**Solicitud de evaluación de proyectos y procedimientos en los que se utilizan animales para experimentación y otros fines científicos (RD 53/2013)**

1. **Identificación del establecimiento usuario en el que se llevarán a cabo los procedimientos del proyecto:**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Establecimiento usuario autorizado donde se llevarán a cabo los procedimientos** | Centro Nacional de Biotecnología-CSIC | **Nº Registro** |
| ES280790000182 |
| **Localización geográfica donde se llevarán a cabo los procedimientos** | Centro Nacional de Biotecnología Calle Darwin 3, Madrid 28049 |

1. **Título y tipo del proyecto. Información adicional:**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Título del proyecto** | Título: no tiene por qué coincidir con el título del proyecto para el que se solicite financiación | **Fecha prevista inicio** |  |
| **Fecha prevista fin** | Máx. 5 años desde inicio |
| **Resumen del proyecto** | Resumen del proyecto referido a la parte con animales, no al proyecto del que se pretenda solicitar financiación. De formato corto y general |
| **Finalidad que justifica la utilización de animales** | Finalidad del estudio con los animales. En algunos casos es necesario justificar el uso de ciertos animales o especies. |
| **Justificación científica o educativa**  | ☐ | **Imposición legal o reglamentaria**  | ☐ |
| **Beneficios que justifiquen el uso de animales** | Valoración de los daños y beneficios del proyecto para determinar si los daños a los animales en términos de sufrimiento, dolor y angustia están justificados por el resultado esperado, teniendo en cuenta consideraciones éticas, y si pueden, en última instancia, beneficiar a los sereshumanos, los animales o el medio ambiente. |
| **Métodos alternativos a la utilización de animales**(Justificar la NO utilización) | ¿Por qué no es posible alcanzar los objetivos del proyecto sin utilizar animales? ¿Qué alternativas ha considerado y por qué no son adecuadas? ¿Existe algún método alternativo (en el que no se utilicen animales) que tenga la misma fiabilidad para este procedimiento? En caso afirmativo, justifique por qué no se utiliza ese método alternativo. En caso negativo, ¿qué fuentes ha consultado para buscar posibles alternativas? Indique la fecha de consulta Red Española de métodos Alternativos: <http://www.remanet.net/> Ensayos reglamentarios: <http://www.oecd.org> <http://ecvam-dbalm.jrc.ec.europa.eu/> Investigación in vitro: http://embryo.ib.amwaw.edu.pl/invittox <http://ecvam-sis.jrc.int> Otras: http://www.go3r.org/ https://www.nc3rs.org.uk/ Educación: http://oslovet.veths.no/norina/ http://www.eurca.org <http://www.nca-nl.org> http://www.interniche.org/alt\_info.html |

1. **Identificación del responsable/s del proyecto:**

(*Art. 32.3del*  RD 53/2013)

|  |  |
| --- | --- |
| **Nombre y apellidos**  |  |
| **NIF** |  |
| **Institución de adscripción. Instituto o Centro** |  |
| **Departamento** |  |
| **Teléfono** |  |
| **Correo electrónico** |  |

1. **Relevancia y justificación de lo siguiente:**

*(Los procedimientos relacionados en los apartados 4.a y 4.b deberán coincidir en título y número)*

* 1. **Utilización de animales en los distintos procedimientos (P):**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Título de los procedimientos (P)** | **Origen de los animales** | **Número estimado** | **Especies****(Indicar nombre científico)** | **Etapas de vida** |
| **P1** | Títulos cortos y representativos. Un procedimiento NO es una técnica. Se inicia con la toma de datos del animal y concluye cuando ya no se toman más datos de ese animal. |  |  |  | Etapa durante el cual se va a realizar el estudio |
| **P2** |  |  |  |  |  |
| **P3** |  |  |  |  |  |
| **P…** |  |  |  |  |  |
| **P…** |  |  |  |  |  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Número total estimado de animales a utilizar en los procedimientos (P):** | **Nº: \_\_\_\_\_\_\_\_** | **Comentarios:** |

* 1. **Identificación de los procedimientos (P) :**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Título de los procedimientos (P)** | **Breve descripción. Protocolo de trabajo\*** | **Duración** | **Destino final de los animales****(Recuperación, utilización en otro procedimiento, sacrificio o liberación)** |
| **P1** | El título del procedimiento debe coincidir con el indicado en el punto 4a  | Indicar el protocolo con los hechos relevantes. No indicar justificación. en los procedimientos de la solicitud ni estadísitica ni criterios de supervisión o de punto final. | Tiempo durante el cual se realiza el procedimiento y duración de cada una de las técnicas que se van a realizar. | Solo se indica reutilización si es posible utilizar cualquier otro animal. |
| **P2** |  |  |  |  |
| **P3** |  |  |  |  |
| **P…** |  |  |  |  |
| **P…** |  |  |  |  |

*\* Si se utilizase fauna silvestre, determinar en el establecimiento del procedimiento la captura, inmovilización y manejo, el marcaje, la toma de muestras, la aplicación de técnicas invasivas o alteración de estructuras funcionales, exposición a estímulos externos no habituales, aislamiento o privación de estímulos habituales, cualquier otra interferencia con el modo de vida habitual de los animales, transporte, eutanasia y liberación al medio natural.*

|  |
| --- |
| **ANIMALES MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (1) (2)****(Creación y/o mantenimiento. *Art. 3.f)-RD53/2013*)** |
| **Nombre de la línea modificada** | **Modificación en el genotipo** | **Fenotipo. Repercusión en el animal** | **Autorización administrativa para instalaciones y actividades de utilización confinada** |
| **P1** | Indicar con nomenclatura oficial | Indicar alteración del genoma | Indicar fenotipo esperado y cómo afecta al animal | A/ES/03/I-5 |
| **P2** |  |  |  |  |
| **P3** |  |  |  |  |
| **P…** |  |  |  |  |
| **P…** |  |  |  |  |

**(1)** *Cumplimentar si procede*

**(2)** *Si se cumplimenta esta tabla, también se deberá cursar la correspondiente solicitud de evaluación bioética/bioseguridad (Investigación con humanos, OMG, Agentes biológicos de riesgo) al Comité de ética del CSIC*

|  |
| --- |
| **TRANSPORTE DE ANIMALES \*** |
| **Datos del establecimiento remitente** | **Nombre o razón social, NIF /CIF** |  |
| **Nº Registro** |  |
| **Domicilio** |  |
| **Teléfono** |  |
| **Correo electrónico** |  |
| **Datos del establecimiento destinatario** | **Nombre o razón social, NIF /CIF** |  |
| **Nº Registro** |  |
| **Domicilio** |  |
| **Teléfono** |  |
| **Correo electrónico** |  |
| **Número e identificación de los animales** | **Especie** |  |
| **Nº animales** |  |
| **Identificación** |  |
| **Instrucciones sobre el suministro de agua, de alimentos y de cuidados especiales a los animales durante el transporte** |  |

*\* Cumplimentar si procede (v.gr. fauna silvestre, animales de granja)*

1. **Aplicación de métodos para reemplazar, reducir y refinar el uso de animales en procedimientos. Justificación:**

|  |  |
| --- | --- |
| **Métodos de reemplazo** | Indicar qué métodos se han utilizado antes de utilizar animales para hacer cualquier tipo de test previo o cribado de sustancias, etc.… |
| **Métodos de reducción** | Explique los principios del diseño experimental que va a utilizar y cualquier fuente de asesoramiento que vaya a consultar, por ejemplo, sobre estadísticas. ¿Ha considerado la colaboración con otro laboratorio (interno o externo) para reducir el número de animales utilizados (uso conjunto de animales) (por ejemplo, distintos órganos del mismo animal para más de un laboratorio)? ¿Ha justificado el número de animales que van a utilizarse con análisis estadísticos adecuados? En caso afirmativo, indique la referencia a dicho análisis. En caso negativo, justifique por qué no se ha realizado el análisis. |
| **Métodos de refinamiento** | Explique su elección de especie, modelo(s) y método(s). Explique por qué son los más refinados para el propósito perseguido. Indique cuáles son las técnicas de refinamiento utilizadas en los procedimientos (menores volúmenes, sustancias menos dañinas, abordajes menos lesivos, técnicas de imagen utilizadas, etc.) ¿Cómo mejorará las técnicas para minimizar el sufrimiento animal y para alcanzar sus objetivos? Aporte justificación específica para cualesquiera procedimientos de severidad importante |

1. **Uso de anestésicos, analgésicos y otros medios para aliviar el dolor:**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **MEDIOS** | **Fármaco** | **Dosis** | **Pauta** |
| **Anestesia (ejemplos para que sirvan de guía en la redacción)** | Ketamina + XilacinaIsoflurano (Isoflo®)Crema Emla® (lidocaína)Cloruro de etilo | 80-120mg/kg ketamina + 5-16mg/kg xilacina. (conjuntamente) preferiblemente subcutánea (menos invasiva que intraperitoneal o intramuscular)4-5% para inducción en cámara de anestesia. 1-2% para mantenimiento fuera de la cámara con mascarilla facial.Anestesia local. Aplicar una capa gruesa en el área correspondiente.Anestesia local. Mojar la zona durante 15-20 segundos a unos 30 cm de distancia. La piel tomará un aspecto blanco y endurecido | La profundidad anestésica varia de sedación (primer valor) a anestesia (segundo valor)Se controlará la profundidad y la frecuencia respiratoria en el plano anestésico. No debe ser ni agitada ni entrecortada.Duración 2 horas (esperar 30’ a que haga efecto)Duración indeterminada. |
| **Analgesia(ejemplos para que sirvan de guía en la redacción)** | Buprenorfina MeloxicamParacetamol líquido | 0,05-0,1 mg/Kg2mg/kg200mg/kg en agua de bebida | Una dosis cada 12 horas durante 2 días (subcutánea)La duración de la analgesia es de 12-24 horas (oral o subcutánea)Ad libitum (duración indeterminada) |
| **Otros medios** | Si no se utilizan analgesia o anestesia explique por qué. Indicar regímenes analgésicos y anestésicos |  |  |

1. **Medidas para reducir, evitar y aliviar cualquier forma de sufrimiento de los animales a lo largo de toda su vida. Breve descripción:**

|  |  |
| --- | --- |
| **Medidas para reducir, evitar y aliviar cualquier forma de sufrimiento de los animales a lo largo de toda su vida** | Enumere los efectos adversos probables de cada procedimiento regulado que se va a aplicar. Indique cómo gestionará esos efectos para minimizar su severidad. No es necesario detallar efectos adversos inusuales o improbables o efectos de procedimientos que solo ocasionen un malestar pasajero y no un daño duradero, tales como la administración de una inyección intravenosa. Respecto a cada efecto adverso, indique: - La incidencia probable - Cómo se reconocerá el efecto adverso- Las medidas que adoptará para prevenir o controlar su producción y su severidad.En este apartado se deben poner los parámetros que se van a supervisar, cómo se valorarán y medidas para reducir alteraciones.Debe de describirse para cada procedimiento |

|  |
| --- |
| **PROTOCOLO DE LIBERACIÓN \*** |
| **Medidas adoptadas para garantizar la salud y bienestar del animal en el momento de su liberación** |  |
| **Medidas adoptadas para garantizar la adaptación óptima del animal a su hábitat natural** |  |
| **Riesgos potenciales para la salud pública, la sanidad animal o el medio ambiente** |  |
| **Posibles contingencias a tener en cuenta durante el proceso de liberación** |  |

*\* Cumplimentar si procede (v.gr. fauna silvestre)*

1. **Uso de puntos finales humanitarios\*:**

|  |  |
| --- | --- |
| **Uso de puntos finales humanitarios** | Defina con claridad los puntos finales incruentos previstos. ¿Qué estudios piloto se han utilizado para definir puntos finales en los principales estudios? Si la muerte va a ser un punto final, justifique por qué es esencial y qué medidas se han adoptado para minimizar el impacto en los animales.En base al punto 7, usando los parámetros que se van a valorar, describir cuando se aplicarán puntos finales.Debe de describirse para cada procedimiento |

*\* Los criterios de punto final deben adaptarse a los distintos procedimientos que se realizan*

1. **Estrategia experimental o de observación y modelo estadístico implementado para reducir al mínimo el número de animales utilizados, el dolor, sufrimiento, angustia y el impacto ambiental, cuando proceda:**

|  |  |
| --- | --- |
| **Estrategia experimental o de observación. Determinar protocolo de supervisión y persona responsable de la misma** | Describa a grandes rasgos las etapas del programa de trabajo e indique con claridad, utilizando los números de protocolo (procedimiento), cómo utilizará cada protocolo para alcanzar sus objetivos. Cuando ello contribuya a la claridad, ilustre los pasos del programa utilizando un diagrama de flujos o un mapa de procesos comentado. En él se deberá incluir el uso de estudios piloto y puntos de decisión.Describa su experiencia previa con los modelos propuestos. ¿Se utilizarán estudios piloto? ¿Por qué son necesarios? Por ejemplo, para identificar/refinar puntos finales incruentos. ¿Cómo se efectuará el seguimiento de los animales? Describa el plan de evaluación del bienestar que utilizará.En base al punto 7, describir cada cuanto tiempo y en qué momentos de cada procedimiento, va a evaluar esos parámetros.Debe de describirse para cada procedimiento |
| **Modelo estadístico utilizado** | Indicar el modelo estadístico a utilizar para cada uno de los procedimientosEn el caso de procedimientos de mantenimiento o creación de líneas, el número de animales vendrá justificado por los valores reproductivos de los animales y los genotipos esperados |

1. **Justificación de la reutilización de animales y efectos acumulativos:**

|  |  |
| --- | --- |
| **Reutilización** | **SI** ☐ **NO**☐ |
| **Efectos acumulativos****(sólo en caso de reutilización)** |  |

1. **Propuesta de clasificación de los procedimientos en función de su severidad incluyendo la valoración de los siguientes factores adicionales:**

(*Anexo IX del RD 53/2013*)

|  |  |
| --- | --- |
| **Factores adicionales**  | **Procedimientos** |
| **P1** | **P2** | **P3** | **P…** | **P…** |
| **Especie** |  |  |  |  |  |
| **Genotipo** |  |  |  |  |  |
| **Madurez** |  |  |  |  |  |
| **Edad** |  |  |  |  |  |
| **Sexo** |  |  |  |  |  |
| **Grado de aprendizaje del animal para el procedimiento** |  |  |  |  |  |
| **Utilización de los animales en otro procedimiento de este proyecto** |  |  |  |  |  |
| **Métodos utilizados para reducir o suprimir el dolor, el sufrimiento**  |  |  |  |  |  |
| **Uso de puntos finales humanitarios** |  |  |  |  |  |

**Clasificación global de la severidad de los procedimientos:**

(*Sección III- Anexo IX del RD 53/2013*)

|  |
| --- |
| **Categoría de severidad de los procedimientos** |
| **Procedimiento** | **Leve** | **Moderado** | **Severo** | **Sin recuperación** |
| **P1** | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| **P2** | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| **P3** | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| **P…** | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |
| **P…** | ☐ | ☐ | ☐ | ☐ |

|  |
| --- |
| **Tipo de proyecto** (Art.31 – RD 53/2013) |
|  Tipo I☐ |  Tipo II☐ |  Tipo III☐ |

1. **Medidas adoptadas para evitar la repetición injustificada de procedimientos:**

|  |  |
| --- | --- |
| **Medidas adoptadas para evitar la repetición injustificada de procedimientos** | ¿Se ha llevado a cabo antes este experimento con animales? En caso afirmativo, justifique por qué debe repetirse. En caso negativo, indique las bases de datos y herramientas de búsqueda que ha consultado para comprobar que no se ha llevado a cabo antes el experimento animal (enumere un mínimo de búsquedas e indique la fecha de búsqueda). |

1. **Condiciones de alojamiento, zootécnicas y de cuidado de los animales:**

|  |
| --- |
| **ESTABULACIÓN / CONFINAMIENTO** |
| **Aislamiento** |  **SI** ☐ **NO**☐ |
| **Duración y justificación****(sólo en caso de aislamiento)** |  |
| **Método físico de contención (jaula metabólica, cepo, etc.) (ejemplos para que sirvan de guía en la redacción)** | **Duración** | **Justificación** |
| **CEPO****ESTEREOTAXICO****CÁMARA DE ANESTESIA****CABINA DEL IVIS****Cubetas en un armario termostatizado** (tipo estufa) a 30ºC en la zona de inoculados del animalario, mientras los ratones se recuperan de la anestesia intraperitoneal con ketamina/xilacina. Los animales estarán juntos dentro de cada cubeta y tapados con papel secamanos autoclavado para facilitar que no sufran hipotermia | **3 MINUTOS****20-30 MINUTOS****5-15 MINUTOS****5-10 MINUTOS****30-45 minutos**, mientras los ratones se recuperan de la anestesia intraperitoneal con ketamina/xilacina previa a la inoculación intranasal. | Inmovilización animalpara inyecciónintravenosaEquipo necesario quepermite la sujeción deratones para realizarprocedimientosquirúrgicos en el cráneo.Dado el pequeño tamañodel cerebro murino, esnecesaria laimplementación de unameticulosa técnicaquirúrgica que permitaun correcto y precisoimplante de las célulastumorales en lascoordenadas exactas. Senecesita un equipoestereotáxico paraasegurar que no seproducen movimientoslaterales de la aguja, loque puede causartraumatismos.Equipo necesario para la inducción y mantenimiento de un animal en el plano anestésico.Equipo necesario para toma de imágenes. Una vez anestesiado en la cámara del equipo de anestesia se trasladará el animal a la cabina del IVIS donde se colocará boca arriba con contacto con la boquilla para mantener el plano enestésico.Para prevenir la posible hipotermia causada por anestesia con ketamina/xilacina. |
| **Especificar los requerimientos particulares de manejo (si los hubiera para los animales de este ensayo) (ejemplos para que sirvan de guía en la redacción)** |
| Inyección intraperitoneal: Se inmovilizarán los ratones sujetándolos suave pero firmemente por la piel del dorso con los dedos pulgar e índice, a la altura de las escápulas. Se girará al ratón colocándolo boca arriba y apoyándolo posteriormente sobre la palma de la mano menos diestra y se finalizará la sujeción atrapando la base del rabo entre los dedos anular y/o meñique, el dedo corazón se colocará presionando ligeramente el lomo del animal dejando de esta manera el vientre tenso y firme para poder suministrar el fármaco mediante una inoculación intraperitoneal con la mano diestra. La duración total de la inmovilización e inoculación será inferior a un minuto por individuo. |
| **Problemas conocidos relacionados con la reproducción y cría de cualquier especie, línea o cepa que se vaya a utilizar en el proyecto** |
|  |
| **Modificación de cualquier parámetro medioambiental del animal (si se requiere)** |
|  |
| **Protocolo de supervisión de los animales (diario, mensual, momento crítico, etc.)** |
|  |
| **Identificación del responsable** |
|  |

1. **Métodos de eutanasia:**

*(Anexo III, apartados 1, 2 y 3 del RD 53/2013)*

|  |  |
| --- | --- |
| **Métodos utilizados, producto, concentración, dosis, vía, etc. (ejemplos para que sirvan de guía en la redacción)** | Si no es uno de los incluidos en el anexo IV, explique y justifique por qué es necesario otro método**Liberación paulatina de CO2 hasta saturación****respiratoria.** La eutanasia se realizará en una cámara de CO2, de la que se dispone en el animalario del Centro Nacional de Biotecnología y se utilizará bajo la supervisión de la persona responsable, que cuenta con la debida capacitación. Se seguirán los siguientes pasos:• Introducir los animales en la cámara de CO2 sin agruparlos (en su propia jaula y sin cobertor) sin que otros animales puedan verlos.• Cerrar la tapa (transparente para poder ver los animales del interior).• Abrir la válvula reguladora de la salida del CO2. La presión de salida estará regulada a 2 bares, equivalente a un flujo aproximado 20% del volumen de la cámara por minuto.• Los animales tardan unos 30-60 segundos en quedarse inmóviles.• Esperar al menos 30 segundos después de la última respiración.• Abrir la cámara y sacar la jaula con los animales.Extraerlos de la jaula individualmente comprobar durante al menos 5 segundos los signos que demuestren una eutanasia efectiva (pérdida de conciencia, pérdida de movimientos respiratorios y cardiacos). Si hay dudas sobre el resultado final de la eutanasia se puede asegurar la muerte del animal comprobando el rigor mortis y/o mediante un método físico (dislocación cervical). **Anestesia (ketamina/xilacina) + perfusión** Cese de la circulación mediante sedación profunda del animal con ketamina/xilacina (ketamina 80 mg/kg; 10 mg / kg xilacina) y perfundidos de forma transcardíaca con paraformaldehído al 4%. **Sobredosis anestesia (ketamina/xilacina)** Cese de la respiración del animal por sobredosis de anestésico. Se inoculará el triple de la dosis para analgesia/anestesia (300mg/kg ketamina + 45 mg/kg xilacina) preferiblemente por vía subcutánea (menos invasiva que intraperitoneal o intramuscular). Una vez llegado a este punto se monitorizará la respiración del animal durante cinco minutos para comprobar que la eutanasia ha sido efectiva.**Sobredosis de anestesia (isoflurano)** Cuando el animal esté dentro del plano anestésico se aportará un flujo constante con el cuádruple de la concentración de isoflurano indicada en el apartado 6 y se mantendrá hasta los 30 segundos posteriores desde que el animal deje de respirar. Una vez llegado a este punto se sacará al animal del equipo de anestesia y se monitorizará la respiración durante un minuto para comprobar que la eutanasia ha sido efectiva. |
| **Responsable de la práctica de la eutanasia** |  |

☐ No aplicable. Los animales se mantienen vivos.

1. **Capacitación formalmente acreditada de las personas que participan en el proyecto, exigible para el desempeño de las tareas asignadas:**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Nombre** | **Centro / Institución** | **Cargo/Puesto** | **Categoría** **(RD 1201/2005)**  | **Función****(RD 53/2013- Orden ECC/566/2015)**  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |

|  |  |
| --- | --- |
| **RD 1201/2005** | **RD 53/2013- Orden ECC/566/2015** |
| **Categoría A** | **(a) Cuidado de los animales** **(b) Eutanasia de los animales** |
| **Categoría B** | **(b) Eutanasia de los animales** **(c) Realización de los procedimientos** |
| **Categoría C** | **(c) Realización de los procedimientos** **(d) Diseño de proyectos y procedimientos** |
| **Categoría D1** | **(e) Supervisión *in situ* del bienestar y cuidado de los animales** |
| **Categoría D2** | **(b) Eutanasia de los animales** **(f) Veterinario designado** |

En …………, …… de…….. de…….

**Fdo.: ……………………………………………… VºBº: ………………………………………………….**

 **Responsable/s del proyecto\* Responsable/s de bienestar animal**

**VºBº: ...……………………………………………………..**

 **Responsable/s administrativo de la Institución**

 **del usuario-Director del Instituto o Centro**

\*El responsable del proyecto afirma que toda la información facilitada en esta Solicitud de evaluación es veraz. Asimismo se compromete a comunicar sin dilación a este *órgano habilitado*, cualquier modificación significativa en el programa de trabajo de experimentación animal (v.gr. inclusión de nuevos procedimientos, utilización de nuevas especies, aumento del número estimado de animales, distinta técnica anestésica o analgésica o método de eutanasia, variación de criterios de punto final humanitarios, cualquier cambio que pudiera determinar una nueva clasificación del tipo de PROYECTO o de los procedimientos en función de su grado de severidad).