comité respectivo.**
- J.11. Declaro** haber leído y estar informado de todos los instructivos sobre los procedimientos bioéticos de la Universidad de O'Higgins
- J.12.** El investigador se compromete a **solicitar al menos un informe de seguimiento** por lo menos 6 meses antes de la fecha de término del protocolo.

**J.13. Investigador Patrocinado del protocolo (si lo hubiese):**

Nombre y Firma:

Rut:

**J.14. Académico Responsable del Protocolo y los procedimientos planteados:**

Nombre y Firma:

Rut:

**J.15. Vº Bº Director de la Unidad Académica:**

Nombre y Firma:

Rut:

**J.16. Veterinario Responsable: No Aplica**

Nombre y Firma:

Rut:

**IMPORTANTE:** LAS FIRMAS EN LOS PUNTOS J.13, J.14, J.15 Y J.16 DEBEN IR SÓLO EN EL PROTOCOLO FINAL APROBADO, NO SON NECESARIAS EN LA PRIMERA PRESENTACIÓN DIGITAL, NI EN LAS ENMIENDAS POSTERIORES A LA CERTIFICACIÓN SI LAS HUBIERE.

### Check List

**Señor/a/ita Académico/a:** Con el fin de evitar rechazo por parte del CICUA de su Protocolo de Manejo y Cuidado de Animales de Laboratorio por razones formales, por favor verifique que:

- 1 Respondió el B5 y B6 (indicar bioterio y lugar de los procedimientos con los animales)
- 2 Ha especificado el cálculo del número total de animales a utilizar (punto B.7)
- 3 Se ajustó a las indicaciones del punto C1 (descripción breve y comprensible para el ciudadano común de los propósitos de la investigación).
- 4 Ha justificado y especificado el cálculo del número de animales a utilizar por objetivo (punto C.4)
- 5 Indicó “**no aplica**” en todos los ítems en que no corresponde responder
- 6 La versión final aprobada por el CICUA cuenta con las respectivas firmas del Investigador, Director de la unidad y Académico responsable de los procedimientos según el punto J (requisito para la generación del certificado de aprobación)

## ANEXO I - GLOSARIO

**Aflicción:** dolor o molestia.

**Analgésico:** fármaco utilizado para reducir la percepción central de los estímulos dolorosos.

**Anestésico:** fármaco que bloquean la sensibilidad táctil y dolorosa de un individuo generando un estado de inconsciencia en el animal. Puede utilizarse de manera parcial sobre el cuerpo (local) o general. Se caracteriza por generar analgesia, amnesia, e inmovilidad. Se utiliza en procedimientos quirúrgicos, en procedimientos poco invasivos pero muy dolorosos, y también para la exploración física o toma de muestras.

**Angustia:** emoción negativa, se caracteriza por ser una emoción compleja, puede ocurrir sin presencia del estímulo.

**Criterio de punto final:** Punto determinado de manera científica, donde el dolor o distrés del animal es terminado, minimizado o reducido a través de acciones a través de la eutanasia, tratamiento o terminando el procedimiento.

**Criterio de interrupción:** Punto en el cual se decide poner término de manera anticipada a la investigación, ya sea porque el análisis preliminar de resultados lo permite o porque hay problemas metodológicos que así lo requieren.

**Discomfort:** situación no confortable, que causa incomodidad en el animal.

**Distrés:** se refiere al contenido emocional de experiencias nocivas que provocan una respuesta de estrés fisiológico en los animales. La experiencia nociva puede ser predominantemente emocional, física, o una combinación de ambos. Generalmente ocurre cuando la respuesta de estrés es muy aguda o cuando se hace crónica, sobrepasando la capacidad de adaptación del individuo.

**Dolor:** experiencia sensorial y emocional desagradable asociada con daño tisular real o potencial o descrito en términos de dicho daño. Para cuantificarlo se utilizan signos indirectos de dolor, como por ejemplo expresión facial, cambios posturales y conductuales. Siempre que exista el riesgo de que se produzca dolor se debe usar un analgésico. Si no existe evidencia científica de que el procedimiento cause dolor, se asume que si es doloroso para el humano lo es para el animal.

**Estrés:** Se refiere al amplio rango de respuestas fisiológicas y conductuales aun cierto estímulo, desde las pequeñas desviaciones de los ajustes homeostáticos diarios que se dan bajo circunstancias benignas, hasta los cambios fisiológicos máximos de los sistemas del individuo.

**Eutanasia:** Del griego eu (bueno) y thanatos (muerte). Describe el término de la vida de un individuo de una forma que minimice o elimine el dolor y distrés. Es deber del Médico Veterinario llevar a cabo la eutanasia a través de criterios acordes a los intereses del animal y/o debido a principios de bienestar animal. Deben utilizarse técnicas que induzcan la muerte de una forma rápida, sin dolor ni distrés (AVMA, 2013).

**Modelos alternativos:** aquellos que reemplazan la utilización de animales vertebrados.

**Principio de las 3 Rs:** principio formulado en la década de los 60 por los biólogos ingleses, Russel y Burch, en su libro "The Principle of Humane Experimental Technique". Hacen referencia a Reemplazar, Reducir y Refinar.

**Reemplazo:** Preferir el uso de modelos no-animales sobre modelos animales cuando sea posible y permitan alcanzar los objetivos científicos (modelos virtuales, métodos in vitro). Otra alternativa e utilizar animales que estén más abajo en la escala filogenética (reemplazo relativo) que tienen menor capacidad de experimentar sufrimiento (ej. Reemplazar modelo vertebrado por invertebrado).

**Reducción:** Utilizar métodos que permitan obtener niveles de información comparables reduciendo al máximo la cantidad de animales utilizados, u obtener mayor información desde el mismo número. Estos métodos incluyen diseños experimentales apropiados, determinación de tamaño muestral, y análisis estadístico apropiado.

**Refinamiento:** Utilizar métodos que alivien o minimicen el potencial dolor, sufrimiento o distrés, aumentando el bienestar animal desde su nacimiento hasta su muerte, por ejemplo a través del enriquecimiento ambiental.

**Procedimientos no quirúrgicos:** procedimientos que incluyen manipulación (métodos de sujeción o inmovilización) y administración de sustancias (vías, uso de radiación) de manera no instrumental para el diagnóstico, tratamiento o rehabilitación que no involucran incisión de los tejidos.

**Procedimientos quirúrgicos:** manejos o intervenciones en animales que involucren incisión de tejidos u órganos. Todo procedimiento quirúrgico debe realizarse bajo estrictas medidas de asepsia y protocolos anestésicos/sedantes y/o analgésicos apropiados para la intervención.

**Sedantes:** fármaco que produce una depresión central acompañada por somnolencia, el individuo puede o no estar consciente de lo que ocurre a su alrededor, pero si responde a estímulos dolorosos. Pueden utilizarse para procedimientos poco o no invasivos, que requieren de cooperación del animal. Puede ir acompañada de anestesia local.

**Tranquilizante:** fármaco que posee un efecto calmante, sin alteración de la consciencia. Genera modificación de la conducta, por lo que el individuo estará relajado, pero consciente; puede no responder a estímulos dolorosos de muy baja intensidad. Ayudan a reducir el estrés del animal, puede utilizarse para exploración física o toma de muestras en animales nerviosos.

## ANEXO II

**Protocolo de supervisión para Roedores modificado del protocolo propuesto por Morton y Griffiths (1985) (Veterinary Record, 116: 431-36, 1985).** Este protocolo puede ser ajustado según los requerimientos y capacidades del investigador.

Protocolo de supervisión para roedores de laboratorio		
Variable	Rangos	Puntuación
Pérdida de peso (de 0 a 3)	• Normal (no hay pérdida de peso o el animal crece normalmente).	0
	• Pérdida de peso inferior al 10%.	1
	• Pérdida de peso entre el 10% y 20%. Posible alteración en el aspecto o cantidad de heces.	2
	• Pérdida de peso superior al 20%, el animal con consume agua ni alimento.	3
Aspecto (de 0 a 3)	• Normal.	0
	• Pelo en mal estado.	1
	• Pelo en mal estado y/o presencia de secreciones oculares o nasales.	2
	• Postura anormal.	3
Comportamiento espontáneo (de 0 a 3)	• Normal.	0
	• Pequeños cambios.	1
	• Inactividad	2
	• Automutilación, vocalización anormales, animales muy inquieto o inmóviles.	3
Comportamiento en respuesta a manipulación (de 0 a 3)	• Normal.	0
	• Pequeños cambios.	1
	• Cambios moderados	2
	• Animales agresivo o comatoso	3
Constantes Vitales (de 0 a 3)	• Normal.	0
	• Pequeños cambios.	1
	• Cambios en la temperatura corporal de 1-2°C, incremento del 30% en frecuencia Cardíaca o respiratoria.	2
	• Cambios en la temperatura corporal de >2°C, incremento del 50% en frecuencia Cardíaca o respiratoria.	3
Puntuación Total		

**Nota:** cuando un animal obtiene una puntuación de 3 en más de un parámetro todas las 3 pasan a 4. Las medidas correctoras sugeridas en función de la puntuación obtenida para cada animal son las siguientes:

**Puntuación:**

Desde 0-4            normal  
 Desde 5-9            supervisar cuidadosamente considerar el uso de analgésicos  
 Desde 10-14        sufrimiento intenso: administrar analgésicos (¿eutanasia?)  
 Desde 15-20 eutanasia

### ANEXO III

**Protocolo de supervisión para Peces modificado del protocolo propuesto por Morton y Griffiths (1985)** (Veterinary Record, 116: 431-36, 1985). Este protocolo puede ser ajustado según los requerimientos y capacidades del investigador.

Protocolo de supervisión para peces		
Variable	Rangos	Puntuación
<b>Nado regular</b>	Normal (nada en forma continua, describiendo círculos, utilizando todo el estanque y manteniendo verticalidad)	0
	Sub-normal 1 (nada en forma continua, con trayectoria clara, mantiene verticalidad, no utiliza todo el espacio del tanque)	1
	Sub-normal 2 (nada en forma continua, mantiene verticalidad, sin trayectoria clara, no utiliza todo el espacio del tanque)	2
	Sub-normal 3 (el pez nada en forma errática, sin trayectoria clara, pierde verticalidad)	3
<b>Respuesta a la alimentación</b>	Normal (responde de forma inmediata a la presencia de alimento luego de un periodo de ayuno nocturno)	0
	Sub-normal 1 (después de un periodo de ayuno nocturno el pez demora más de 5 segundos en responder a la presencia de alimento)	1
	Sub-normal 2 (después de un periodo de ayuno nocturno el pez responde de forma errática a la presencia de alimento)	2
	Sub-normal 3 (después de un periodo de ayuno nocturno el pez no responde a la presencia de alimento, el alimento cae al fondo del estanque y permanece sin ser consumido)	3
<b>Comportamiento espontáneo</b>	Normal (atento al medio, responde a la presencia de personal de laboratorio, interactúa con sus pares)	0
	Sub-normal 1 (Atento al medio, responde a la presencia de personal de laboratorio, interactúa en forma errática o agresiva con sus pares)	1
	Sub-normal 2 (Responde con demora a estímulos externos, no interactúa con los pares separándose del grupo)	2
	Sub-normal 3 (no responde a estímulos del medio y permanece en el fondo del estanque)	3
<b>Estado de las aletas</b>	Normal (sin erosión ni anomalía evidente de aletas)	0
	Sub-normal 1 (Erosión leve de aletas, borde exterior partido, sin exposición de los radios de las aletas)	1
	Sub-normal 2 (Erosión evidente de aletas, se agrega a los síntomas anteriores: exposición de los radios de las aletas, hemorragia e inflamación leve)	2
	Sub-normal 3 (Erosión severa, todos los síntomas anteriormente descritos presentes)	3
<b>Puntuación Total</b>		

**Nota:** Cuando un estanque obtiene un puntaje de 3 en más de una variable, todos los "3" pasan a "4". Las medidas correctivas de acuerdo a la puntuación para cada estanque son las siguientes:

**Puntuación:**

Desde 0-3: Normal

- Desde 4-7: Supervisar cuidadosamente (considerar cambio en manejo)
- Desde 8-11: Sufrimiento intenso, administrar analgésicos (considerar eutanasia)
- Desde 12-16: Eutanasia

La evaluación será realizada por personal que conoce el comportamiento de los peces incluyendo al investigador responsable del proyecto y al personal técnico entrenado para el monitoreo de los estanques experimentales. **El protocolo debe ser visado por un Médico Veterinario con experiencia en peces.**

## ANEXO IV

### Niveles de Dolor o Aflicción

- A. Mínimo dolor y estrés:** Mínima molestia de los animales durante procedimientos NO QUIRÚRGICOS. Ejemplos: sujeción para observación o exámenes físicos, toma de muestras de sangre, inoculación de sustancias en pequeñas cantidades por vía subcutánea, intramuscular, intravenosa, intraperitoneal u oral, pero no intratorácica o intracardíaca (Categoría B), estudios agudos sin supervivencia en los cuales los animales son completamente anestesiados y no recobran la conciencia, períodos cortos de privación de agua y comida (equivalentes a los que podrían ocurrir en condiciones naturales) o modificaciones ambientales leves, métodos de eutanasia con rápida pérdida de conciencia (sobredosis de anestésicos, decapitación luego de sedación o anestesia).
- B. Dolor asistido por medidas apropiadas:** Mínimo dolor o aflicción debido al uso de medicamentos apropiados para disminuir o eliminar las molestias de los animales. Es el caso de la mayoría de los procedimientos QUIRÚRGICOS asociados a protocolos anestésicos y analgésicos apropiados. Ejemplos: canulación o cateterización de vasos sanguíneos o cavidades corporales bajo anestesia; cirugías menores bajo anestesia general o local tales como biopsias, laparoscopia; cirugías mayores bajo anestesia general con recuperación subsiguiente; sujeción o inmovilización por tiempos cortos pero que por observación evidencian leve discomfort o stress del animal; tiempo prolongado (varias horas) de inmovilización; inducción de conductas estresantes; inducción de anomalías anatómicas, fisiológicas o enfermedades que ocasionan dolor o stress pero que esta aliviado por medidas apropiadas. Procedimientos en esta categoría no deberían causar cambios significativos en la apariencia general del animal ni en parámetros tales como frecuencia cardiaca, respiratoria, excreción urinaria y fecal, o comportamiento social.
- C. Dolor no asistido por medidas apropiadas:** Dolor o aflicción sin el uso de medicamentos para disminuir o eliminar las molestias de los animales. Si existen animales en esta categoría, el investigador debe tener una clara y sólida justificación. Ejemplos: exposición a noxas o agentes cuyos efectos son desconocidos; exposición a drogas o químicos en niveles que pueden causar la muerte, dolor severo o gran stress; estudios de comportamiento en los cuales el nivel de stress producido se desconoce; uso de relajantes musculares o drogas que producen parálisis sin usar previa anestesia; quemaduras o traumas dolorosos en animales conscientes; y todo otro procedimiento que pueda ocasionar stress severo u ocasione dolor intenso que no pueda ser aliviado por analgésicos (por ejemplo ensayos de toxicidad o infecciones experimentales en los cuales el final del experimento es la muerte del animal). Exposición a drogas o químicos en niveles incompatibles con los sistemas fisiológicos y que induzcan un malestar crónico sin medidas paliativas. Los estudios asociados a esta categoría no debiesen ser muy prolongados o de severo daño clínico para disminuir al máximo el tiempo de exposición al dolor y aflicción. El malestar puede detectarse por marcada anomalía en los patrones de comportamiento, ausencia de "acicalamiento", deshidratación, "vocalización" anormal, anorexia prolongada; letargia; trastornos al caminar y moverse, o signos clínicos severos de infección local o sistémica.