

Svårhetsgrader / Severity levels

Guideline Nr 9 / Guideline No. 9

Djurskyddsorganet vid Karolinska Institutet /
The Animal Welfare Body at Karolinska Institutet

Dnr 1-495/2022

Gäller fr.o.m. 2022-11-17



**Karolinska
Institutet**



Svårhetsgrader / Severity levels

Innehåll

Inledning.....	4
Introduction.....	4
Introduktion till svårhetsgrader.....	5
Prospektiv svårhetsgrad.....	6
Utvärdering i efterhand.....	7
Faktiskt Svårhetsgrad.....	8
Nivåer av lidandet.....	9
Ringa svårhetsgrad.....	10
Måttlig svårhetsgrad.....	10
Avsevärd svårhetsgrad.....	10
Terminal svårhetsgrad.....	11
Terminal + organ svårhetsgrad.....	11
Djur i försök som hittas dött.....	11
Mer information:.....	12
Introduction to severity levels.....	13
Prospective severity assessment.....	14
Retrospective assessment.....	14
Actual severity assessment.....	15

Karolinska Institutet – Svårhetsgrader / Severity levels

Severity levels	17
Mild	18
Moderate:	18
Severe:	18
Terminal (non-recovery):	19
Terminal + organ (Sweden only):	19
Animals in experiment that are found dead:	19
Additional reading:	20

Diarienummer	Dnr föreg. version:	Beslutsdatum:	Giltighetstid:
Dnr 1-495/2022	Dnr föreg. version	2022-11-17	Tills vidare
Beslut:		Dokumenttyp:	
Beslut		Dokumenttyp	
Handläggs av avdelning/enhet:		Remiss till:	
Djurskyddsorganet vid Karolinska Institutet		1) Djurskyddsorganen vid Stockholms universitet och AKM/PKL/St. Ögonsjukhus 2) NACWO/expertgruppen vid KM	
Revidering med avseende på:			
Revidering med avseende på			

Inledning

Denna guideline från Djurskyddsorganet kan användas som en riktlinje rörande svårhetsgrader vid djurförsöksetiska ansökningar, bedömning av svårhetsgrader vid försök och i utbildningssyfte.

Introduction

This guideline from the Animal welfare body can be used as a guide for severity levels when writing laboratory animal ethics applications, assessments of severity levels during experiments and for educational purposes. Please go to page 11 for English.

Introduktion till svårhetsgrader

Vid djurförsöksetisk ansökan anges svårhetsgrader utifrån det lidande som en eller en serie av procedurer ett försöksdjur kan komma att utsättas för som mest under hela försöket.

Svårhetsgraden av ett djurförsök bestäms vid två olika tidpunkter:

- 1) Vid ansökan för etiskt tillstånd (Prospektiv svårhetsgrad)
- 2) När försöket avslutas (Faktisk svårhetsgrad)

Det finns olika nivåer som beskriver lidandet som ett försöksdjur kan komma att utsättas:

- 1) Ringa
- 2) Måttlig
- 3) Avsevärd
- 4) Terminal
- 5) Terminal + organ (OBS: denna svårhetsgrad finns enbart i Sverige)

Prospektiv svårhetsgrad

Prospektiv svårhetsgrad är den svårhetsgrad som anges av sökande (innehavaren av det framtida djurförsöksetiska tillståndet) på sin djurförsöksetiska ansökan. Flera parametrar behöver beaktas för att bestämma den prospektiva svårhetsgraden t.ex.:

- Djurslag, stam, administrationsväg, kirurgiska ingrepp, antal procedurer per djur, längd och frekvens av procedurerna, sjukdomsmodell, beteendetester, förändringar i miljö och hållande etc.
- Åtgärder som vidtagits för att minska djurets lidande t.ex. smärtlindring, värmedyna, ögongel, hydrering, habituering, utökad tillsyn.
- En tidig experimentell slutpunkt eller en låg avbrytningspunkt (t.ex. lågt score på parametrar på KI-mallen).
- Kumulativt lidande, d.v.s. om djuret över tid utsätts för mer än en procedur ska det totala, potentiella lidande summeras ihop.

OBS! Prospektiv svårhetsgrad fastställs av djurförsöksetiska nämnden som kan, om det anses nödvändigt, höja eller sänka den prospektiva svårhetsgraden som sökande angett. Den prospektiva svårhetsgraden kan endast ändras av djurförsöksetiska kommittéen eller, via överklagande, av den Centrala Djurförsöksetiska Nämnden (CDNF).

Utvärdering i efterhand

Utöver alla projekt med prospektiv avsevärd svårhetsgrad, ska alla försök där non-human primater använts utvärderas i efterhand. Djurförsöksetiska nämnden kan även begära utvärdering av djurförsöksetiska tillstånd med prospektiv måttligt/ringa svårhetsgrad som är av allmänt intresse. Centrala djurförsöksetiska nämnden (CDFN) koordinerar utvärdering i efterhand och på begäran av CDFN måste innehavaren av djurförsöksetiskt tillstånd inkomma med information som krävs för utvärdering och slutsatser t.ex.:

- Uppnådd faktisk svårhetsgrad
- Besvara specifika utvärderingspunkter som djurförsöksetiska nämnden angett.
- Uppnåddes syftet med studien, om inte varför?
- Användes rätt modell/djurslag/stam/procedurer för projektet?
- Vilka åtgärder vidtogs för att minska lidandet hos djuret t.ex. bedömningsmallar för djurhälsa, korrekt satta avbrytningspunkter. Smärtlindring, utökad tillsyn?
- Kunde andra 3R faktorer identifieras?
- Om Ja, hur kommer sådana 3R faktorer implementeras i framtida studier?

Faktiskt Svårhetsgrad

Den faktiska svårhetsgraden speglar det högsta lidandet som ett djur har upplevt under hela försöket och ska anges i djurjournalen. Den faktiska svårhetsgraden kan därmed skilja sig från den prospektiva svårhetsgraden. Den faktiska svårhetsgraden är den svårhetsgrad som årligen rapporteras till Statens Jordbruksverk (senast första mars varje år).

Den faktiska svårhetsgraden fastställs av personal som arbetar med djuren genom regelbunden bedömning av djurvälståndet under försöket t.ex. bedömning av parametrar som vikt, päls, fjäll, rörelsemönster, smärta etc relevant för försöksmodellen som används. Den faktiska svårhetsgraden fastställs och registreras i journalen vid avslut av försöket eller uppnådd avbrytningspunkt (vanligen vid avlivning). Andra faktorer är också viktiga före bedömningen t.ex.:

- Det är det högsta lidandet ett djur upplevt under hela försöket som ska anges som den faktiska svårhetsgraden. Kumulativt lidande ska alltså tas i beräkning.
- Djur i försök som hittas döda klassificeras som avsevärd svårhetsgrad om det inte kan helt säkerställas att dödsorsaken inte var relaterad till försöket.

Den faktiska svårhetsgraden är en del av utvärderingen i efterhand som alla djurförsöksetiska tillstånd där prospektiv svårhetsgrad är avsevärd, eller för projekt med måttlig/ringa svårhetsgrad där djurförsöksetiska nämnden fastställt att det är relevant.

Nivåer av lidandet

Flera faktorer måste övervägas för att bestämma vilket lidande ett försöksdjur går igenom vid ett försök t.ex.:

Procedurer kan ha en kumulativ effekt:

Det kan finnas en additiv effekt av procedurer och/eller fenotyper. Upprepade procedurer, långdragna procedurer, kombination av procedurer utan adekvat tid för återhämtning, sjukdomsmodeller, genmodifikationer med fenotyp som kan ha en negativ inverkan på djurvälferden kan leda till kumulativt lidande och därmed öka svårhetsgraden.

Genmodifikationer kan påverka djurvälferden:

Borttag/igångsättande av gen/er, celler, virala vektorer inklusive aktivering av genetiska element via t.ex. tamoxifen, tetracykliner, eller difteriatoxin kan leda till lidande.

Sjukdomsmodeller är ofta associerade med lidande:

En injektion av tumörceller kan vara av ringa svårhetsgrad med avseende på själva injektionen, men tumörutveckling kan vara av måttlig till avsevärd svårhetsgrad.

Beroende på lidandet och faktorerna som beskrivs ovan så finns olika svårhetsgrader:

Ringa svårhetsgrad

En kort period av ringa lidande; inga substantiella negativa effekter på djurvälferden t.ex.:

- Tå-, öron-, svansbiopsi för t.ex. genotypning
- Motsvarar upp till ett nåstick.

Måttlig svårhetsgrad

- En kort period av måttligt lidande; lång eller upprepade korta perioder av ringa lidande; måttliga negativa effekter på djurvälferden t.ex.:
- Upprepade procedurer av ringa svårhetsgrad t.ex. fem injektioner av tamoxifen.
- Stereotaxisk kirurgi med full anestesi och pre- och postoperativ smärtlindring med adekvat tillsyn av djuren.
- En cancermodell med tidig experimentell slutpunkt och låg avbrytningspunkt t.ex. ingen risk för metastaser i lunga, ingen sårutveckling vid tumören (subkutana tumörer), body conditioning score 2; låg avbrytningspunkt.

Avsevärd svårhetsgrad

- En kort period av avsevärt lidande; lång eller upprepade korta perioder av måttligt lidande; avsevärda negativa effekter på djurvälferden t.ex.:
- Smärtmodeller där analgesi ej kan administreras.
- Sjukdomsmodeller som tex EAE, RA, Ryggmärgsskador, hjärtinfarktsmodeller.

- Vissa beteendetester t.ex. Porsolts swim test, Tail suspension test, Fear conditioning test.

Terminal svårhetsgrad

Procedurer som utförs under full anestesi där djuret aldrig tillåts vakna upp ur anestesi utan avlivas vid avslut.

Terminal + organ svårhetsgrad

Djuret avlivas i syfte att samla in organ/vävnad/kroppsvätska utan att några procedurer utförs på djuret.

Det finns ett antal godkända id-märkningsmetoder som inte anses vara ett försök: användande av överblivet material för genotypning, tatuering. När en sådan godkänd id-märkningsmetod används så är detta inte ett försök.

Djur i försök som hittas dött

- Den faktiska svårhetsgraden för djur som hittas döda på grund av ett försök eller andra orsaker bestäms av flera parametrar:
- Djuret ska rapporteras som Avsevärd svårhetsgrad om du inte kan ta ett väl underbyggt beslut om att djuret inte har upplevt svårt lidande före det dog.
- Om det är osannolikt att djuret led svårt före sin död, ska den faktiska svårhetsgraden reflektera det lidande som djuret upplevt under försöket.
- Övervakningsfrekvens av djurhälsa, analgesi, procedurer ska också tas i beaktning när den verkliga svårhetsgraden bestäms.
- Om det kan fastställas att orsaken till att djuret dött är orelaterat till försöket ska djuret inte registreras som avsevärd svårhetsgrad i

statistiken. Det är emellertid viktigt att dödsorsaken utreds för att förhindra att det händer igen i framtiden.

Mer information:

- Smith, D. et al (2018) Classification and reporting of severity experienced by animals used in scientific procedures: FELASA/ECLAM/ESLAV Working Group report. *Laboratory Animals* 52(1S) 5–57.
- Directive 2010/63/EU: Severity assessment framework
- Norecopa/Severity classification

Introduction to severity levels

The severity levels in a laboratory animal ethics application is determined by the maximum suffering one or a series of procedures can impose on an animal in experiment.

The severity level of an animal experiment is determined at two different timepoints:

- 1) When applying for an ethical license (Prospective severity)
- 2) When the animal experiment is terminated (Actual severity)

There are different levels which describe the suffering which can be imposed on a research animal:

- 1) Mild
- 2) Moderate
- 3) Severe
- 4) Terminal
- 5) Terminal + organ (NB: this severity level is only applied in Sweden)

Prospective severity assessment

The prospective severity level is the severity level that is assigned to the laboratory animal ethics application by the applicant (i.e. the future holder of the laboratory animal ethics license). Many parameters need to be taken in account to classify the prospective severity e.g.:

- Strain, administration routes, surgical procedures, number of different procedures per animal, duration and frequency of interventions, disease model, behaviour tests, changes in environmental factors and housing conditions.
- Refinement measures taken to reduce animal suffering e.g. analgesia, heating pad, eye gel, hydration, habituation, increase surveillance.
- An early scientific or low humane endpoint (e.g. low score on the KI-template).
- Cumulative suffering, i.e. if an animal over time is exposed to more than one procedure the total potential suffering must be summarised.

NB: The final decision on the prospective severity level is done by the laboratory animal ethics committee. If deemed necessary, the laboratory animal ethics committee can elevate/lower the prospective severity level suggested by the applicant. The prospective severity level can only be changed by the laboratory animal ethics committee or via appeal to the Central Laboratory Animal Ethics Committee (CDFN).

Retrospective assessment

In addition to all projects classified as severe, projects irrespective of severity level involving NHPs must be retroactively assessed. If deemed of general interest, the laboratory animal ethics committee can also request a retrospective evaluation for laboratory animal ethics applications with

mild/moderate severity. The retrospective assessment is coordinated by the Central laboratory animal ethics committee (CDFN) and upon request from the CDFN, the ethics license holder must submit the necessary information required for the evaluation and conclusions e.g.:

- Actual severity level reached.
- Answer specific questions/points that the laboratory animal ethics committee have decided are of interest for the retroactive evaluation.
- Were the objectives of the project reached, if not why?
- Was the model/strain/s/procedure/s appropriate for the project?
- What measures were taken to minimise the suffering of the animal e.g. assessment template of animal health, correctly set humane endpoints, analgesia?
- Was any additional 3R factors identified?
- If Yes, how were/will such 3R factors be implemented in future studies.

Actual severity assessment

The actual severity level reflects the highest severity of suffering each animal has experienced during the entire experiment which must be recorded in the animal's journal. *The actual severity may therefore differ from the prospective severity level.* It is the actual severity that is reported yearly to the Swedish Board of Agriculture (latest first of March every year).

The actual severity level is set by the personnel working with the animals through regular assessment of animal welfare using parameters such as weight, fur, scales, movement, pain relevant for the experimental animal model used. The actual severity level is determined and registered in the

journal at the end of the experiment or reached humane endpoint (usually upon termination). Additional factors are also important for the determination e.g.:

- Cumulative suffering must be considered since it is the highest level of suffering an animal has reached during the entire experiment that should be set as the actual severity level.
- Animals in experiment that are found dead should be classified as severe unless it is clear and without a doubt that the death of the animal was not related to the experiment.

The actual severity is part of the retrospective assessments that must be done for all projects classified as severe, as well as other project of moderate/mild classification that the laboratory animal ethics committee deems relevant.

Severity levels

Several parameters must be considered when determining the severity level of animal during its time in experiment e.g.:

Experiments can have a cumulative effect:

There is an additive effect of procedure/s and/or phenotypes. Repeated procedures, procedures with a long duration, and several different procedures with inadequate recovery time, especially in a disease model or gene modified animal with a phenotype that has a negative impact on animal welfare, can lead to cumulative suffering thus increasing the severity level.

Gene modifications can affect animal welfare:

Elimination/activation of gene/s, cells, viral vectors including activation of the genetic element via e.g. tamoxifen, tetracyclines, or diphtheria toxin can lead to suffering.

Disease models are often associated with suffering:

One injection of tumour cells may be of mild severity when it comes to the injection itself, but the development of the tumour may be moderate to severe severity.

Depending on the suffering and the factors named above, different severity levels exist:

Mild

Short period of mild suffering; no substantial adverse effects on animal welfare e.g. toe, ear or tail biopsy for e.g. genotyping.

Corresponding up to a needle prick

Moderate:

- Short period of moderate suffering; Long or several short periods of mild suffering; Moderate adverse effects on animal welfare e.g.
- Several repeated procedures of mild severity e.g. five injections of tamoxifen
- Stereotaxic surgery under anaesthesia, full analgesia (pre- and post-operative), sufficient surveillance of the animals.
- A cancer model with an early experimental endpoint and a low humane endpoint e.g. no risks of metastasis to the lungs, no wound development at tumor site (subcutaneous tumors), body conditioning score 2, a low humane endpoint.

Severe:

- Short period of severe suffering; Long or several short periods of moderate suffering; Severe adverse effects on animal welfare.
- Pain models where analgesia cannot be provided
- Disease models such as EAE, RA, Spinal crush injury, heart infarct.
- Certain behaviour tests such as Porsolts swim test, Tail suspension test, Fear Conditioning test.

Terminal (non-recovery):

Procedures done under full anaesthesia from which the animal never wakes up, i.e. the animal is euthanised after the procedure is completed.

Terminal + organ (Sweden only):

Euthanasia of an animal for the purpose of organ/tissue collection without any interventions.

There are some id-marking methods approved by the legislation and not considered an experiment e.g. using left over material for genotyping from id-marking, tattooing. When using these methods, the id-marking and/or genotyping is not considered an intervention.

Animals in experiment that are found dead:

- The actual severity level of an animal found dead due to the experiment or by other causes is determined by several factors:
- Should be reported as severe if you cannot make a well-grounded decision that the animal had not experienced severe suffering prior its death.
- If it is unlikely that the animal suffered severely prior death, the actual severity should reflect the known experience prior death.
- The monitoring frequency, analgesia, procedure should also be taken in account when the actual severity is set.
- If it can be established that the reason for the death of the animal is unrelated to the experiment, this animal should not be registered as severe in the statistics. However, the cause of death still warrants an inquiry to prevent the situation from occurring in the future.

Additional reading:

- Smith, D. et al (2018) Classification and reporting of severity experienced by animals used in scientific procedures: FELASA/ECLAM/ESLAV Working Group report. *Laboratory Animals* 52(1S) 5–57.
- Directive 2010/63/EU: Severity assessment framework
- Norecopa/Severity classification