

Težina pokusa određuje se u odnosu na očekivani stupanj boli, patnje, tjeskobe ili trajnog oštećenja koje će životinja iskusiti tijekom trajanja pokusa.

Odsjek I:

Kategorije težine

Nepovratna:

Pokus koji se u cijelosti provodi u općoj anesteziji nakon koje se životinja neće vratiti svijesti razvrstat će se kao »nepovratan« pokus.

Blaga:

Pokus na životinjama nakon kojeg životinje mogu osjećati kratkotrajnu blagu bol, patnju ili tjeskobu ili pokus bez značajnog slabljenja dobrobiti životinja ili općeg stanja životinja razvrstat će se kao »blag« pokus.

Umjerena:

pokus na životinjama nakon kojeg će životinje vjerojatno iskusiti kratkotrajnu umjerenu bol, patnju ili tjeskobu, ili dugotrajnu umjerenu bol, patnju ili tjeskobu i pokus za koji je vjerojatno da će prouzročiti umjereno slabljenje dobrobiti životinja ili općeg stanja životinja razvrstat će se kao »umjeren« pokus.

Teška:

pokus na životinjama nakon kojeg će životinje iskusiti jaku bol, patnju ili tjeskobu ili dugotrajnu umjerenu bol, patnju ili tjeskobu, kao i pokus za koji je vjerojatno da će prouzročiti teško umanjeње/oslabljenje dobrobiti životinja ili općeg stanja životinja razvrstat će se kao »težak« pokus.

Odsjek II:

Kriteriji za razvrstavanje

Pri određivanju kategorije težine trebaju se uzeti u obzir svi zahvati ili postupanje sa životinjama u okviru definiranog pokusa. Razvrstavanje se temelji na najtežim posljedicama koje će vjerojatno iskusiti pojedinačna životinja nakon primjene svih odgovarajućih tehnika poboljšanja.

Pri razvrstavanju pokusa u pojedinu kategoriju uzet će se u obzir vrsta pokusa i brojni drugi čimbenici. Svi ovi čimbenici razmatrat će se od slučaja do slučaja.

Čimbenici povezani s pokusima uključivat će:

- vrstu postupanja, rukovanja,
- vrstu boli, patnje, tjeskobe ili trajnog oštećenja uzrokovanih pokusom (svi elementi pokusa) te intenzitet pokusa, trajanje, učestalost i raznovrsnost upotrijebljenih tehnika,
- kumulativnu patnju u okviru pokusa,

– sprječavanje prirodnog ponašanja uključujući ograničavanje standarda smještaja, držanja i njege.

U Odsjeku III. ovoga Priloga navedeni su primjeri o pokusima razvrstani u svaku od kategorija težine na temelju čimbenika povezanih s vrstom samog pokusa. Ti primjeri pokazuju kakvo bi razvrstavanje bilo najprimjerenije za pojedinu vrstu pokusa.

Međutim, za potrebe konačnog razvrstavanja pokusa po težini, trebaju se također uzeti u obzir sljedeći dodatni čimbenici, procijenjeni od slučaja do slučaja:

- tip vrste životinja i genotip,
- zrelost, dob i spol životinje,
- iskustvo životinje stečeno obukom s obzirom na pokus,
- ukoliko se životinja ponovno koristi, stvarna težina prethodnih pokusa,
- metode koje su korištene za smanjivanje ili uklanjanje boli, patnje i tjeskobe, uključujući poboljšanja uvjeta smještaja, držanja i njege,
- humani završetak pokusa.

Odsjek III:

Primjeri različitih vrsta pokusa, razvrstanih u svaku od kategorija težine na temelju faktora povezanih s vrstom pokusa

1. Blag:

- (a) davanje anestezije osim samo za potrebe usmrćivanja;
- (b) farmakokinetička studija s jednom danom dozom i ograničenim brojem uzetih uzoraka krvi (ukupno < 10% cirkulacijskog volumena), pri čemu se očekuje da tvar neće prouzročiti uočljive negativne učinke;
- (c) neinvazivno slikanje životinja (npr. magnetska rezonanca MRI) s korištenjem odgovarajućih sredstava za umirenje ili anesteziju;
- (d) površinski pokusi, npr. biopsije uški i repa, nekirurška potkožna implantacija minipumpi i transpondera;
- (e) primjena vanjskih telemetrijskih naprava koja uzrokuje samo manje tegobe životinjama ili manje smetnje normalne aktivnosti i ponašanja;
- (f) davanje tvari potkožno, intramuskularno, u trbušnu šupljinu, neposredno u želudac kroz grlo (gavage) i intravenozno putem površinskih krvnih žila, kad substancija samo blago djeluje na životinju i daje se u ograničenim dozama primjerenim veličini i vrsti životinje;
- (g) indukcija tumora ili prirodno nastali tumori, koji ne uzrokuju uočljive negativne kliničke učinke (npr. mali, potkožni, neinvazivni čvorići);
- (h) uzgoj genetički izmijenjenih životinja, što može prouzročiti blage učinke na fenotip;

- (i) davanje izmijenjene hrane, koja ne zadovoljava sve prehrambene potrebe životinja i u vremenskom okviru studije očekuje se da će uzrokovati blagu kliničku abnormalnost;
- (j) kratkotrajno (< 24 h) zadržavanje životinja u metaboličkim kavezima;
- (k) studije koje uključuju kratkotrajno odvajanje od socijaliziranih partnera, kratkotrajna izolacija u kavezima odraslih socijaliziranih vrsta štakora i miševa;
- (l) modeli koji izlažu životinje štetnim podražajima koji su kratkotrajno povezani s blagom boli, patnjom ili tjeskobom i koje životinje mogu uspješno izbjeći;
- (m) kombinacija ili akumulacija sljedećih primjera može rezultirati razvrstavanjem u »blag«:
 - procjena sastava tijela neinvazivnim mjerama i uz minimalno ograničavanje kretanja;
 - praćenje EKG-a neinvazivnim tehnikama na već naviknutim životinjama s minimalnim ograničavanjima ili bez njih;
 - upotreba vanjskih telemetrijskih naprava za koje se ne očekuje da uzrokuju tegobe socijalno prilagođenim životinjama i ne utječu na njihovu normalnu aktivnost i ponašanje;
 - uzgoj genetski izmijenjenih životinja, gdje se ne očekuje klinički uočljiv štetan utjecaj na fenotip;
 - dodavanje inertnih markera u hranu za praćenje izlučivanja probavnih produkata;
 - uskraćivanje hrane < 24 h kod odraslih štakora;
 - testiranje na terenu.

2. Umjeren:

- (a) učestala primjena testnih substancija koje proizvode umjerene kliničke učinke, i uzimanje uzoraka krvi (> 10% cirkulacijskog volumena) kod svjesne životinje u roku od nekoliko dana bez nadomještanja oduzetog volumena;
- (b) akutne studije utvrđivanja doze, testovi kronične toksičnosti/kancerogenosti bez usmrćivanja kao završetka pokusa;
- (c) operacija u općoj anesteziji s odgovarajućom analgezijom, povezana s postoperativnom boli, patnjom ili oslabljenjem općeg stanja. Primjeri uključuju: torakotomiju, kraniotomiju, laparotomiju, orhidektomiju, limfadenektomiju, tiroidektomiju, ortopedsku operaciju s učinkovitom stabilizacijom i zacjeljivanjem rana, presađivanje organa s učinkovitim sprječavanjem odbacivanja, kirurško usađivanje katetera ili biomedicinskih naprava (npr. telemetrijskih transmitera i mini pumpi itd.);
- (d) modeli sa uzrokovanim tumorima ili prirodno nastalim tumorima, koji očekivano uzrokuju umjerenu bol ili patnju ili umjeren poremećaj normalnog ponašanja;
- (e) zračenje ili kemoterapija subletalnom dozom, ili s inače smrtnom dozom ali s ponovnim uspostavljanjem imunostava. Očekivani negativni učinci su blagi ili umjereni i kratkotrajni (< 5 dana);
- (f) uzgoj genetski izmijenjenih životinja, što može imati umjerene učinke na fenotip;

- (g) stvaranje genetski izmijenjenih životinja putem kirurških zahvata;
- (h) upotreba metaboličkih kaveza uz umjereno ograničavanje kretanja tijekom produljenog razdoblja (do 5 dana)
- (i) studije davanja promijenjene hrane koja ne zadovoljava sve prehrambene potrebe životinja i u vremenskom okviru studije očekuje se da će uzrokovati umjerenu kliničku abnormalnost;
- (j) uskraćivanje hrane na 48 sati kod odraslih štakora;
- (k) izazivanje reakcije bježanja i izbjegavanja, pri čemu životinja ne može pobjeći ili izbjeći podražaj, te se očekuje da uzrokuje umjerenu tjeskobu.

3. Težak:

- (a) testovi toksičnosti s usmrćenjem kao završetkom pokusa, ili pri kojima se usmrćenje kao završetak pokusa očekuje i koji uzrokuju teška patofiziološka stanja. Naprimjer, pokusi akutne toksičnosti s jednom samom dozom (vidi smjernice o ispitivanju OECD-a);
- (b) ispitivanje uređaja čiji kvar može prouzročiti tešku bol, patnju ili smrt životinje (npr. srčani stimulatori);
- (c) ispitivanje potencije cjepiva koje karakterizira trajno oštećenje stanja životinje i progresivna bolest s usmrćenjem kao završetkom pokusa, povezano s dugotrajnom umjerenom boli, tjeskobom ili patnjom;
- (d) zračenje ili kemoterapija letalnom dozom bez ponovnog uspostavljanja imunološkog sustava ili ponovno uspostavljanje imunološkog sustava s imunološkom reakcijom transplantata u odnosu na prvobitnu bolest;
- (e) modeli sa uzrokovanim tumorima ili prirodno nastalim tumorima za koje se očekuje da uzrokuju letalne bolesti povezane s dugotrajnom umjerenom boli, tjeskobom ili patnjom. Naprimjer, tumori koji uzrokuju kaheksiju, invazivni tumori kosti, tumori koji rezultiraju metastazama, i tumori koji uzrokuju ulceracije;
- (f) kirurški i drugi zahvati na životinjama u općoj anesteziji za koje se očekuje da uzrokuju tešku ili trajnu umjerenu postoperativnu bol, patnju ili tjeskobu ili teško i trajno slabljenje općeg stanja životinja. Uzrokovanje kompliciranih fraktura, toraktomije bez odgovarajuće analgezije ili traume koje uzrokuju višestruko zatajenje organa;
- (g) presađivanje organa kad odbacivanje organa po svojoj vjerojatnosti vodi do teške tjeskobe ili slabljenja općeg stanja životinja (npr. ksenotransplantacija);
- (h) uzgoj životinja s genetskim poremećajima koje očekivano trpe teško i trajno slabljenje općeg stanja, na primjer Huntingtonova bolest, mišićna distrofija, kronični ponavljajući modeli neuritisa;
- (i) korištenje metaboličkih kaveza uz teško ograničavanje kretanja tijekom produljenog razdoblja;
- (j) neizbježan električni šok (npr. za izazivanje naučene bespomoćnosti);

(k) duga razdoblja potpune izolacije socijaliziranih životinjskih vrsta npr. pasa i primata koji ne uključuju čovjeka;

(l) imobilizacijski stres za izazivanje gastričkih ulceracija i zatajenja srca kod štakora;

(m) prisilno plivanje ili drugo vježbanje do potpune iscrpljenosti kao završetak pokusa.

[1]Direktiva Vijeća 76/768/EEZ od 27. srpnja 1976. o usklađivanju zakonodavstva država članica koje se odnosi na kozmetičke proizvode (SL L 262, 27. 9. 1976.).

[2]Pravilnikom su preuzete odredbe Direktive Vijeća 98/58/EZ od 20. srpnja 1998. o zaštiti životinja koje se uzgajaju u svrhu proizvodnje (SL L 221, 8. 8. 1998.).

[3]Pravilnikom su preuzete odredbe Direktive Vijeća 91/629/EEZ od 19. studenog 1991. o minimalnim standardima za zaštitu teladi (SL L 340, 11.12.1991.).

[4]Pravilnikom su preuzete odredbe Direktive Vijeća 91/630/EEZ od 19. studenog 1991. o minimalnim standardima za zaštitu svinja (SL L 340, 11.12.1991.).

[5]Pravilnikom su preuzete odredbe Direktive Vijeća 1999/74/EZ od 17. srpnja 1999. kojom se određuju minimalni standardi za zaštitu kokoši nesilica (SL L 203, 3. 8. 1999.)

[6]Pravilnikom su preuzete odredbe Direktive Vijeća 2007/43/EZ od 28. lipnja 2007. o određivanju minimalnih pravila za zaštitu pilića koji se uzgajaju za proizvodnju mesa (SL L 182, 12. 07. 2007).