 **DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ**

**İZMİR ULUSLARARASI BİYOTIP VE GENOM ENSTİTÜSÜ**

**HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU**

**BAŞVURU FORMU**

FORM NO 1 Yayın Tarihi: Güncelleme Tarihi:

**Protokol Numarası:**

**Onay Tarihi:**

**1.PROJE PERSONELİ**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Proje Yürütücüsünün** | | | | | | | |
| Ünvanı |  | | | | | | |
| Adı |  | | | | | | |
| Soyadı |  | | | | | | |
| Fakültesi |  | | | | | | |
| Bölümü |  | | | | | | |
| İş telefonu |  | | | | | | |
| İmza |  | | | | | | |
| e-mail adresi |  | | | | | | |
| **Diğer proje personelinin** | | | | | | | |
| **Adı soyadı** | | **Ünvanı** | | **Kurumu/Fakültesi** | **Bölümü** | **Projedeki Görevi (Ayrıntılı Olarak Açıklayınız)** | **İmzası** |
|  | |  | |  |  |  |  |
|  | |  | |  |  |  |  |
|  | |  | |  |  |  |  |
|  | |  | |  |  |  |  |
|  | |  | |  |  |  |  |
|  | |  | |  |  |  |  |
|  | |  | |  |  |  |  |
|  | |  |  |  |  |  |  |

**2.GENEL PROJE BİLGİLERİ**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Projenin Adı:** | | |
| **Araştırmayı destekleyen kuruluş(lar):**  TÜBİTAK  BAP  DPT  Firma  Kendi İmkânlarımla  Diğer(Açıklayınız) | | |
| Yok: | | |
| FUA Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir | | Başvuru Bitiş Tarihi: |
| TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir | |  |
| Desteklenmesi amacıyla henüz bir yere gönderilmemiştir | | Başvuru Tarihi: |
| Diğer (Belirtiniz): | |  |
| A. | | Başvuru Tarihi: |
| B. | | Başvuru Tarihi: |
| **Projenin süresi** : ay | | |
| **Projenin Tipi** | | |
| Tıpta Uzmanlık Tezi | | |
| Doktora Tezi | | |
| Yüksek Lisans Tezi | | |
| Araştırma Projesi | | |
| Eğitim | | |
| Diğer (belirtiniz): | | |
| **Deneyde kullanılacak hayvan türü** | | |
| Sıçan | | |
| Fare | | |
| Kobay | | |
| Tavşan | | |
| Diğer (belirtiniz) | | |
| **Çalışmanın Niteliği** | | |
| Akut | Kronik | |

**3. DENEY HAYVANI KULLANIMININ GEREKÇELERİ VE SEÇİLEN TÜRÜN UYGUNLUĞU**

**3.1. Bu çalışma için canlı hayvan kullanmak gereklidir; çünkü (birden fazla işaretleyebilirsiniz)**

|  |  |
| --- | --- |
|  | a. İncelenen süreçlerin karmaşıklığı nedeniyle daha basit sistemlerde oluşturulması ve model kurulması olanaksızdır. |
|  | b. İncelenecek sistemin, canlı olmayan modellerde taklit edilebilmesi için yeterli bilgi birikimi yoktur. |
|  | c. Preklinik çalışmalarda, insan üzerinde denenmeden önce canlı hayvan üzerinde deney yapmak zorunludur. |
|  | d. Diğer (lütfen açıklayınız):… |

**3.2. Bu hayvan türü seçilmiştir; çünkü (birden fazla işaretleyebilirsiniz***):*

|  |  |
| --- | --- |
|  | a. Daha önce elde edilen verilerle karşılaştırma yapmayı olanaklı kılan geniş veritabanları bulunmaktadır. |
|  | b. Aşağıda belirtildiği üzere, önerilen türün anatomik ve fizyolojik özellikleri yapılacak çalışma için yegane uygun modeldir: Açıklayınız: |
|  | c. Önerilen tür, bu çalışmanın yapılabilmesi için uygun doku, boyut ve anatomiye sahip ve filogenetik olarak en düşük olanıdır. |
|  | d. Bu tür, insandaki durumu taklit etmek için çok uygun bir fizyolojik model oluşturmaktadır. |
|  | e. Bu projenin köken aldığı önceki çalışmalarda da aynı tür kullanılmıştır. |
|  | f. Bu türün aşağıda belirtilen özellikleri çalışma için en uygun seçimdir: |
|  | g. Diğer (lütfen açıklayınız): |

**4. HAYVAN SAĞLAMA VE BARINDIRMA BİLGİLERİ**

**4.1. Deney hayvanlarının kaynağı:**

|  |  |
| --- | --- |
|  | a. Dokuz Eylül Üniversitesi İBG Deney Hayvanları Laboratuarı’ndan sağlanacaktır. |
|  | b. Diğer bir yasal satıcıdan alınmaktadır. Belirtiniz:… |
|  | c. Bir başka çalışmadan artmıştır. Belirtiniz: … |
|  | d. Yaban ortamdan izole edilecektir. |
|  | e. Bağış olarak alınacaktır. |
|  | f. Diğer. Belirtiniz: … |

**4.2. Deney hayvanlarının barındırılması:**

|  |  |
| --- | --- |
|  | a. Dokuz Eylül Üniversitesi İBG Deney Hayvanları Laboratuvarı |
|  | b. Hayvan, Deney Hayvanları Laboratuarından dışarı çıkarılacaktır. |
| a. Hayır       b. Evet       (Eğer yanıtınız evet ise aşağıdaki soruları yanıtlayınız)  1. Tüm hayvanlar aşağıda belirtilen laboratuvara götürülecektir.  Adres:...  2. Deney hayvanının canlı olarak laboratuvarda tutulacağı süre yaklaşık olarak ne  kadardır: …  3. Hayvanın gideceği birim sorumlusundan gerekli izin alındımı?        Evet       Hayır |
|  | c. Diğer. Lütfen belirtiniz : … |

**4.3. Özel barınma, koşullama, diet ve diğer durumlar**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | a. Hiçbir özel koşul uygulanmayacaktır | |
|  | b. Deneylerde aşağıda belirtilen uygulamalar yapılacaktır (geçerli olanların tümünü işaretleyiniz) | |
|  | | 1. Uzun süreli yüksek/düşük sıcaklığa maruz bırakılma |
|  | | 2. Uzun süreli standart dışı nemlilik/kuruluk altında bırakılma |
|  | | 3. Uzun süreli standart dışı atmosferik basınca maruz bırakılma |
|  | | 4. Uzun süreli standart dışı atmosferde tutulma |
|  | | 5. Standart dışı kafeste barındırma |
|  | | 6. Uzun süreli standart dışı ışık-karanlık siklusunda tutulma |
|  | | 7. 12 saatten daha uzun süre susuz bırakma |
|  | | 8. 24 saatten daha uzun aç bırakılma (geviş getiren hayvanlar için 48 saat) |
|  | |

**5. DETAY PROJE BILGILERI**

## 5.1. Proje Tanımı

|  |
| --- |
| **Projenin amaçlarını bu konuda uzman olmayan kişilerce de okunacağını düşünerek kısa bir şekilde özetleyiniz:**  **PROJENİN ADI:**  **ÖZET:**  **GİRİŞ:**  **AMAÇ** |
|  |
| **Deney prosedürü (hayvanlarda yapılacak işlemleri sırasıyla tanımlayınız):** |
| **MATERYAL ve METOD:**  **- Değerlendirme Yöntemleri:**  **- Literatüre getireceği nitelikler:**  **- İstatistik:**  **- Kaynaklar:** |

## 5.2. Deney grupları ve hayvan sayıları

|  |  |
| --- | --- |
| **Deney ve kontrol grupları** | **Grup başına**  **hayvan adedi** |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
| **Kullanılan toplam hayvan sayısı** |  |

**6.** **ANESTEZİ ve ANALJEZİ**

**6.1. Preanastezik-analjezik ya da sedatif ilaçlar**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Ajan | Doz | Veriliş  yolu | Etki  Süresi |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |

## 6.2. Anestezik ajanlar

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Ajan | Doz | Veriliş  yolu | Anestezi altında  Geçen süre |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |

## 6.3. Anestezi derinliğinin izlenmesi (uygun seçeneklerin tümünü işaretleyiniz)

|  |  |
| --- | --- |
|  | a. Protokole uygulanması uygun değildir |
|  | b. Cilt ya da parmak kıstırma yanıtları |
|  | c. Palpebra ya da kornea refleksi (rodentler için uygun değildir) |
|  | d. Çene ya da iskelet kası tonusu izlenmesi |
|  | e. Fizyolojik yanıtın izlenmesi |
|  | f. Diğer. Lütfen açıklayınız : |

**6.4. İşlem sonrası (post-op) verilecek anajezik ve trankilizan ilaçlar**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Ajan | Dozu | Veriliş  sıklığı | Veriliş  yolu | Tedavi  süresi |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |

**Post-op bakım sorumlusu var mı**

|  |
| --- |
| Var  Yok  Varsa  Ad-Soyadı:  Acil durumlar için telefon numarası: |

**7. DENEYLERIN SONLANDIRILMASI (DENEY HAYVANI IÇIN DENEYIN BITIŞ ŞEKLI)** :

|  |  |
| --- | --- |
|  | a. Deney sonunda ötenazi yapılmayacaktır. |
|  | b. Herhangi bir deney yapılmadan ya da tedavi uygulanmadan önce ötenazi yapılacaktır. |
|  | c. Belli bir süre yaşatıldıktan sonra ötenazi yapılacaktır:       (Saat/Gün/Ay) |
|  | d. Deney protokolünün uygulanmasından sonra ötenazi yapılacaktır. |
|  | e. %15’ten fazla kilo kaybı olursa ötenazi yapılacaktır. |
|  | f. Genel durum kötüleşirse ötenazi yapılacaktır. Lütfen tanımlayınız: |
|  | g. Deneysel işlemlerden sonra hayvan ölebilir. Olası nedenleri açıklayınız:  **Prosedürlerin Şiddet Sınıflandırması\***        Düzelmez       Hafif       Orta       Şiddetli  \*Tüm prosedürler başvuru formu sonundaki Ek-1’de belirtilen tanımlama kriterleri kullanılarak vaka bazında hafif, orta, şiddetli veya düzelmez olarak sınıflandırılmalıdır. |

**8. ÖTENAZİ**

|  |  |
| --- | --- |
|  | a. Ötanazi uygulanmayacaktır |
|  | b. Yüksek doz anestezik |
|  | c. Anestezi/trankilizan altında dekapitasyon |
|  | d. Anestezi/tranklizian altında servikal dislokasyon |
|  | e. Cerrahi sırasında ekssanguinasyon (kansızlaştırma) |
|  | f. Karbon dioksit solutma |
|  | g. Diğer. Lütfen tanımlayınız: |

## 9. DENEY SIRASINDA VEYA SONRASINDA ORTAYA ÇIKABILECEK BİYOLOJİK VE ÇEVRESEL RİSK FAKTÖRLERİ

|  |  |
| --- | --- |
|  | a. Mikrobiyolojik kontaminasyon riski. Tanımlayınız:… |
|  | b. Kanserojen maddeler. Sıralayınız: … |
|  | c. Radyoizotoplar. Sıralayınız: … |
|  | d. Biyolojik toksinler. Sıralayınız: … |
|  | e. Antineoplastik/sitotoksik ajanlar. Sıralayınız: ... |
|  | f. Diğer ajanlar |
|  | g. Diğer risk faktörleri |
|  | h. Yok |

## 10. DENEY HAYVANINDA İZLENECEK OLASI SAĞLIK PARAMETRELERİ

Protokole uygulanması olanaklı değildir. Lütfen açıklayınız…

## 10.1. İzlenecek olası değişiklikler

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | a. Vücut ağırlığının % ‘i kadar kilo kaybı | | |
|  | b. Ölüm | | |
|  | c. Davranış değişiklikleri. Açıklayınız: … | | |
|  | d. Gıda ve su alımında azalma |  | n. Dispne |
|  | e. Enfeksiyon |  | o. Hipotermi |
|  | f. Abse |  | p. Hipertermi |
|  | g. Dehidratasyon |  | r. Cilt değişiklikleri |
|  | h. Malnütrisyon |  | s. Parezi/paralizi |
|  | i. Genel güçsüzlük |  | t. Ataksi |
|  | j. Diyare |  | u. İnkontinans |
|  | k.Konstipasyon ya da ileus |  | v. Diürez |
|  | l. Konvülsiyon |  | y. Diğer. Açıklayınız: .. |
|  | m.Koma |  | z. Hiçbiri |

**10.2. Sağlık değişikliklerini takip etme yöntemleri (uygun şıkların tümünü işaretleyiniz)**

|  |  |
| --- | --- |
|  | a. Tartı. Lütfen sıklığını yazınız:… |
|  | b. Davranış, aktivite ve postür kontrolü |
|  | c. Lokalize ağrı ya da rahatsızlık açısından gözleme |
|  | d. İşlem yapılan bölgenin yapışıklıklar, akıntı, kızarıklı¨ya da şişme açısından izlenmesi |
|  | e. Hayvanın hareket kabiliyetinde meydana gelen azalmalar |
|  | f. Günlük gıda ve su tüketiminin izlenmesi |
|  | g. Diğer. Tanımlayınız: |

**10.3. Sağlık değişikliklerini saptayacak gözlemlerin sıklığı (sadece bir şıkkı işaretleyiniz)**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | a. Günde bir defa |  | e. Haftada bir |
|  | b. Günde iki defa |  | f. Diğer. Tanımlayınız: |
|  | c. İki günde bir |  | g.Protokole uygulanması olanaklı değildir. |
|  | d. Haftada iki defa |  |  |

**10.4. Hayvanların deney protokolünden çıkarılma ölçütleri (uygun şıkların hepsini işaretleyiniz)**

|  |  |
| --- | --- |
|  | a. Veterinerin uygun görmesi (insani nedenler) |
|  | b. Vücut ağırlığının %15’inden fazla kilo kaybı |
|  | c. Düzgün yürüyememe |
|  | d. Düzgün gıda ve su almama |
|  | e. Uyaranlara belirgin derecede azalmış yanıt verme |
|  | f. Diğer. Tanımlayınız: |

## 10.5. Deney protokolünden çıkarılan hayvanların akibeti

|  |  |
| --- | --- |
|  | a. Ötanazi |
|  | b. Diğer. Tanımlayınız : |

**11. 3 adet tam metin literatür fotokopisi başvuru dosyasına eklenmelidir (metodolojiyi destekleyen)**

* **…**
* **…**
* **…**

**12. Proje metni ve başvuru formunun içinde bulunduğu 1 adet CD**

**BAŞVURU YAPACAK ARAŞTIRICILARIN DİKKATİNE !**

**Etik Kurul Onayından sonra Deney Hayvanı Laboratuvarında çalışmalarda DEÜ İBG çalışanlarına öncelik tanınacaktır.**

Başvuru formunu okudum. Proje yürütücüsü olarak, Resmi Gazete’nin 01.07.2004 tarih ve 25509 sayılı nüshasında yayınlanarak yürürlüğe giren 24.06.2004 tarih ve 5199sayılı Hayvanları Koruma Kanunu ve ilgili mevzuata uymam gerektiğinin bilincindeyim. Çalışmanın etik sorumluluklarını kabul ediyorum. Çalışmanın etik kurul denetimine açık yapılacağını ve deney hayvanları etik kurulu tarafından kabul edildiği gibi yürütüleceğini beyan ederim

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Proje Yürütücüsü** | | |
| Adı Soyadı | İmza | Tarih |

**HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU PROJE KONTROL FORMU**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Proje kontrol kutusu  (Ekli projede bu bilgilerin verildiğini sondaki kutuları işaretleyerek kontrol ediniz. Bu listedeki eksiklikler proje incelemesini geciktirecektir)** | Başvuru Formu var mı (1 adet orijinal 2 adet fotokopi)? | Evet | Hayır |
| Proje metni var mı (1 adet orijinal 2 adet fotokopi)? | Evet | Hayır |
| Deney Hayvanı Kullanımı Sertifikası var mı (3 adet fotokopi)? | Evet | Hayır |
| Taahhütname var mı (1 adet orijinal 2 adet fotokopi)? | Evet | Hayır |
| Çıkar İlişkisi belgesi var mı (1 adet orijinal 2 adet fotokopi)? | Evet | Hayır |
| Proje metni ve başvuru formunun içinde olduğu CD var mı? | Evet | Hayır |
| Projeyi destekleyen 3 adet tam metin literatür var mı? | Evet | Hayır |

**EK-1**

**PROSEDÜRLERİN ŞİDDET SINIFLANDIRMASI**

Bir prosedürün şiddeti, tek bir hayvan tarafından prosedür sırasında yaşanması beklenen ağrı, eziyet, sıkıntı ve kalıcı hasar düzeyi ile belirlenir.

**Bölüm I: Şiddet kategorileri**

*Düzelmez*: Tamamen genel anestezi altında gerçekleştirilen ve hayvanın bilincinin açılmasının beklenmediği prosedürler düzelmez olarak sınıflandırılır.

*Hafif*: Hayvanlar üzerinde uygulanan ve hayvanın kısa süreyle hafif ağrı, eziyet ve sıkıntı çekmesinin mümkün olduğu prosedürler ve hayvanların genel durumu ve afiyeti üzerinde önemli bir bozulmaya yol açmayan prosedürler hafif olarak sınıflandırılır.

*Orta*: Hayvanlar üzerinde uygulanan ve hayvanın kısa süreyle orta düzeyde ağrı, eziyet ve sıkıntı çekmesinin ya da uzun süreli hafif düzeyde ağrı, eziyet ve sıkıntı çekmesinin mümkün olduğu prosedürler veya hayvanların genel durumu ve afiyeti üzerinde orta derecede bozulmaya yol açan prosedürler “orta” olarak sınıflandırılır.

*Şiddetli*: Hayvanlar üzerinde uygulanan ve hayvanın kısa süreyle şiddetli ağrı, eziyet ve sıkıntı çekmesinin ya da uzun süreli orta düzeyde ağrı, eziyet ve sıkıntı çekmesinin mümkün olduğu prosedürler veya hayvanların genel durumu ve afiyeti üzerinde şiddetli bozulmaya yol açan prosedürler “şiddetli” olarak sınıflandırılır.

**Bölüm II: Şiddet belirleme kriterleri**

Şiddet kategorisinin belirlenmesinde, belli bir prosedür sırasında bir hayvana müdahale veya manipülasyon dikkate alınır. Bu belirleme, tüm uygun iyileştirme teknikleri uygulandıktan sonra tek bir hayvan tarafından yaşanması muhtemel en şiddetli etkiye dayanılarak yapılır.

Bir prosedürün şiddet kategorisi belirlenirken, prosedürün tipi ve diğer faktörlerde dikkate alınır. Bütün bu faktörler vaka bazında değerlendirilir.

Prosedürle ilgili faktörler aşağıdakileri içerir:

– Manipülasyon türü ve elle tutma şekli,

– Prosedürün tüm unsurlarının yol açtığı ağrı, eziyet ve sıkıntı veya kalıcı hasarın türü, yoğunluğu, süresi, sıklığı ve kullanılan tekniklerin çeşitliliği,

– Bir prosedürde çekilen kümülatif ağrı,

– Barındırma, üretme ve bakım standartlarındaki kısıtlamalar da dahil, doğal davranış sergilemenin engellenmesi.

Sadece prosedürün tipiyle ilgili temel faktörler her bir şiddet kategorisi için Bölüm III’ te sunulan örneklerde verilmiştir. Bazı prosedür tiplerine en uygun sınıflandırmanın hangisi olduğu bu parametreler dikkate alınarak belirlenir. Bununla birlikte, prosedürün şiddet sınıflandırmasında ve vaka bazında değerlendirilmesinde aşağıdaki ek faktörler de dikkate alınır.

– Türlerin tipi ve genotipi,

– Hayvanın gelişmişliği, yaşı ve cinsiyeti,

– Hayvanın prosedürle ilgili olarak eğitimi ya da alıştırılması,

– Hayvan tekrar kullanılacaksa, daha önceki prosedürlerde maruz kaldığı şiddet katagorisi,

– Barınma, üretme ve bakımın iyileştirilmesi dahil, ağrı, eziyet ve sıkıntıyı azaltmak veya ortadan kaldırmak için kullanılan yöntemler,

– Daha insani uygulama açısından yapılabilecek en son noktalar

**Bölüm III:**

**Prosedürün tipiyle ilgili faktörler bazında her şiddet kategorisine atanan farklı prosedür tiplerinden örnekler:**

1. **Hafif:**
2. Yalnızca öldürmek amacıyla uygulananlar dışındaki anestezi uygulaması;
3. Tek dozun uygulandığı, toplam dolaşım hacminin %10’u veya daha az kan örneğinin alındığı ve maddenin herhangi bir belirgin ters etkiye neden olmasının beklenmediği farmakokinetik çalışma,
4. Hayvanların uygun sakinleştirici veya anestezi etkisi altında invazif olmayan örneğin MR ile görüntülenmesi,

ç) Yüzeysel prosedürler, örneğin kulak ve kuyruk biyopsileri, mini-pompa ve sinyal verici gibi transponderlerin cerrahi olmayan subkutan implantasyonu;

1. Hayvanlarda sadece ufak rahatsızlıklara ya da normal faaliyet ve davranışlarda ufak sorunlara yol açan harici telemetri cihazlarının uygulanması,
2. Hayvan üzerinde maddenin artık hafif etkiye sahip olduğu ve hacimlerin hayvanın büyüklüğü ve türü için uygun sınırlar dahilinde bulunduğu subkutan, intramüsküler, intraperitonel yollarla, lastik sonda ile besleme ve intravenöz olarak yüzeysel kan damarları yoluyla uygulama,
3. Belirgin olumsuz klinik etki oluşturmayan tümör veya örneğin, küçük, subkutan, invazif olmayan nodüller gibi spontan tümör indüksiyonu,
4. Fenotipte hafif etkilerle sonuçlanması beklenen genetiği değiştirilmiş hayvanların üretilmesi,

ğ) Hayvanın yem ihtiyacını tam olarak karşılamayan ve çalışmanın zaman süreci içinde hafif klinik anormalliğe yol açması beklenen modifiye diyetlerle beslenmesi,

1. Metabolik kafeste 24 saat ve daha kısa süreli tutulması,
2. Sosyal ortamda yaşayan hatlardan olan fare ve sıçanların kısa süreli olarak tek başlarına kafese kapatılmalarını ve sosyal partnerlerden kısa süreli olarak ayrı kalmalarını içeren çalışmalar,
3. Hayvanların zararlı uyarıcılara maruz bırakıldığı, kısa süreyle ağrı, eziyet ve sıkıntı veren işlem sonrası hayvanların bu durumdan kurtulabileceği modeller.
4. Aşağıdaki örneklerin tamamı veya birkaçından oluşan kombinasyonu “hafif” olarak sınıflandırılır.
   1. İnvazif olmayan önlemler ve minimal kısıtlamayla vücut kompozisyonunun değerlendirilmesi,
   2. Alışkın hayvanlarda minimal veya hiç kısıtlama oluturmayan EKG’nin invazif olmayan tekniklerle izlenmesi,
   3. Sosyal olarak uyum sağlamış hayvanlarda bozukluğa yol açması beklenmeyen ve normal faaliyet ve davranışa engel olmayan harici telemetri cihazları uygulaması,
   4. Klinik olarak belirlenebilir olumsuz fenotip oluşturması beklenmeyen genetiği değiştirilmiş hayvanların üretilmesi,
   5. Sindirilen besinlerin geçişini izlemek için diyete, vucuda zararsız olan inert markerler katmak,
   6. Yetişkin sıçanlara 24 saatten az bir süreyle yem verilmemesi,
   7. Saha testi uygulaması.
5. Orta:
6. Orta derecede klinik etki yaratan test maddelerinin sık sık uygulanması ve bilinci açık bir hayvandan birkaç gün içinde hacim ilavesi yapılmaksızın kan örneklerinin alınması,
7. Ölümcül olmayan son-noktalarla akut doz belirleme çalışmaları, kronik toksisite testleri,
8. Genel anestezi ve uygun analjeziklerin etkisi altında yapılan ameliyatla bağlantılı örneğin torakotomi, kranyotomi, laparotomi, orkidektomi, lenfadenektomi, tiroidektomi, efektif stabilizasyonla ortopedik cerrahi ve yara yönetimi, reddin etkin yönetimiyle organ nakli, cerrahi kateter implantasyonu veya telemetri trasmiterleri, mini pompa gibi biomedikal cihaz takma gibi ameliyat sonrası ağrı, sıkıntı ve genel durumda bozulma,

ç) Orta düzeyde ağrı ve sıkıntıya yol açması veya normal davranışı engellemesi beklenen tümör veya spontan tümör indüksiyonu modelleri,

1. Ters etkileri hafif veya orta şiddette ve 5 gün veya daha kısa süreli olan subletal dozda ya da bağışıklık sisteminin rekonstitüsyonu olmasa ölümcül olabilecek dozda ışın veya kemoterapi,
2. Orta derecede etkilenmiş fenotiple sonuçlanması beklenen genetiği değiştirilmiş hayvanların üretilmesi,
3. Cerrahi prosedürlerle genetiği değiştirilmiş hayvan oluşturulması;
4. Orta derecede hareket kısıtlaması yaratan metabolik kafeslerde hayvanların 5 güne kadar tutulması,

ğ) Hayvanın yem ihtiyacını tam olarak karşılamayan ve çalışmanın zaman süreci içinde orta klinik anormalliğe yol açması beklenen modifiye diyetlerle beslenmesini içeren çalışmalar,

1. Yetişkin sıçanlara 48 saat süreyle yem verilmemesi,
   1. Hayvanın kaçamayacağı veya kaçma dürtüsünü engelleyemeyeceği durumlarda orta derecede sıkıntı oluşturması beklenen kaçma ve kaçınma reaksiyonlarını hatırlatmak.
2. Şiddetli
3. Ölümün son-nokta olduğu veya ölümlerin beklendiği ve şiddetli patofizyolojik durumların tetiklendiği örneğin OECD test kılavuzunda tanımlanan tek doz akut toksisite testleri gibi testler,
4. Başarısız olma durumunda şiddetli ağrı, eziyet ve sıkıntıya yol açabilecek örneğin kardiyak yardımcı cihazları gibi cihaz testleri,
5. İlerleyen hastalığın ölüme yol açtığı, uzun süreli orta şiddette ağrı, eziyet ve sıkıntıyla bağlantılı, hayvanın durumunda kalıcı hasarlarla karakterize olan aşı potens testleri,

ç) Letal dozda ve bağışıklık sisteminin rekonstitüsyonu ya da graft versus host hastalığı oluşumuyla rekonstitüsyon olmadan ışın veya kemoterapi,

1. Uzun süreli orta şiddette ağrı, eziyet ve sıkıntıyla bağlantılı olarak ilerleyerek ölümcül hastalığa yol açması beklenen örneğin kaşeksiye yol açan tümörler, invazif kemik tümörleri, metastaz yayılımıyla sonuçlanan tümörler ve ülserleşmesine izin verilen tümörler gibi tümör veya spontan tümör indüksiyon modelleri,
2. Orta ve şiddetli düzeydeki ameliyat sonrasında ağrı, eziyet, sıkıntı veya hayvanın genel durumunda ciddi ve kalıcı bozulmayla sonuçlanması beklenen, genel anestezi etkisi altında yapılan ameliyatlar ve diğer müdahaleler ile stabil olmayan kırıkların oluşturulması, yeterli analjezik olmadan torakotomi ya da mültipl organ bozukluğu oluşturmak için yapılan travma,
3. Organ reddinin şiddetli sıkıntı veya hayvannın genel durumunda bozukluğa yol açması muhtemel yabancı organ nakli gibi organ nakilleri,
4. Genel durumda şiddetli ve kalıcı bozukluklar yaşaması beklenen ve genetik bozukluğu olan Huntington hastalığı, müsküler distrofi, kronik nükseden nörit modeller gibi hayvanların üretilmesi,

ğ) Şiddetli derecede hareket kısıtlaması oluşturan metabolik kafeslerin uzun süreyle kullanımı,

1. Edinilmiş çaresizlik oluşturma gibi zaruri elektroşok uygulamaları,

ı) Köpek ve insan-dışı primatlar gibi sosyal türlerin uzun süreli tam izolasyonu,

1. Sıçanlarda gastrik ülser veya kardiyak yetmezliğe yol açan hareketsizlik stresi,
2. Hayvanın aşırı yorgunluk sonucu ölümüne neden olabilecek kadar zorunlu yüzme veya egzersiz testlerine tabi tutulması.