

Vloga za izdajo dovoljenja
-ocenjevanje težavnosti poskusov-
primer iz FELASA kongresa

Zn.sod.dr.Martina Perše



Uprava za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin
Ministrstvo za kmetijstvo in okolje
Dunajska cesta 22
1000 Ljubljana

Ljubljana, 07.06.2013

Zadeva: VLOGA ZA IZDAJO DOVOLJENJA ZA IZVAJANJE PROJEKTA

1. Naziv in naslov uporabniške organizacije, številka odločbe o odobritvi in datum izdaje:

1.1 Naziv in naslov vlagatelja (v primeru, da vlagatelj ni iz uporabniške organizacije):

2. Naslov raziskovalnega projekta:

2.1 Namen in cilji projekta (ustrezno podčrtati):

- a) temeljna raziskava
- b) translacijska ali uporabna raziskava s katerim koli od naslednjih ciljev:
 - odvratanje, preprečevanje, diagnosticiranje ali zdravljenje bolezni, slabega zdravstvenega stanja, drugih bolezenskih sprememb ali njihovih učinkov pri človeku, živalih ali rastlinah
 - ocena, odkrivanje, uravnavanje ali spreminjanje fizioloških stanj pri človeku, živalih ali rastlinah
 - dobrobit živali in izboljšanje proizvodnih pogojev za živali iz vzreje za kmetijske namene;
- c) razvoj, izdelava ali preskušanje kakovosti, učinkovitosti in varnosti zdravil, živil in kme ter drugih snovi ali izdelkov za doseganje cilja iz prejšnje točke;
- č) zaščita naravnega okolja zaradi varovanja zdravja ali dobrobiti ljudi ali živali;
- d) raziskave, usmerjene v ohranjanje živalskih vrst;
- e) visokošolsko izobraževanje ali usposabljanje za pridobitev, ohranjanje ali izboljšanje strokovnega poklicnega znanja;
- f) sodnomeedicinske raziskave.

2.2 Opis načrtovanega projekta z znanstvenega vidika

2.3 Šifra odobrene raziskave in trajanje, če je projekt že znanstveno ocenjen:

3. Predvideno trajanje projekta (od in do):

4. Udeleženci v poskusu:

Ime in priimek	Zadolžitev v poskusu	Izobrazba	Usposobljenost in izkušnje s poskusnimi živalmi	Številka potrdila o usposabljanju

5. Podatki o živalih

Vrsta živali	Predvideno število	Razvojna stopnja, posebne oblike (transgene živali, določene pasme, starosti)	Izvor živali – dobavitelj

6. Zakaj je izbrana predlagana živalska vrsta? Utemeljite uporabo živali in primernost izbrane vrste z navedbo virov iz literature. Uporabo tistih živali, ki niso bile vzrejene kot laboratorijske živali, je treba znanstveno utemeljiti.

7. Če je za nakup, nastanitev ali uporabo živali potrebno še kakšno drugo predpisano dovoljenje (npr. zaščita prostoživečih živali, uvoz živali), navedite številko in datum izdaje dovoljenja ter pristojni organ, ki je dovoljenje izdal.

8. Mesto izvajanja poskusa (če bo izven objekta uporabniške organizacije, to znanstveno utemeljite):

9. Podatki o poskusih na živalih (navedite za vsak poskus oziroma ločeno pri seriji poskusov)

9.1 Opis in potek poskusa ter opis in utemeljitev uporabljene tehnike ali postopka (navesti vire iz literature):

9.2 Pričakovani vpliv na živali in kako dolgo bodo živali izpostavljene posameznemu poskusu?

9.3 Kako bo pri živalih poskrbljeno za lajšanje bolečin, trpljenja, stiske in poškodb? Navedite metode odpravljanja bolečine in nelagodja pri živalih, uporabo anestetikov in analgetikov (vrsta in odmerek ter način aplikacije):

9.4 Navedite in obrazložite uporabo humanih končnih točk za vsak poskus:

9.5 Usoda živali po končanem poskusu:

9.5.1 Če se bodo živali usmrtili, navedite način usmrtnitve:

9.5.2 Če se bodo živali ohranile pri življenju, navedite predvideni čas okrevanja (priložite načrt vrnitve živali v domače okolje oziroma načrt rehabilitacije)

9.6 Ocenite in navedite težavnostno stopnjo posameznega poskusa:

9.7 Uporaba 3R načela

- 9.7.1 Ali za doseg izbranega cilja obstajajo metode, ki ne zahtevajo uporabe poskusnih živali in če obstajajo take metode, navedite zakaj jih ne uporabljate:
- 9.7.2 Če je kateri izmed poskusov ponovitev predhodnega poskusa, to utemeljite:
- 9.7.3 Ali so predlagane živali namenjene za enkratno uporabo živali v poskusu?
- 9.7.4 Ali je bila katera od predlaganih živali že uporabljena v predhodnih poskusih? Če je bila, utemeljite razloge za njeno ponovno uporabo in priložite mnenje imenovanega veterinarja.
- 9.7.5 Če naj bi se v predlaganem poskusu uporabil tudi živčno mišični blokator, to znanstveno utemeljite in podrobno opišite režim dajanja anestetika in analgetika:
- 9.7.6 Načrt opazovanja živali za ugotavljanje, spremljanje in zmanjšanje bolečin, trpljenja, stiske:
- 9.7.7 Statistični načrt za zmanjšanje števila živali:
- 9.7.8 Če predstavlja poskus kakršnokoli tveganje za zdravje osebja, drugih živali ali okolja, navedite načrt za zmanjšanje tega tveganja:
- 9.7.9 Izjava vodje poskusa oziroma projekta o ustreznosti pogojev nastanitve, reje in oskrbe živali:
- 9.7.10 Glede na poskus in živalsko vrsto opisati opremo in naprave za izvedbo poskusa:

Podpis vodje poskusa oziroma projekta:

Podpis odgovorne osebe
uporabniške organizacije:

Žig pravne osebe

Obvezne priloge:

- Obrazložitev strokovnjaka za dobrobit živali
- Netehnični povzetek projekta na obrazcu D

Ostale priloge, če so potrebne:

- Znanstvena utemeljitev v primeru, če se bodo uporabljale prostoživeče živali, ogrožene živalske vrste, če se bodo poskusnim živalim dajala zdravila, ki jim bodo preprečevala ali omejevala prikazovanje bolečine
- Mnenje veterinarja, če se žival ponovno uporabi v poskusih
- Načrt vrnitve živali v domače okolje pri laboratorijskih živalih, če se živali ohranijo pri življenju oziroma pri prostoživečih živalih program rehabilitacije
- Pisni dogovor med vlagateljem in uporabniško organizacijo o izvajanju poskusa

Obrazec D: Netehnični povzetek projekta

1. Naslov projekta:
2. Cilji projekta (vključiti je potrebno predvideno škodo, ki jo bodo utrpeli živali v poskusu in korist, ki jo bo imel poskus za človeka, živali oziroma okolje):
 - 4.1 Zakaj ni mogoče izvesti poskusa z uporabo metod, ki ne zahtevajo uporabe živali
 - 4.2 Utemeljiti zmanjšano uporabo živali
 - 4.3 Kako bodo izboljšani pogoji reje, oskrbe, nastanitve živali in izvajanje poskusov na živalih
3. Predvideno število in vrsta uporabljenih živali
4. Utemeljiti upoštevanje načela 3R
5. Rezultati retrospektivne ocene (vpiše etična komisija)

Ocenjevanje težavnosti zakonodajni okvir

- Direktiva 2010/63/EU
- **Člen 4 (3)**... eliminating or reducing to the minimum any possible pain, suffering, distress or lasting harm to the animals...
- **Člen 15 (1)** ...all procedures are classified as “non-recovery”, “mild”, “moderate”, or “severe” on a case-by-case basis using the assignment criteria set out in Annex VIII.
- **Člen 54 (2)** ...statistical information on the use of animals in procedures, including information on the **actual severity** of the procedures”
- **Člen 16** ... **actual severity** – potrebno pretehtati tudi pri ponovni uporabi živali
- **Člen 16 (1)** ...taking into account the lifetime experience of the animal.”
- **Pravilnik o pogojih za izvajanje poskusov na živalih (37/13)**
- **20.člen (1)**
....uporabljajo najmanjše število živali, vključujejo živali z najmanjšo sposobnostjo občutenja bolečin, trpljenja, stiske ali trajnih poškodb, povzročajo najmanj bolečin....
- **20.člen (4)**
..nepovraten, blag, zmeren, težaven (Priloga 4)
- **35.člen (1)**
...letno poročilo o uporabi živali v poskusih, vključno s podatki o težavnostni stopnji poskusov....
- **29.člen**
....dejanska težavnost predhodnih poskusov...in nadaljnih poskusov

Ocenjevanje težavnosti

Gentsko spremenjene živali

- Direktiva 2010/63/EU
- Člen 3 – procedure (postopek/poskus)...
creation and maintenance of a genetically modified animal, which may experience pain, suffering, distress or lasting harm equivalent to, or higher than, that **caused by the introduction of a needle**
- Člen 17 (1)
“A procedure shall be deemed to end when no further observation are to be made for that procedure or, **as regards new genetically modified animal lines, when progeny are no longer observed or expected to experience** pain, suffering, distress or lasting harm equivalent to, or higher than, that caused by the introduction of a needle.”
- Pravilnik o pogojih za izvajanje poskusov na živalih (37/13)
- 3.člen – (c)
...rojstvo ali izvalitev živali ali ustvari in ohranja pri življenju **gensko spremenjene linije živali** v stanju, ki povzročijo bolečino. Trpljenje... enakovredne ali hujše od vboda igle.....
- 28.člen (2)
..pri potomcih novih gensko spremenjenih linij živali je poskus končan, **ko ni več zaznati ali se ne pričakuje več**, da bi občutili bolečino, trpljenje, stisko ali trajne poškodbe, enakovredne ali hujše od vboda igle.

Ocenjevanje težavnosti – zakaj je pomembno

- **Zavezuje zakonodaja**



- Vloga
- Težavni poskusi – retrospektivna ocena
- Letno poročanje o dejanski težavnosti



- **NAMEN**

- Omogoča **implementacijo 2R** (refinement/reduction potencialnega trpljenja)
- Izboljšanje počutja živali (**welfare**)
- Izboljša **transparentnost**
- Izboljšana **komunikacija med ljudmi**, ki oskrbujejo živali, izvajajo postopke, vodijo raziskave ali nadzorujejo živali
- olajša ocenjevanje kadar je zahtevano – **retrospektivno ocenjevanje**
- Boljše počutje živali – **kvalitetnejši podatki**

Ocenjevanje težavnosti

- **PERSPEKTIVNO**

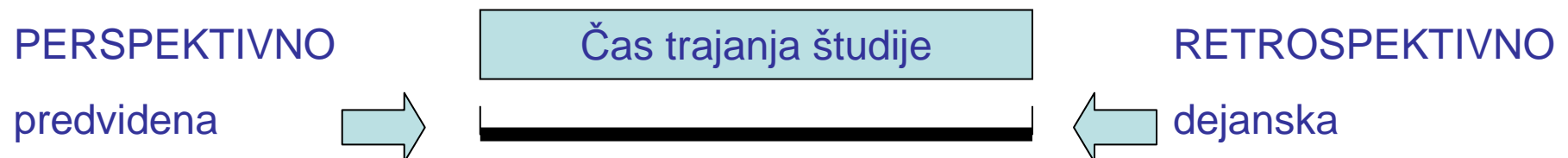
- ponuja možnost premisliti ustreznost načrta študije in predstavlja zagotovilo, da je pričakovano trpljenje živali najmanjše možno

- **V času študije**

- pomembno ostati znotraj mej harm/benefit vrednotenja

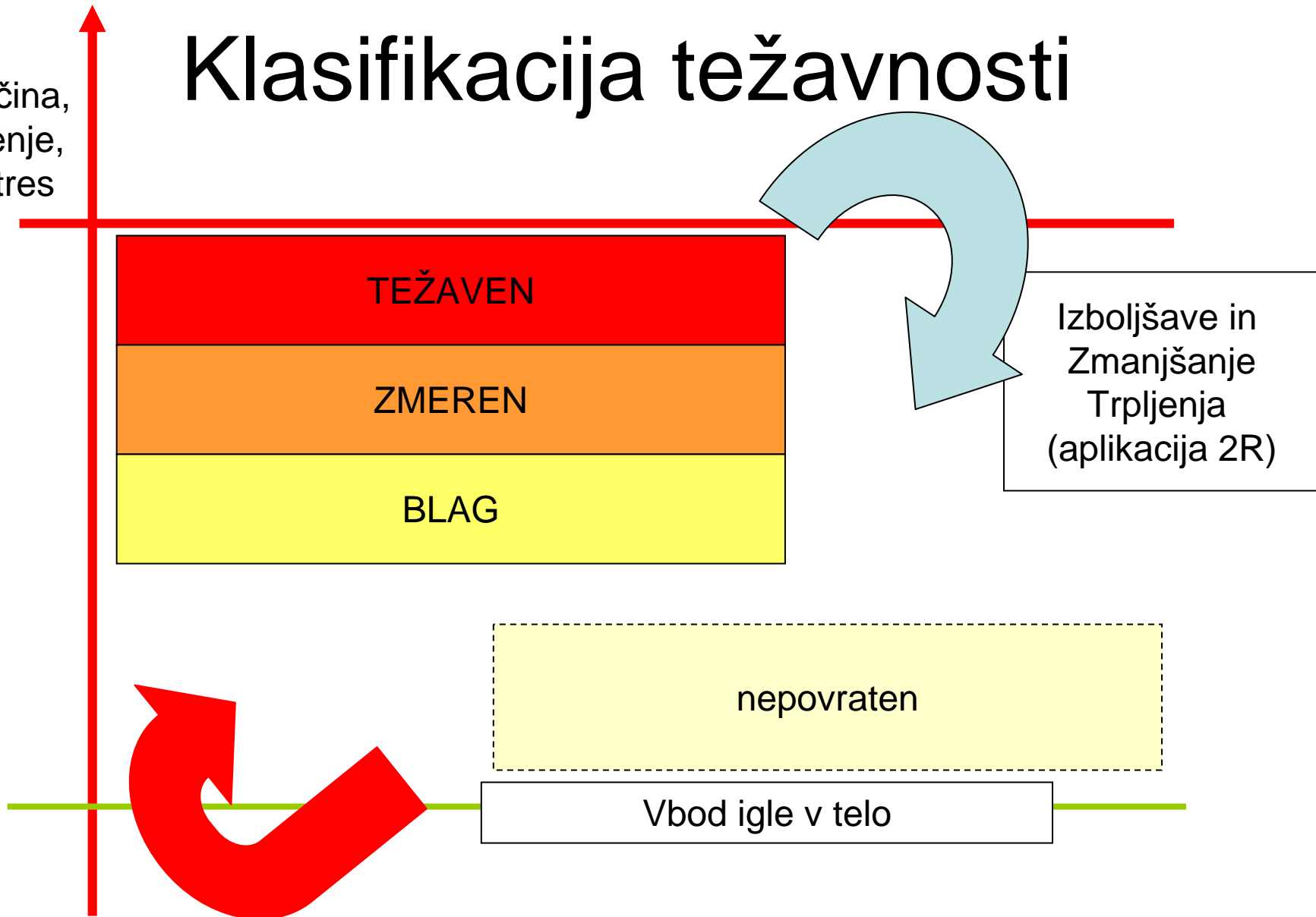
- **RETROSPEKTIVNO**

- omogoča pregled dejanske težavnosti pred nadaljevanjem študije; dovoljuje objavo dejanske težavnosti



Klasifikacija težavnosti

Bolečina,
trpljenje,
distres



NEPOVRATEN postopek (poskus)

- se v celoti izvaja v splošni anesteziji, po kateri se živali ne povrne zavest

BLAG postopek (poskus)

- dajanje **anestezije**, razen z namenom usmrtitve;
- **farmakokinetična študija z enim danim odmerkom** in omejenim številom odvzetih vzorcev krvi (skupno < 10 % volumna krvi), pri čemer se pričakuje, da dana snov ne bo povzročila zaznavnih škodljivih učinkov;
- **neinvazivno preslikavanje živali** (npr. magnetna resonanca – MRI) z uporabo ustreznih pomirjeval ali anestezije;
- **Površinski posegi** (poskusi), npr. biopsije ušes ali repov, nekirurško podkožno vstavljanje miničrpalk in transponderjev;
- uporaba **zunanjih telemetričnih naprav**, ki povzročijo le manjše poškodbe živali ali manjšo motnjo normalne aktivnosti in vedenja živali;
- **dajanje snovi podkožno, v mišico, v trebušno** votlino, neposredno v žrelo in intravenozno prek površinskih krvnih žil, kadar snov samo blago učinkuje na žival in se daje v omejenih odmerkih, primernih velikosti in vrsti živali;
- povzročanje tumorjev ali naravno nastali tumorji, ki ne povzročajo klinično zaznavnih škodljivih učinkov (npr. majhni, podkožni, neinvazivni vozlički);
- **vzreja gensko spremenjenih živali, ki po pričakovanju povzroči blage učinke na fenotip**;
- dajanje **spremenjene krme, ki ne zadovoljuje vseh prehranskih potreb živali** in v časovnem okviru študije po pričakovanju povzroči blago klinično anomalijo;
- **kratkotrajno (<24 h) zadrževanje živali v presnovnih kletkah**;
- študije, ki vključujejo **kratkotrajno osamitev živali iz njene socialne skupine**, kratkotrajna izolacija v kletkah odraslih socialnih linij podgan ali miši;
- **modeli, ki živali izpostavljajo škodljivim dražljajem**, ki so **kratkotrajno** povezani z blago bolečino, trpljenjem ali stisko, in katerim se živali lahko uspešno izognejo;
- **kombinacija** ali zbir naslednjih primerov, ki lahko upravičijo razvrstitev »blag«:
 - ocena sestave telesa z neinvazivnimi ukrepi in minimalnimi omejitvami;
 - spremljanje EKG z neinvazivnimi tehnikami že navajenih živali z minimalnimi omejitvami gibanja ali brez njih;
 - uporaba zunanjih telemetričnih naprav, ki pričakovano ne povzročijo oslabitve že socializiranim živalim, in ne vplivajo na njihovo normalno aktivnost in vedenje;
 - vzreja gensko spremenjenih živali, za katere se pričakuje, da ne bodo imele klinično zaznavno neugodnega fenotipa;
 - dodajanje inertnih označevalcev v krmo za spremljanje izločanja prebavnih produktov;
 - odtegnitev krme za <24 h pri odraslih podganah;
 - test obnašanja v odprtem polju.

ZMEREN postopek (poskus)

- **pogosto dajanje testnih snovi**, ki povzročijo zmerne klinične učinke, in **odvzem** vzorcev krvi (>10 % volumna krvi) živalim pri zavesti v nekajdnevnem obdobju, **brez nadomestitve odvzete količine**;
- **akutne študije** za ugotavljanje obsega odmerka, in testi kronične toksičnosti / rakotvornosti, ki se **ne zaključijo s poginom živali**;
- **operacija v splošni anesteziji** in z ustrezno **analgezijo, povezana s pooperativnimi bolečinami**, trpljenjem ali poslabšanjem splošnega stanja. Med take primere spadajo: torakotomija, kraniotomija, laparotomija, orhidektomija, limfadenektomija, tiroidektomija, ortopedska operacija z učinkovito povrnitvijo v stabilno stanje in dobrim celjenjem ran, presaditev organov z učinkovitim preprečevanjem zavrnitve tujka, kirurška vstavitev katetrov ali biomedicinskih pripomočkov (npr. **telemetričnih oddajnikov**, miničrpalk itd.);
- **modeli povzročanja tumorjev** ali naravno nastali tumorji, ki pričakovano povzročijo zmerne bolečine ali stisko ali zmerno motnjo normalnega vedenja;
- **obsevanje ali kemoterapija s subletalnim odmerkom**, ali s sicer smrtnim odmerkom, vendar s ponovno vzpostavitvijo imunskega sistema. Pričakovani škodljivi učinki bi bili blagi ali zmerni, in kratkotrajni (<5 dni);
- **vzreja gensko spremenjenih živali s pričakovanimi zmernimi učinki na fenotip**;
- **ustvarjanje gensko spremenjenih živali s kirurškimi posegi**;
- **uporaba presnovnih kletk** z zmerno omejitvijo gibanja v daljšem časovnem **obdobju (do 5 dni)**;
- študije dajanja živalim **spremenjene hrane, ki ne zadovoljuje** vseh njihovih prehranskih potreb in v časovnem obdobju študije pričakovano **povzroči zmerne klinične anomalije**;
- **odtegnitev krme za 48 ur pri odraslih podganah**;
- izzivanje reakcij bežanja in izogibanja, pri čemer žival ne more pobegniti ali se izogniti dražljajem in, ki ji pričakovano povzročajo zmerno stisko.

TEŽAVEN postopek (poskus)

- **preskušanje toksičnosti**, ki se zaključi s **poginom**, ali **pri katerem se pogin pričakuje**, in ki povzroča težka patofiziološka stanja. Na primer, preskušanje akutne toksičnosti z enim samim odmerkom (glej smernice OECD o preskušanju);
- **preskušanje naprave**, katerih okvara lahko povzroči hude bolečine, stisko ali smrt živali (npr. naprave za povečanje črpalne sposobnosti srca);
- **preskušanje učinkovitosti cepiv**, za katerega sta značilna trajno poslabšanje stanja živali in napredujoča bolezen s poginom (smrtnim izidom), povezana s trajnimi zmernimi bolečinami, stisko ali trpljenjem;
- **obsevanje ali kemoterapija s smrtnim odmerkom** brez ponovne vzpostavitve imunskega sistema, ali ponovna vzpostavitev imunskega sistema z nastopom bolezni presadka proti gostitelju (bolezni GVH);
- **modeli povzročanja tumorjev** ali naravno nastali tumorji, ki pričakovano povzročijo **napredujočo bolezen s smrtnim izidom**, povezano z dolgotrajnimi zmernimi bolečinami, stisko ali trpljenjem. Na primer, tumorji, ki povzročajo **hiranje**, invazivni kostni tumorji, tumorji, iz katerih se razvijejo **metastaze**, in tumorji, ki se jih pusti, da **ulcerirajo**;
- **kirurški in drugi posegi na živalih v splošni anesteziji**, ki pričakovano povzročijo **hude ali trajne zmerne pooperativne bolečine**, trpljenje ali stisko, ali hudo in trajno poslabšanje splošnega stanja živali. Povzročitev kompliciranih zlomov, torakotomije brez ustrezne analgezije, ali poškodb, ki povzročijo odpoved več notranjih organov;
- **presaditev organov, pri kateri zavrnitev organa** po vsej verjetnosti povzroči hudo stisko ali poslabšanje splošnega stanja živali (npr. **ksenotransplantacija**);
- **vzrejanje živali z genskimi motnjami**, ki pričakovano utrpijo hudo in trajno poslabšanje splošnega stanja, na primer, vzorčnih primerkov Huntingtonove bolezni, mišične distrofije in kroničnega ponavljajočega nevritisa;
- **uporaba presnovnih kletk s hudo omejitvijo gibanja v daljšem časovnem obdobju**;
- neizbežni električni udar (npr. za ustvarjanje naučene nemoči);
- **popolna in dolgotrajna osamitev socialnih živalskih vrst**, npr. psov in primatov razen človeka;
- **imobilizacijski stres** za povzročitev želodčnih razjed ali odpovedi srca pri podganah;
- prisilno plavanje ali **gibanje do popolne izčrpanosti**

NAČELA pri razvrščanju

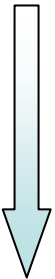
- Ocenjuje se ***težavnost za vsak postopek*** posebej in nato oceni ***kumulativno*** težavnost vseh postopkov, ki jo posamezna žival utrpi
- Temelji na ***najhujših posledicah, ki jih lahko utrpi posamezna žival*** v določeni skupini
 - (po uporabi vseh ustreznih tehnik izboljšanja)

PRIMER VREDNOTENJA

preprost

Ocenjevanje farmakokinetike določene substance

aplikacija substance (npr. s/c)



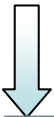
Odvzem krvi

Evtanazija živali

kompleksen

Testiranje substance na krvni tlak s telemetričnim beleženjem

Anestezija in kirurška namestitvev telemetrične naprave



Po-operacijski monitoring

aplikacija substance



Beleženje podatkov

Evtanazija živali

BLAG

ZMAREN

PERSPEKTIVNO OCENJEVANJE (vloga)

Kaj bomo storili živalim
(protokol: načrtovana tretiranja)

Načrtovani UKREPI

Kakšne učinke bo to povzročilo živalim

Kakšno intervencijo lahko storimo
in zreduciramo vpliv na živali

Koliko trpljenja bo to povzročilo
(klasifikacija težavnosti)

Kako lahko trpljenje zmanjšamo na
najmanjše možno

Kako smo sledili 3R principom in
jih vpeljali v postopke in projekt

Primer

Onkološka študija

- **Učinkovitost nove farmakološke učinkovine na rast tumorja (primer kompleksnega primera ocenjevanja)**
- 30 BALB/c nude (imunsko kompromitirane)
- – aplikacija tumorskih celic s/c (0,1ml)
- Živali randomizirano razporejene v skupine
- 20.dan po aplikaciji tumorskih celic
- - sledi zdravljenje: 2x/dan i/p 7 dni zapored
- Tumor mora biti zadosti velik preden se začne zdravljenje (zato se lahko v kontrolni skupini pojavijo večji tumorji – vendar ne večji kot 1,2 cm premera)

PERSPEKTIVNO OCENJEVANJE – Primer

Protokol – čemu bodo živali izpostavljene	Kaj bodo živali občutile? Koliko trpljenja to lahko povzroči? Kaj lahko to še poslabša?	Kako bo trpljenje zmanjšano na minimum?	
	Neželeni učinki	Metodologija in intervencija	End - point
Nastanitev imunokompromitiranih miši	Živali so dovzetne za infekcije	Nastanjene v IVC sistemih, oskrba živali na nivoju, ki zminimalizira možnost kontaminacije Živali skupinsko nastanjene ter obogatitev okolja	Vsaka žival, ki kaže znake infekcije bo evtanazirana
s/c aplikacija tumorskih celic	Prehodno nelagodje zaradi aplikacije	Aplikacija je samo enkrat Injicirani volumen bo ustrezen Skrbno opazovanje živali v času po injiciranju	Živali bodo evtanazirane, če se pojavi več kot le blagi distress, brez hitrega okrevanja takoj po injekciji
Rast tumorja	Lahko povzroči nelagodje ali celo Vpliva na vedenje ali lokomocijo Tumor se lahko inficira ali celo ulcerira (ne sme pa metastazirati)	Dnevno opazovanje živali, redno beleženje splošnega stanja živali ter tumorske rasti Farmakološka intervencija šele ko tumor doseže velikost 0.5 cm premera	Živali bodo evtanazirane, če bo prišlo do ulceracije tumorja, ali bo tumor vplival na vedenje, držo ali gibanje živali ali Bo tumor presegel 1.2 cm premera
i/p aplikacija nove farmakološke učinkovine	Prehodno nelagodje zaradi aplikacije Citotoksična zdravila lahko povzročijo diarejo, padec telesne teže, anoreksijo ali letargičnost	Uporabljena bo minimalna doza (določena v predhodnih študijah) Beleženje kliničnega stanja živali (clinical scoring system) za ocenjevanje počutja živali	Živali bodo evtanzirane, če bodo zgubile 20% telesne teže Postavljena bo zgornja meja točkovanja kliničnega stanja živali

PERSPEKTIVNO OCENJEVANJE TEŽAVNOST – ZMERNA

- Določena velikost tumorja
- Verjetnost ulceracije tumorja
- Frekvenca injekcij
- Napovedani stranski učinki zdravila

*Ali bi lahko omejili težavnost na **BLAG-o**?*

- **Malo verjetno.** Le če bi lahko znanstvene cilje dosegli v zgodnejših fazah – manjši tumorji- ter nižji odmerki zdravil, ki ne bi povzročali nobenih stranskih učinkov

točkovalni sistem – primer

vodič v času trajanja študije

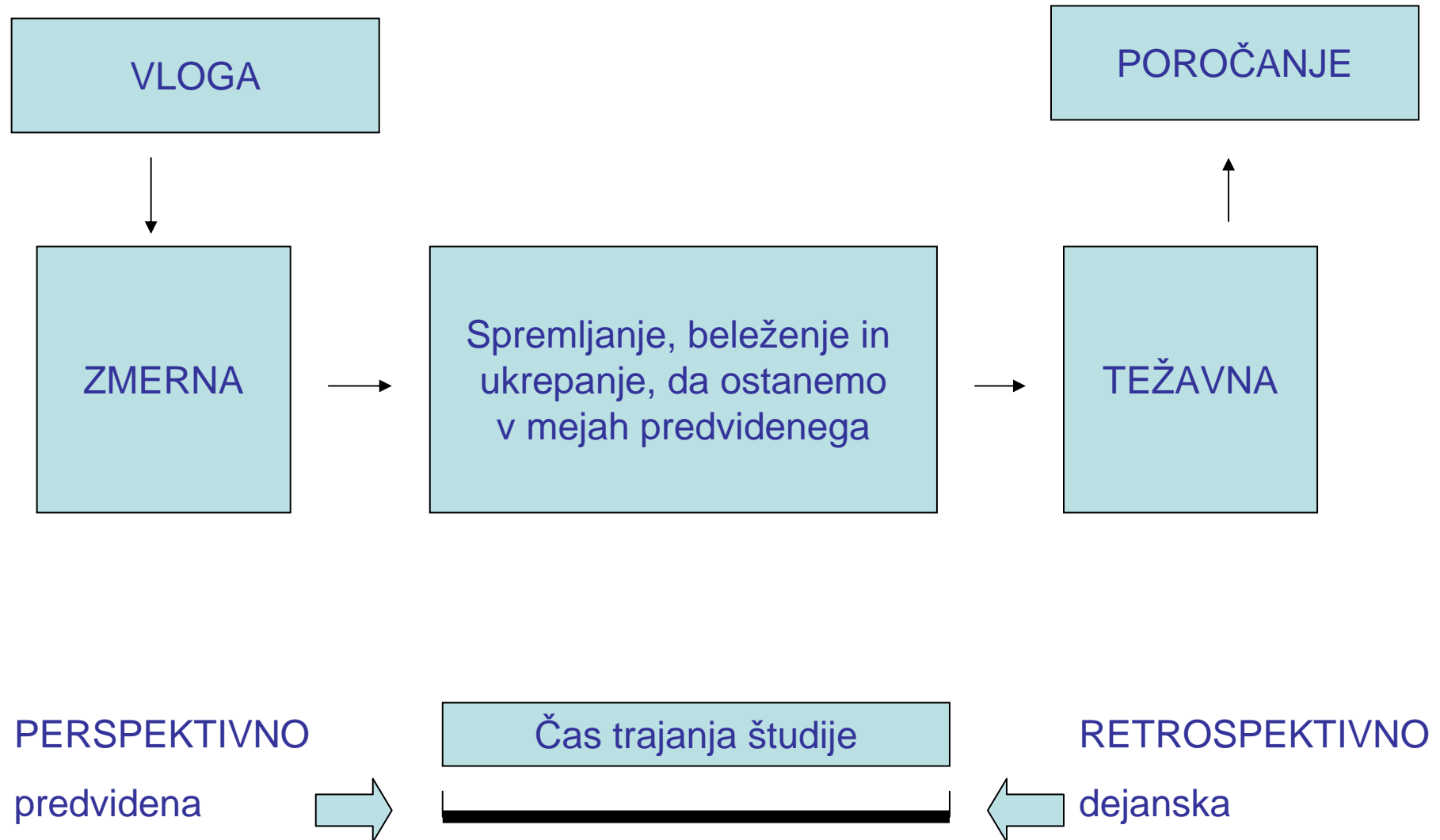
OBNAŠANJE	
Napete in vznemirjene pri rokovanju	1
Močno vznemirjene pri rokovanju – tresenje, vokalizacija, agresija	3
LOKOMOCIJA	
Rahlo abnormalna hoja/drža	1
Znatno abnormalna hoja/drža	2
Signifikantne težave pri gibanju / odpor do gibanja	3
Imobilnost > 24h	HEP
SPECIFIČNI INDIKATORJI POSTOPKOV	
Velikost tumorjev	HEP
Ulceracija tumorjev	HEP
Ovirano gibanje zaradi tumorja	HEP

HEP: humane end-point

Dejanska težavnost - retrospektivno

BLAGA	
3 miši	niso razvile tumorjev – evtanazirane pred aplikacijo zdravil
10 miši	Majhni tumorji; ni zgube teže; ni nobenih kliničnih znakov
ZMERNA	
4 miši	Razvile ulceracijo tumorja pred zdravljenjem – evtanazija
7 miši	Redukcija tumorske rasti; lepljivo blato; 15% izgube telesne teže
3 miši	Neprekinjena rast tumorja, nobenih kliničnih znakov; Evtanazirane, ko je tumor dosegel velikost 1,2 cm premera
TEŽAVNA	
3 miši	Redukcija tumorske rasti; 15% izgube telesne teže; lepljivo blato; anoreksija; letargija; evtanazirane 25.dan

Ocenjevanje težavnosti



Ocenjevanje težavnosti – **kontinuiran proces**

- **Načrtovanje** raziskave
- **Beleženje** v času raziskave
- Ocenjevanje **dejanske težavnosti**
- **Revizija** raziskave

Hvala za pozornost

