

"Protezione degli animali impiegati nella ricerca: aspetti normativi, etici e scientifici"

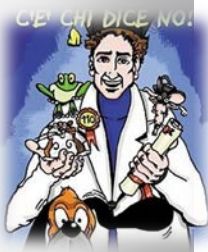
Cenni Legislazione nazionale relativa all'acquisizione, allevamento, cura ed utilizzo di animali a scopi scientifici

Dott. Alberto SBRANA
4 Marzo 2016



Normativa Vigente

- ✘ Legge 413 del 12 ottobre 1993 sull'obiezione di coscienza
- ✘ Raccomandazione della Commissione del 18 giugno 2007 ...linee guida per la sistemazione e la tutela degli animali impiegati a fini sperimentali...
- ✘ Legge maltrattamento degli animali (n.189, 20 luglio 2004)
- ✘ **Direttiva Europea 2010/63/UE** sulla protezione degli animali utilizzati ai fini scientifici
- ✘ *Decreto Legislativo 4 marzo 2014, n. 26*



Sperimentazione Animale: Norme sull'obiezione di coscienza

Articolo 1

Diritto di obiezione di coscienza 1. I cittadini che, per obbedienza alla coscienza, nell'esercizio del diritto alle libertà di pensiero, .. e religione possono dichiarare la propria obiezione di coscienza ad ogni atto connesso con la sperimentazione animale.

Articolo 2 ...I medici.....nonchè gli studenti universitari interessati, che abbiano dichiarato la propria obiezione di coscienza, non sono tenuti a prendere parte direttamente alle attività ed agli interventi specificamente e necessariamente diretti alla sperimentazione animale

Articolo 3 Le strutture pubbliche e private legittimate a svolgere sperimentazione animale hanno l'obbligo di rendere noto a tutti i lavoratori e gli studenti il loro diritto ad esercitare l'obiezione di coscienza alla sperimentazione animale.

Articolo 4 ..Nessuno può subire conseguenze sfavorevoli, per essersi rifiutato di praticare o di cooperare all'esecuzione della sperimentazione animale....

Legge 20 luglio 2004, n.189 "Disposizioni concernenti il divieto di maltrattamento degli animali,"

Art. 1. (*Modifiche al codice penale*)

1. Dopo il titolo IX del libro II del codice penale è inserito il seguente:
"TITOLO IX-BIS - DEI DELITTI CONTRO IL SENTIMENTO PER GLI ANIMALI

Art. 544-bis. - (Uccisione di animali). - **Chiunque**, per crudeltà o **senza necessità, cagiona la morte di un animale è punito con la reclusione da tre mesi a diciotto mesi.**

Art. 544-ter. - (Maltrattamento di animali). - **Chiunque**, per crudeltà o senza necessità, **cagiona una lesione ad un animale** ovvero lo sottopone a sevizie o a comportamenti o a fatiche o a lavori insopportabili per le sue caratteristiche etologiche **è punito con la reclusione da tre mesi a un anno** o con la multa da 3.000 a 15.000 euro.

La stessa pena si applica a chiunque somministra agli animali sostanze stupefacenti o vietate ovvero li sottopone a trattamenti che procurano un danno alla salute degli stessi. La pena è aumentata della metà se dai fatti di cui al primo comma deriva la morte dell'animale.

Decreto Legislativo 4 marzo 2014, n. 26

Abrogati il D.lgs 116/92 e la Legge 12 giugno 1931, n. 924 così come modificata dalla Legge 1° maggio 1941, n. 625 (disciplina la materia della vivisezione sugli animali a sangue caldo).

VI Capi, 42 articoli e 9 allegati

Decreto Legislativo 4 marzo 2014, n. 26

Obbligo di recepimento del dettame parlamentare



NORME PIU' RESTRITTIVE

VECCHIE

NUOVE

NO Utilizzo dei Randagi

NO Xenotrapianti

NO Animali Afoni

NO studi sostanze abuso

Obbligo del Medico
Veterinario

NO allevamento cani gatti e
primati sul territorio Italiano

VALUTAZIONE della COMMISSIONE EUROPEA

Dlvo 26/2014 - ALLEGATI

I. Elenco degli animali di cui all'articolo 10, comma 1

II. Elenco delle specie di primati non umani e delle date di cui all'articolo 10, comma 2

III. Requisiti per gli stabilimenti e per la cura e la sistemazione degli animali

IV. *Metodi di soppressione degli animali*

V. Elenco degli elementi di cui all'articolo 23, comma 2 (*Requisiti minimi in materia di istruzione e formazione*)

VI. Schema per la presentazione di un progetto di ricerca ai sensi dell'articolo 31

VII. Classificazione della gravità delle procedure

VIII. Modalità e documentazione per ottenere l'autorizzazione di stabilimento di allevamento, di fornitura e di utilizzazione (+ Sintesi non tecnica)

Art. 1 -*Oggetto e ambito di applicazione*

3. Il presente decreto si applica ai seguenti animali

a) **animali vertebrati vivi non umani, comprese:**

1. **forme larvali capaci di alimentarsi autonomamente;**

2. **forme fetali di mammiferi a partire dall'ultimo terzo del loro normale sviluppo;**

b) **cefalopodi vivi.**

4. Il presente decreto si applica agli animali:

a) utilizzati o destinati a essere utilizzati nelle procedure, o appositamente allevati affinché i loro organi o tessuti possano essere usati ai fini scientifici,e se l'animale viene fatto vivere oltre detta fase di sviluppo ed è probabile che, a seguito delle procedure effettuate, provi dolore, sofferenza, distress o danno prolungato dopo aver raggiunto tale fase e sino a quando sono soppressi ovvero reinseriti o reintrodotti in un habitat o in un sistema di allevamento adeguati alle loro caratteristiche fisiologiche ed etologiche.



Art. 3 - Definizioni

1. Ai fini del presente decreto si intende per:

a) procedura, qualsiasi uso, invasivo o non invasivo, di un animale ai fini sperimentali o ad altri fini scientifici dal risultato noto o ignoto, o ai fini educativi, che possa causare all'animale un livello di dolore, sofferenza, distress danno prolungato equivalente o superiore a quello provocato dall'inserimento di un ago secondo le buone prassi veterinarie. Ciò include qualsiasi azione che intende o può determinare la nascita o la schiusa di un animale o la creazione e il mantenimento di una linea di animali geneticamente modificata con fenotipo sofferente in queste condizioni. È esclusa dalla definizione la soppressione di animali con il solo fine di impiegarne gli organi o i tessuti;

b) progetto, un programma di lavoro con un preciso obiettivo scientifico che prevede il ricorso a una o più procedure, a partire dalla preparazione della prima procedura fino a quando non occorrono ulteriori interventi o osservazioni ai fini del progetto in corso;

Art. 6 – Metodi di soppressione

La soppressione degli animali avviene:

- a) con modalità che arrecano il minimo dolore, sofferenza e distress possibile;
- b) **secondo i metodi di cui all'Allegato IV**;
- c) **da personale competente ai sensi dell'articolo 23**;
- d) negli stabilimenti di un allevatore, di un fornitore o di un utilizzatore.

2. Il Ministero può concedere deroghe all'applicazione dei metodi di soppressione cui all'allegato IV del presente decreto in uno dei seguenti casi:

- a) per consentire, in base a prove scientifiche, l'uso di un altro metodo considerato altrettanto umanitario;
- b) se è scientificamente provato che è impossibile raggiungere lo scopo della procedura ricorrendo a un metodo di soppressione descritto nell'allegato IV del presente decreto.

4. Quando permangono condizioni di sofferenza insostenibili, si procede immediatamente alla soppressione dell'animale con metodi umanitari **sotto la responsabilità del medico veterinario**... È considerata sofferenza insostenibile quella che nella normale pratica veterinaria costituisce indicazione per l'eutanasia.

DIVIETI



Divieto di impiego di:

- ✘ • Specie animali in via di estinzione (Art. 7)
- ✘ • Primati non umani (Art. 8)
- ✘ • Specie animali selvatiche (Art. 9)
- ✘ • Animali randagi o provenienti da canili o rifugi nonché di animali selvatici delle specie domestiche (Art.11)





Sono previste deroghe concesse dall’Autorità competente (tranne che per le scimmie Antropomorfe e per gli animali randagi in quanto è previsto il divieto assoluto)

Art.10 Animali Utilizzati nelle Procedure

1.Gli animali appartenenti alle specie elencate all'Allegato I,possono essere utilizzati nelle procedure solo **se provengono da allevamenti o fornitori autorizzati ai sensi dell'articolo 20.**
4. **L'allevamento di animali geneticamente modificati è consentito previa valutazione del rapporto tra danno e beneficio, della effettiva necessità della manipolazione, del possibile impatto che potrebbe avere sul benessere degli animali e dei potenziali rischi per la salute umana, animale e per l'ambiente.**
5. È vietato l'allevamento di cani, gatti e primati non umani per le finalità di cui al presente decreto.



Elenco degli animali di cui all'articolo 10, comma 1

1. Topo (*Mus musculus*)
2. Ratto (*Rattus norvegicus*)
3. Porcellino d'India (*Cavia porcellus*)
4. Criceto siriano (o dorato) (*Mesocricetus auratus*)
5. Criceto cinese (*Cricetulus griseus*)
-  6. Gerbillo della Mongolia (*Meriones unguiculatus*)
-  7. Coniglio (*Oryctolagus cuniculus*)
8. Cane (*Canis familiaris*)
9. Gatto (*Felis catus*)
10. Tutte le specie di primati non umani
-  11. Rana [*Xenopus (laevis, tropicalis)*, Rana (*temporaria, pipiens*)]
-  12. Pesce zebra (*Danio rerio*)



Art. 13 Scelta dei metodi Applicazione del principio delle 3R

1. Non sono autorizzabili le procedure che prevedono l'impiego di animali vivi per **le quali esistono altri metodi o strategie di sperimentazione (metodi alternativi ??)**, riconosciute dalla legislazione dell'Unione europea, ovvero prevedono metodi vietati dalla normativa vigente nazionale.
2. Qualora il ricorso all'impiego di animali è inevitabile sono seguite, a parità di risultati, le procedure che:
 - a) richiedono il minor numero di animali;
 - b) utilizzano animali con la minore capacità di provare dolore, sofferenza, distress o danno prolungato;
 - c) sono in grado di minimizzare dolore, sofferenza, distress o danno prolungato;
 - d) offrono le maggiori probabilità di risultati soddisfacenti;
 - e) hanno il più favorevole rapporto tra danno e beneficio.

Art. 13 Scelta dei metodi Applicazione del principio delle 3R

3. Nelle procedure, **va evitata la morte come punto finale**, preferendo punti finali più precoci e umanitari.

Qualora la morte come punto finale è inevitabile, la procedura deve soddisfare le seguenti condizioni:

- a) comportare la morte del minor numero possibile di animali;
- b) ridurre al minimo la durata e l'intensità della sofferenza dell'animale, garantendo per quanto possibile una morte senza dolore.



Art.14 - Anestesia

Sono vietate le procedure che non prevedono anestesia o analgesia, qualora esse causano dolore intenso a seguito di gravi lesioni all'animale, ad eccezione delle procedure per la sperimentazione di anestetici ed analgesici.

2...sono consentite le procedure condotte in assenza di anestesia generale o locale

- ✘ nei casi previsti dalla legislazione o farmacopea nazionale, europee o internazionali,
- ✘ quando l'anestesia è per l'animale più traumatica della stessa procedura
- ✘ quando l'anestesia risulta essere incompatibile con le finalità della procedura

3. Cessati gli effetti dell'anestesia...gli animali sono immediatamente sottoposti a un trattamento analgesico adeguato o ad un altro metodo appropriato per ridurre la percezione del dolore o della sofferenza, purché compatibile con le finalità della procedura.

4. Non è consentito fare uso di alcun mezzo, ivi compresi agenti di blocco neuromuscolare, volto ad impedire o limitare l'espressione del dolore senza assicurare un livello adeguato di anestesia o di analgesia.

5. Al termine della procedura sono intraprese azioni appropriate allo scopo di ridurre al minimo la sofferenza dell'animale.



Art. 16 -*Riutilizzo degli animali impiegati nelle procedure*

Un animale già usato in una o più procedure può essere riutilizzato in altre procedure solo se sono soddisfatte determinate condizioni.

- a) l'effettiva gravità delle procedure precedenti era «lieve» o «moderata»;*
- b) è dimostrato che è stato pienamente ripristinato il benessere e lo stato di salute generale dell'animale;*
- c) la procedura successiva è classificata come «lieve» o «moderata» o «non risveglio» (sino al 31/12/2016);*
- d) la procedura successiva è classificata come «lieve » o «non risveglio» (dal 1/01/2017) ;*
- e) il veterinario designato .., ha espresso parere positivo tenuto conto delle esperienze dell'animale nel corso di tutta la sua vita.*

Art. 19 - Liberazione e reinserimento degli animali

1. Gli animali utilizzati o destinati a essere utilizzati nelle procedure, previo parere favorevole del medico veterinario ..., possono essere reinseriti o reintrodotti in un habitat adeguato o in un sistema di allevamento appropriato alla loro specie, alle seguenti condizioni:

a) lo stato di salute dell'animale lo permette;

b) non vi è pericolo per la sanità pubblica, la salute animale o l'ambiente;

c) sono state adottate le misure del caso per la salvaguardia del benessere dell'animale;

d) è stato predisposto un programma di reinserimento che assicura la socializzazione degli animali ovvero un programma di riabilitazione, se animali selvatici, prima della reintroduzione nel loro habitat.

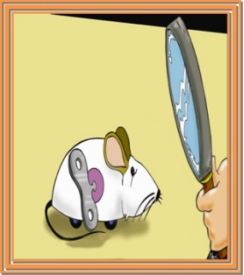
Con decreto del Ministro, sono individuati i requisiti strutturali e gestionali per lo svolgimento delle attività reinserimento o riabilitazione.

Art. 30 - Attività ispettiva

1. Le autorità di cui all'articolo 4, effettuano ispezioni regolari sugli allevatori, sui fornitori e sugli utilizzatori ed i rispettivi stabilimenti, nonché **sull'esecuzione dei progetti , per verificare la conformità degli stessi con i requisiti del presente decreto.**

2. L'autorità competente che, nel corso delle attività di cui al comma 1, rileva una o più non conformità **tali da non compromettere il benessere degli animali**, prima di procedere all'applicazione delle sanzioni per le fattispecie .., indica nel verbale di accertamento le carenze riscontrate e le conseguenti prescrizioni con i termini di adeguamento per la rimozione delle stesse. Decorsi tali termini, in caso di accertata mancata rimozione delle non conformità, l'autorità competente procede con l'applicazione delle sanzioni.





"Protezione degli animali impiegati nella ricerca: aspetti normativi, etici e scientifici"

Gestione delle specie animali utilizzate a fini scientifici

Dott. Alberto SBRANA
4 Marzo 2016



Principali norme comportamentali

- ✦ Entrare solo se necessario e solo nelle stanze di competenza andando da quelle più «pulite» a quelle più «sporche»;
- ✦ Utilizzare sempre i **Dispositivi di Protezione Collettiva (DPC)** e **Dispositivi di Protezione Individuale (DPI)** presenti in loco (**NON PORTARLI DA FUORI**);
- ✦ Ad inizio lavoro **verificare il funzionamento dei DPC**;
- ✦ **Non introdurre in stabulario materiali ed oggetti estranei alle procedure**;



Principali norme comportamentali

- ✦ E' vietato assumere cibi e bevande, fumare, conservare cibi destinati a consumo umano, usare pipette a bocca;
- ✦ cambiarsi i DPI quando si proviene da un ambiente contaminato e si deve rimanere in stabulario;
- ✦ togliere i guanti e gli altri DPI quando si esce dallo stabulario;
- ✦ non toccare con le mani che indossano i guanti parti del proprio corpo o altri oggetti;
- ✦ assicurare il rispetto delle procedure per la raccolta e lo smaltimento dei rifiuti (è vietato qualsiasi scarico di rifiuti attraverso i **lavandini** e le **fognature** in genere).

Norme Generali

Il responsabile di progetto è la persona di riferimento per qualsiasi evenienza salvo deleghe;

Il responsabile di progetto o un suo delegato è responsabile della compilazione delle cartella clinica di ciascun animale sottoposto a procedura

Il medico veterinario è responsabile

- delle condizioni di salute degli animali e deve essere messo al corrente di tutte le procedure in svolgimento (calendario degli esperimenti)
- della gestione e somministrazione dei farmaci per uso vet (compresi anestetici)
- dell'introduzione di nuovi animali
- ha l'obbligo di controllo sull'esecuzione delle procedure sperimentali e di decidere il destino degli animali al termine delle stesse



Personale animal Care

Il personale animal Care si occupa della gestione degli animali in termini di cambio gabbia, fornitura di mangime ed acqua, controllo dei parametri ambientali e specifici in modo da garantire il benessere animale.



Accesso allo Stabulario

- ✦ Entrare SOLO quando strettamente necessario;
- ✦ il personale con temporanee condizioni morbose deve evitare di entrare in stabulario;
- ✦ **è vietato l'accesso allo stabulario alle donne in stato di gravidanza e nei successivi 7 mesi dopo il parto (D.Lgs 151/2001 e normative connesse).** Nel caso in cui la lavoratrice ometta di dichiarare il proprio stato e il Responsabile dello Stabulario venga a conoscenza della gravidanza ha l'obbligo di sospendere immediatamente l'accesso dell'interessata



Accesso allo Stabulario – Personale autorizzato

- Personale Animal Care
- Il Medico Veterinario
- Il Personale di servizio allo stabulario;
- Il Responsabile di ciascun protocollo sperimentale con relativo personale autorizzato e formato

I nuovi utenti possono accedere solo dopo essere stati formati circa le procedure operative.

Il personale non autorizzato e/o eventuali ospiti possono accedere allo stabulario previa richiesta, con 24 ore di anticipo rispetto alla visita.



Smaltimento Rifiuti

Raccolta differenziata dei rifiuti generici (Vetro, Plastica, carta)

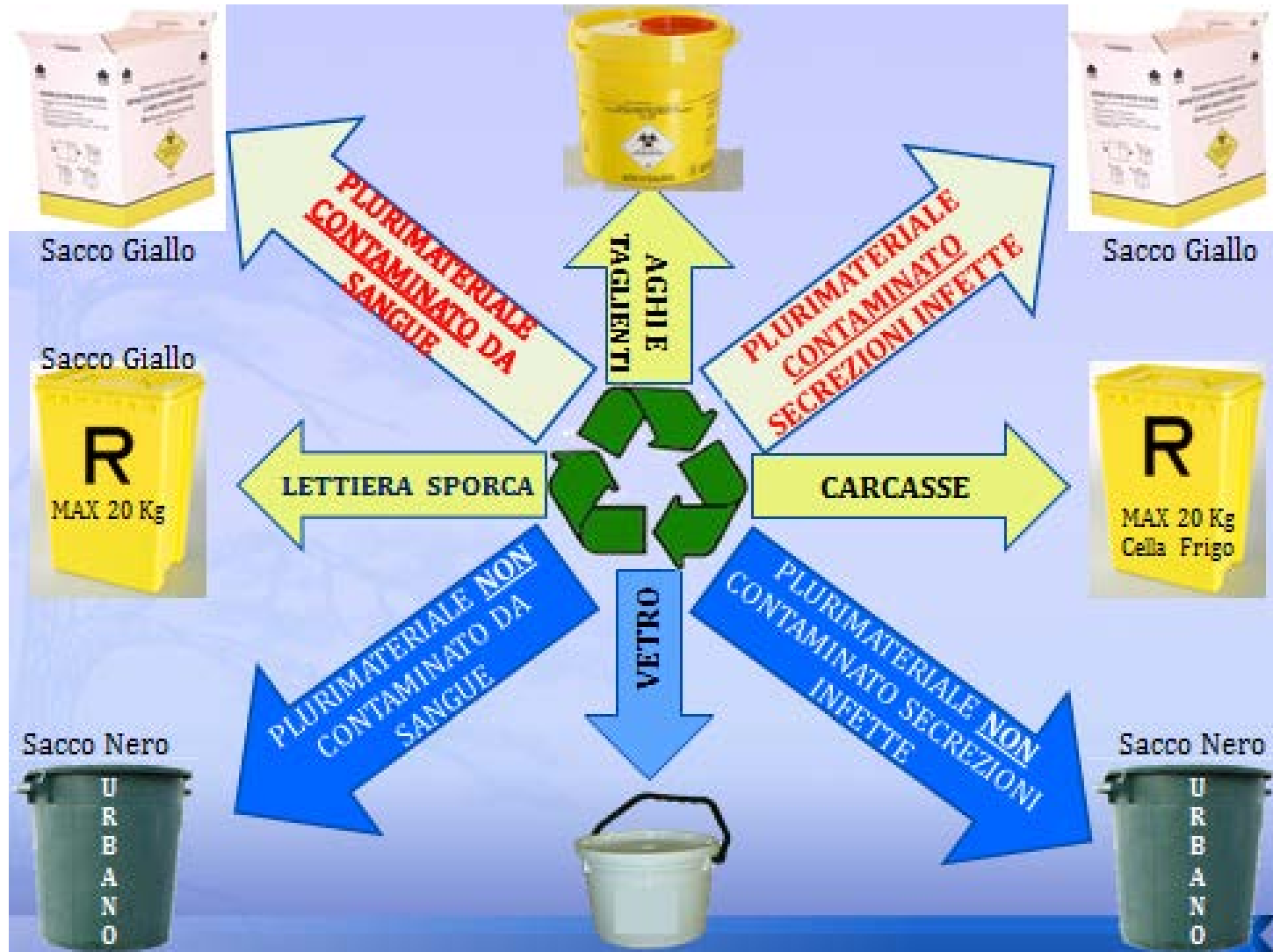
I rifiuti potenzialmente tossici e a rischio infettivo vengono smaltiti tramite procedure specifiche da parte di ditte autorizzate (cod. rifiuto 180202)

Costo elevato

I rifiuti provenienti da laboratori che utilizzano gli animali possono essere smaltiti tramite il CBS. In questo caso il responsabile deve consegnare i rifiuti, raccolti negli appositi contenitori, al personale che provvederà ad apporre l'etichetta relativa con il codice rifiuto e allo smaltimento



Smaltimento Rifiuti - Procedura





Ingresso animali

- ✦ Possono essere introdotti solo Ratti, Topi, Conigli, Criceti, Zebrafish provenienti da stabilimenti fornitori e/o allevamento;
- ✦ Provenienza da stabilimenti come Harlan o C.River: l'accettazione non è vincolata alla visionatura dell'ultimo health report inerente gli animali da introdurre;
- ✦ Provenienza da altri laboratori l'accettazione è vincolata alla visionatura dell'ultimo health report da parte del medico veterinario che deve autorizzare l'ingresso.
- ✦ E' ASSOLUTAMENTE VIETATO INTRODURRE ANIMALI AUTONOMAMENTE



Ingresso animali - Procedura

- ✦ Al momento dell'arrivo gli animali saranno alloggiati nelle gabbie e non potranno essere utilizzati per almeno 7 giorni;
- ✦ il personale compilerà il cartellino di ciascuna gabbia in base alle comunicazioni fornite dal responsabile di progetto;
- ✦ sarà responsabilità del responsabile di progetto l'aggiornamento dei cartellini;



Smaltimento carcasse - Procedura

- ✦ Le carcasse devono essere smaltite come rifiuti speciali a rischio infettivo (cod 180202);
- ✦ consegnare la carcassa al personale animal care;
- ✦ le carcasse devono essere chiuse in sacchi con riportata la data , il n° di animali, il tipo e eventuali limitazione allo smaltimento;
- ✦ le carcasse vengono poste negli appositi bidoni e stoccate nella cella frigo sino allo smaltimento;
- ✦ il reparto congelatore del frigo dei laboratori viene svuotato la prima settimana del mese;
- ✦ le carcasse dei grossi animali devono essere sezionate in pezzi di peso non superiore ai 20 kg.



Procedure

- ✦ I nuovi utenti che non hanno mai eseguito procedure su animali devono essere accompagnati da un ricercatore esperto sino a che non abbiano acquisito le capacità necessarie.
- ✦ Le procedure per le quali il ricercatore non ha dimestichezza saranno eseguite in presenza del medico veterinario.
- ✦



Gli stabulari possono essere definiti in base al livello di qualità microbiologica degli animali stabulati. Come per i laboratori, i requisiti delle caratteristiche di progettazione, dotazione e precauzioni crescono a seconda del livello di contenimento microbiologico. Essenzialmente ne distinguiamo 2 tipi

Stabulario convenzionale: non richiede particolari misure protettive e può ospitare animali che sono venuti a contatto con un numero variabile di patogeni. Gli animali convenzionali sono tuttora largamente utilizzati nella ricerca medica, in particolare negli studi di fisiologia, farmacologia e neuropsicologia sperimentale oltre che in oncologia e nella messa a punto di tecniche chirurgiche e microchirurgiche nel campo della medicina sperimentale.

Stabulario specific pathogen free -SPF: vi possono entrare soltanto animali provenienti da allevamenti certificati per essere mantenuti in condizioni sanitarie e ambientali rigidamente controllate. L'uso di animali SPF è oggi fortemente raccomandato per gli studi di immunologia e di genetica, di tossicologia e di oncologia

CARATTERISTICHE GENERALI DI UNO STABULARIO

Locali per la giacenza (stabulazione o allevamento)

Locale quarantena locale isolamento

Ogni locale deve essere dotato di impianto di climatizzazione separato sistema di illuminazione temporizzata e di un sistema di ventilazione che consente un adeguato ricambio d'aria.

Locale trattamenti (cappa a flusso laminare per l'esecuzione di esperimenti in condizione di sterilità; cappa chimica per l'esecuzione delle procedure di fissazione dei campioni biologici, anestetici volatili) -

bocchetta di distribuzione di CO₂ a bassa pressione per la soppressione eutanasica degli animali

Locale lavaggio (macchina per il lavaggio e la disinfezione delle gabbie).

Locale magazzino dotato di accesso diretto dall'esterno per carico/scarico merci.

Congelatore a pozzetto per lo stoccaggio delle carcasse degli animali prima dello smaltimento

CARATTERISTICHE GENERALI DI UNO STABULARIO

- pareti lavabili e disinfettabili sino a 2mt di altezza
- raccordi a sagoma curva tra pareti e pavimento
- chiusini sifonati
- idonee attrezzature e dispositivi per la detenzione degli animali in condizioni di salute e di benessere(incluso sistemi per la distribuzione di acqua potabile, razionale distribuzione degli alimenti e delle operazioni generali di governo includenti la pulizia) e la idonea gestione delle condizioni igienico sanitarie
- sistemi per la distribuzione di acqua potabile calda –fredda
- finestrature dotate di retine a maglie strette anti insetti ed antioditori
- conformità (in termini di benessere e salute degli animali) e manutenzione delle attrezzature e degli ambienti di alloggiamento degli animali al dettato del DLgs 26/2014
- dispositivi che segnalino incendi, intrusioni, guasti agli impianti dei locali di stabulazione degli animali

Nell'ultimo secolo sono stati assegnati 98 premi Nobel per la medicina, 75 dei quali si basavano su studi animali

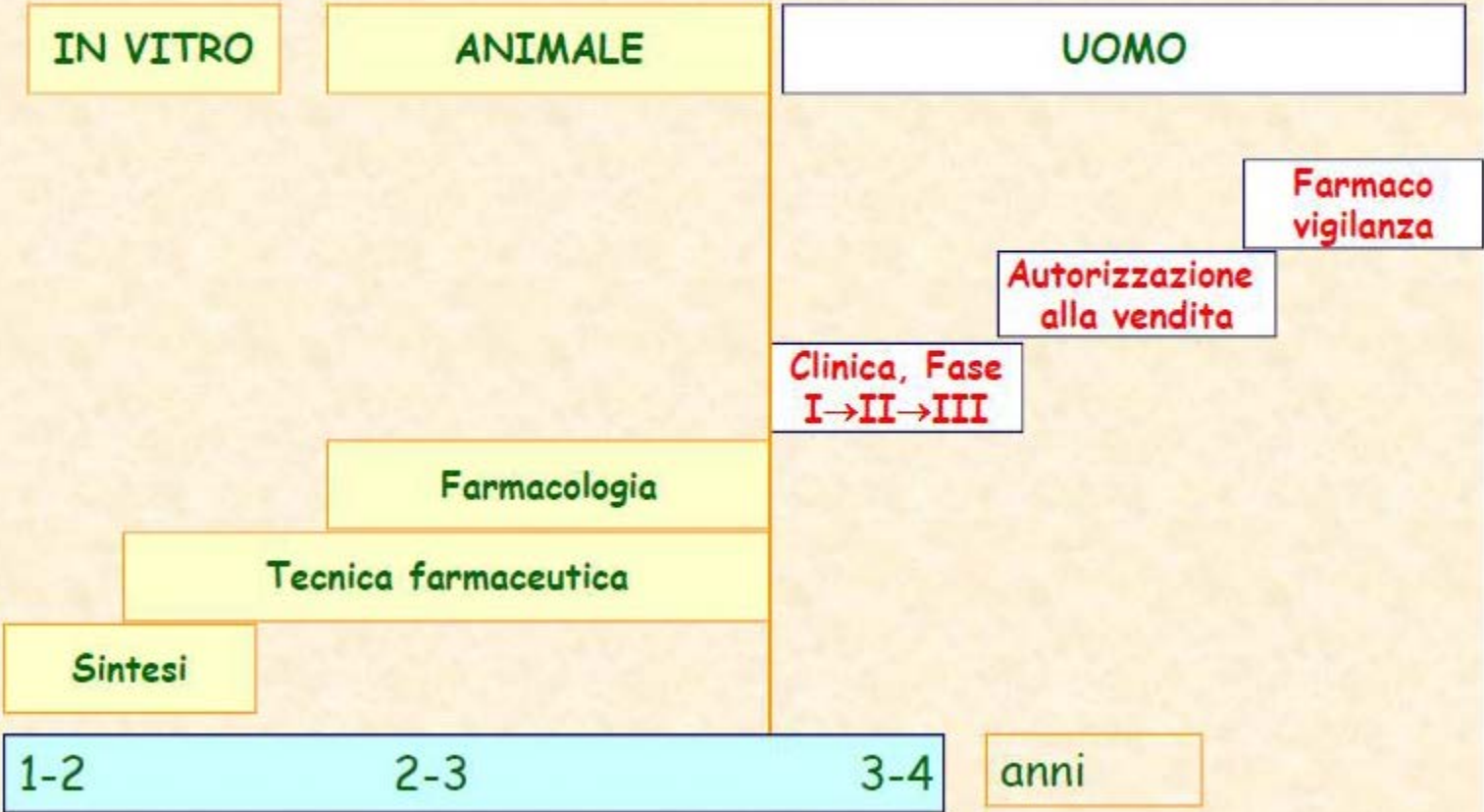
Perché i roditori

- Facilità di mantenimento e manipolazione
- Elevata capacità riproduttiva
- Tempo di generazione e durata della vita relativamente brevi
- Disponibilità di dati di base sulle specie rodentrici
- Disponibilità di numerosi ceppi e linee ben definiti
- Possibilità per alcune specie di adottare tecniche di produzione germ-free and pathogen-free
- L'esistenza di differenti caratteristiche specie specifiche ha dato luogo a numerosi modelli di malattia rilevanti per la ricerca biomedica

Andamento cronologico dello sviluppo di un farmaco

Sperimentazione pre-clinica

La sperimentazione clinica



Animali convenzionali

Riderivazione
Per isterectomia

Animali Germ-free (GF)

Animali gnotobiotici

Animali CRF
(con flora enterica
resistente)

Animali SPF
(Specific Pathogen
Free)