



BENESSERE DEGLI ANIMALI DA LABORATORIO E METODI ALTERNATIVI ALLA SPERIMENTAZIONE ANIMALE



Attrezzature e tecniche di stabulazione: roditori e lagomorfi

Dott.ssa Roberta Bernardini



Centro Interdipartimentale per la Medicina Comparata, Tecniche
Alternative ed Acquacoltura

14-18 Ottobre e 18-21 Novembre 2019



Cos'è uno stabulario?



- /sta·bu·là·rio/
- *sostantivo maschile*
- Stalla pubblica per la custodia provvisoria di animali.
- Ciascuno dei locali, di un istituto o di un laboratorio, in cui si allevano animali per la ricerca scientifica.



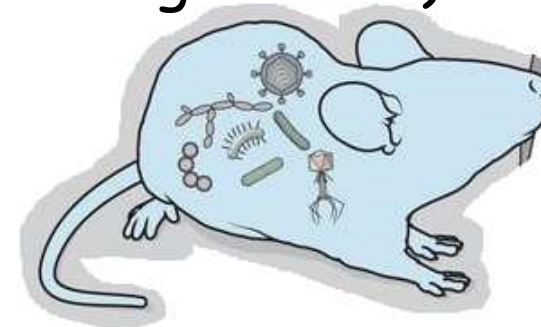
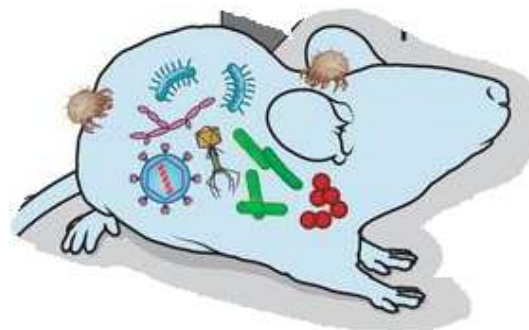
Tipo di stabulario

- Stabulario utilizzatore
- Stabulario allevatore
- Stabulario fornitore



Tipo di stabulario

- Stabulario convenzionale
- Stabulario barrierato o SPF (Specific Pathogen Free)
- Stabulario Germ free



Analisi sanitarie

Virus	METODO	FREQ.
Mouse hepatitis virus (MHV)	E/PCR	Q
Mouse rotavirus (EDIM)	E	Q
Minute virus of mice (MVM)	E/PCR	Q
Mouse parvovirus	E/PCR	Q
Pneumonia virus of mice (PVM)	E	Q
Sendai virus	E	Q
Theiler's encephalomyelitis virus (GDVII)	E	Q
Ectromelia virus	E	A
Lymphocytic choriomeningitis virus (LCM)	E	A
Mouse adenovirus type 1 (FL)	E	A
Mouse adenovirus type 2 (K87)	E	A
Mouse cytomegalovirus (MCMV)	E	A
Reovirus type3 (REO3)	E	A
Murine norovirus (MNV)	E/PCR	A
Batteri e Micoplasmi		
Citrobacter rodentium	C	Q
Clostridium piliforme (Tyzzer's disease)	E/PCR	Q
Corynebacterium kutscheri	C	Q
Mycoplasma spp.	E/PCR	Q
Pasteurellaceae	C	Q
Salmonella spp.	C	Q
Streptococci β -hemolytic	C	Q
Streptococcus pneumoniae	C	Q
Helicobacter spp.	PCR	A
Streptobacillus moniliformis	C	A
Parassiti eProtozoi		
Ectoparassiti:	M	Q
Identificazione della specie		
Endoparassiti:	M	Q
Identificazione della specie		

Metodo: C= coltura; E= ELISA; M= esame microscopico; PCR= reaz. di polimerasi a catena

Frequenza: Q= ogni 3 mesi (trimestrali); A= ogni 12 mesi (annuali)

LO STABULARIO

- ⇒ Localizzazione
- ⇒ disegno dei locali
- ⇒ divisioni funzionali principali
 - area ricevimento animali
 - locali di condizionamento/quarantena
 - locali di mantenimento
 - locali per l'allevamento
 - locali per la sperimentazione e il trattamento
 - locali di supporto
 - lavaggio e sterilizzazione
 - locali per lo stoccaggio dei rifiuti
 - locali per lo stoccaggio del cibo e della lettiera
 - locali dedicati al personale

Stanze di stabulazione

devono rispondere a una serie di requisiti:



I materiali di rivestimento devono essere trattabili con detergenti/sanitizzanti piuttosto aggressivi



Il raccordo pavimento/parete deve essere stondato



Le porte devono essere a tenuta



Non ci devono essere finestre verso l'esterno, e naturalmente neanche porte

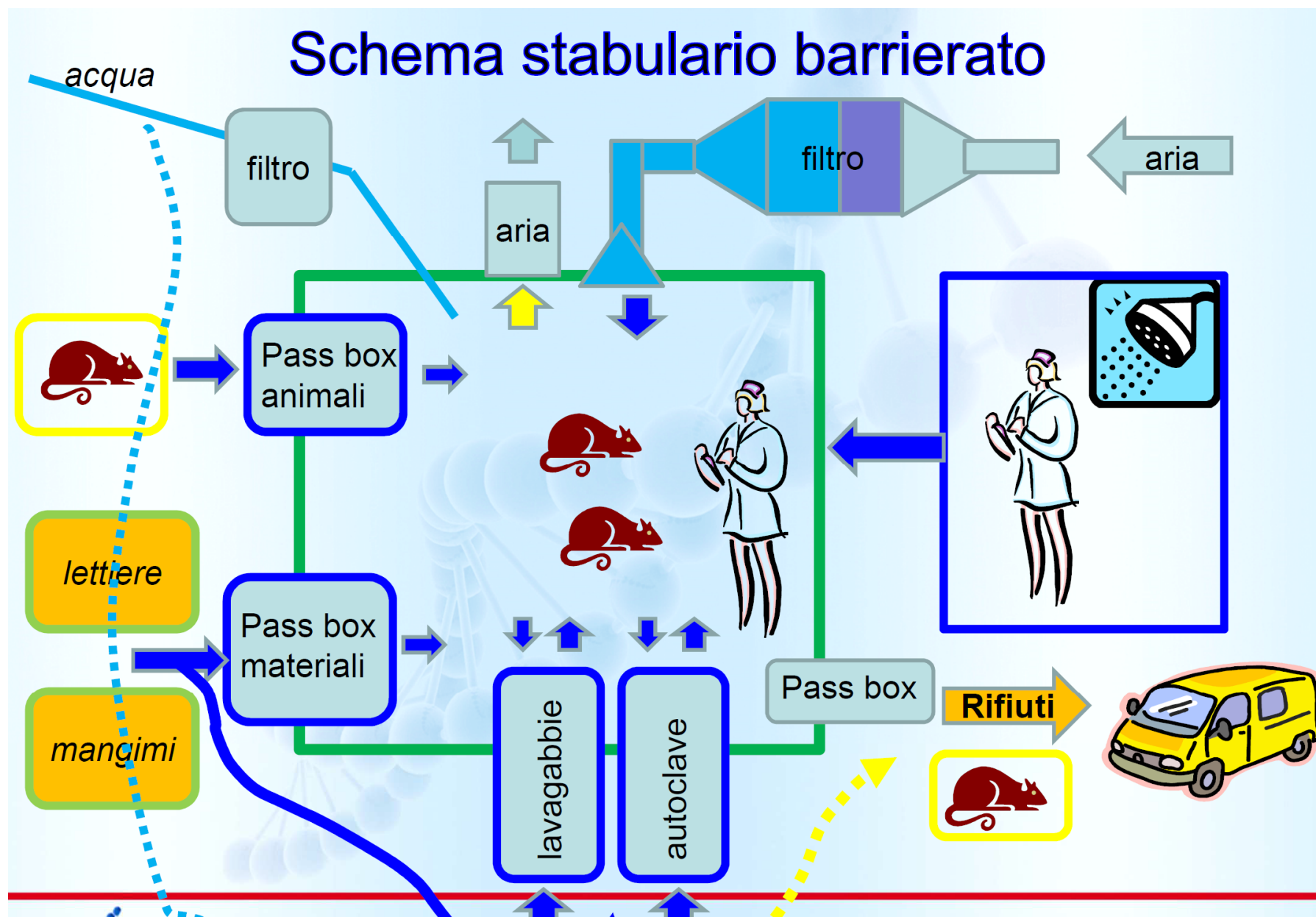


Devono contenere lo stretto indispensabile

Stabulario SPF (barrierato): ingresso del personale e dei materiali

- Ingresso aria filtrata
- Cambio abiti totale - doccia
- Impiego di materiale dedicato o monouso
- Materiale in ingresso deve essere sanitizzato
- Mangime sterilizzato o irradiato
- Acqua potabile o acidificata
- Lettieria sterilizzata
- Gabbia statica o ventilata individualmente
- Sterilizzazione o disinfezione di tutte le forniture e attrezzature
- Trasferimento dei topi con una pinza disinfettata sotto cappa biologica
- Ingresso limitato

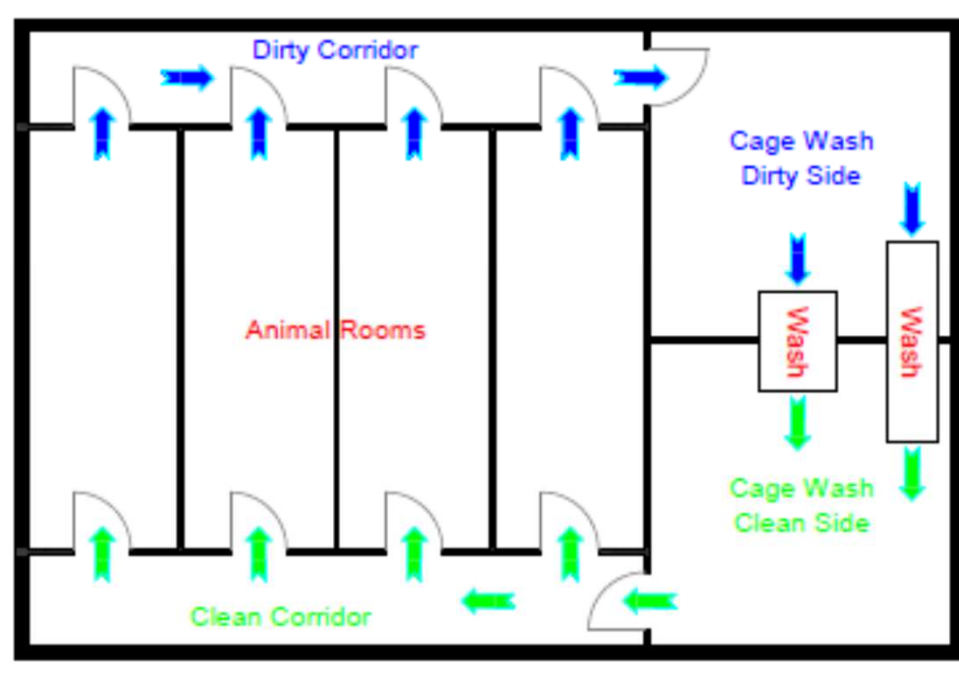
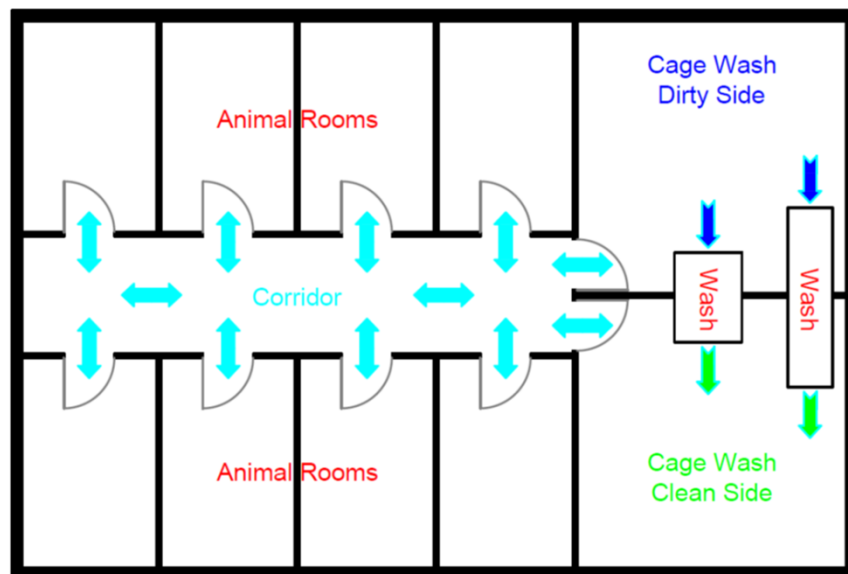




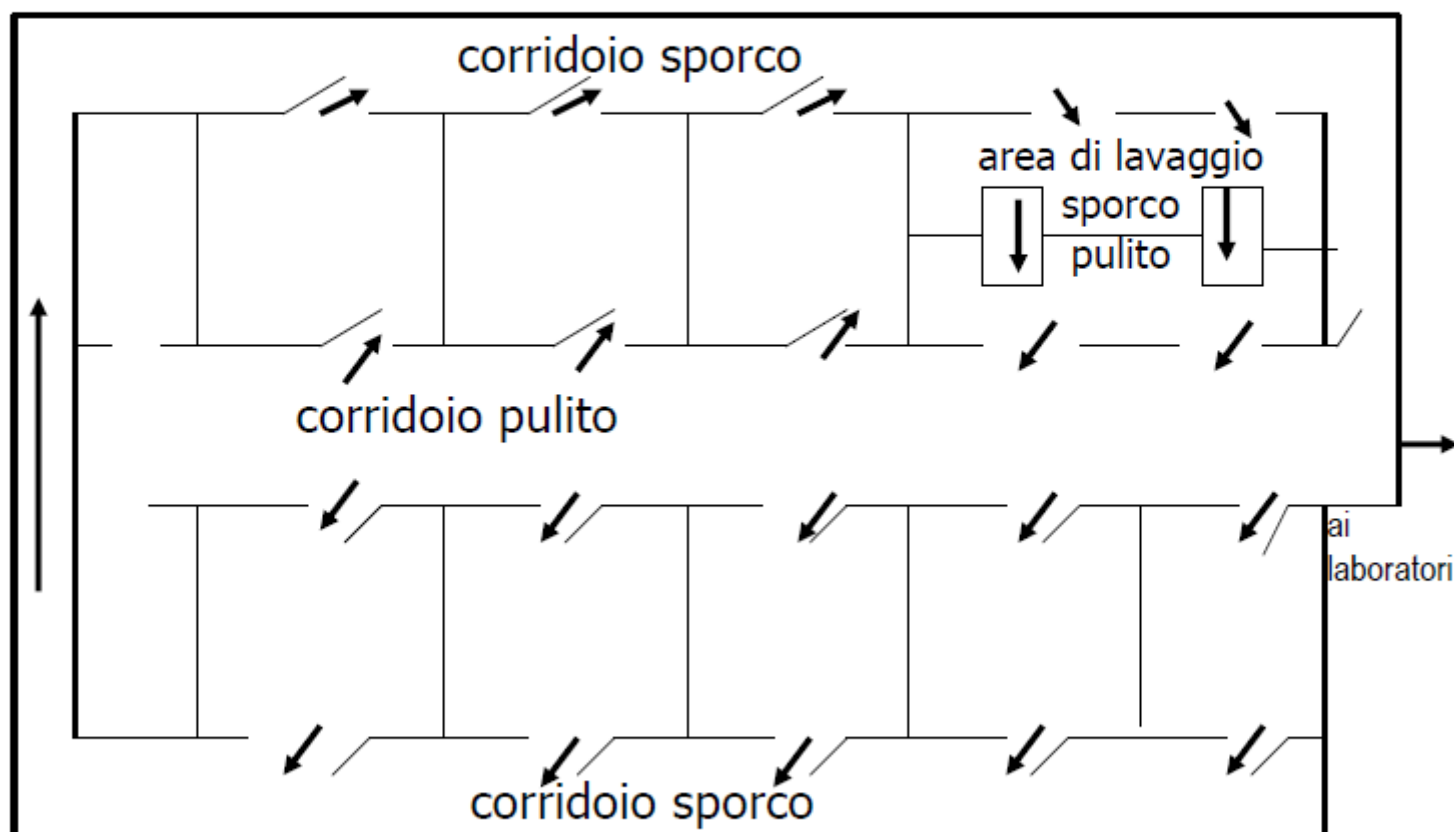
Stabulario convenzionale: ingresso del personale e dei materiali

- Cambio abiti parziale: camice, mascherina, guanti e cuffia
- Zoccoli/Sovrascarpe
- Limitare quanto più possibile gli ingressi nelle stanze





Struttura di uno stabulario



Centro Interdipartimentale Medicina Comparata, Tecniche Alternative ed Acquacoltura – CIMETA

www.sta.uniroma2.it



Director Prof. Maurizio Mattei

✚ Centro di studio per la Medicina comparata e sperimentale

✚ Studi pre-clinici e vaccinali

✚ Tecniche *in vitro* e *in silico*, alternative alla sperimentazione animale

✚ Autonomia finanziaria

Services:

✚ Unità di citofluorimetria

✚ Servizio di ematologia e biochimica clinica

✚ Studi di immagini molecolari e raggi X in piccoli animali *in vivo*

✚ Studi pre-tossicologici

✚ Produzione di siero iperimmune e sviluppo di anticorpi poli e mono-clonali

✚ Sviluppo di modelli animali in oncologia

✚ Procedure chirurgiche e anestesia

✚ Corsi di chirurgia

Laboratory

Kodak imaging
room

Haematological
Laboratory

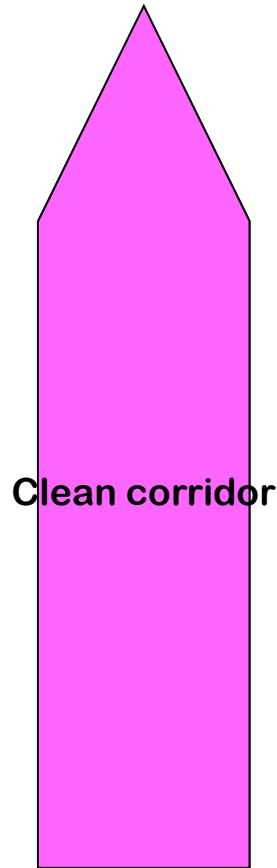
Surgery room

Pre-surgery
room

P3
Room
Nude and SCID

The facility
800 square meters – 20 Standar rooms – 3 P3 rooms

-1 Floor
indoor/outdoo
for medium siz
animals



Mice Room

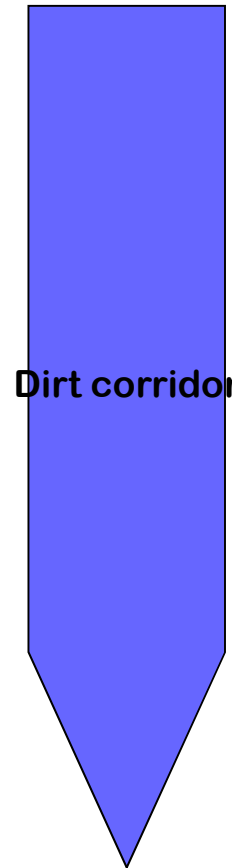
Mice room

Mice room

Mice room

Breeding
room

Rabbit Room



Rat room

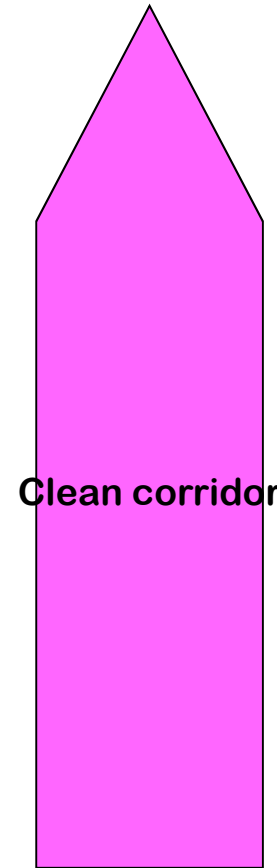
Mice room

Mice room

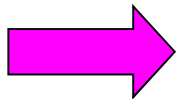
Mice room

Mice room

Quarantine

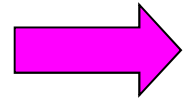


Entrance



Washing and sterilization area
and other supporting local

Exit



Gli Animali



Macroambiente di stabulazione

controllo delle condizioni ambientali

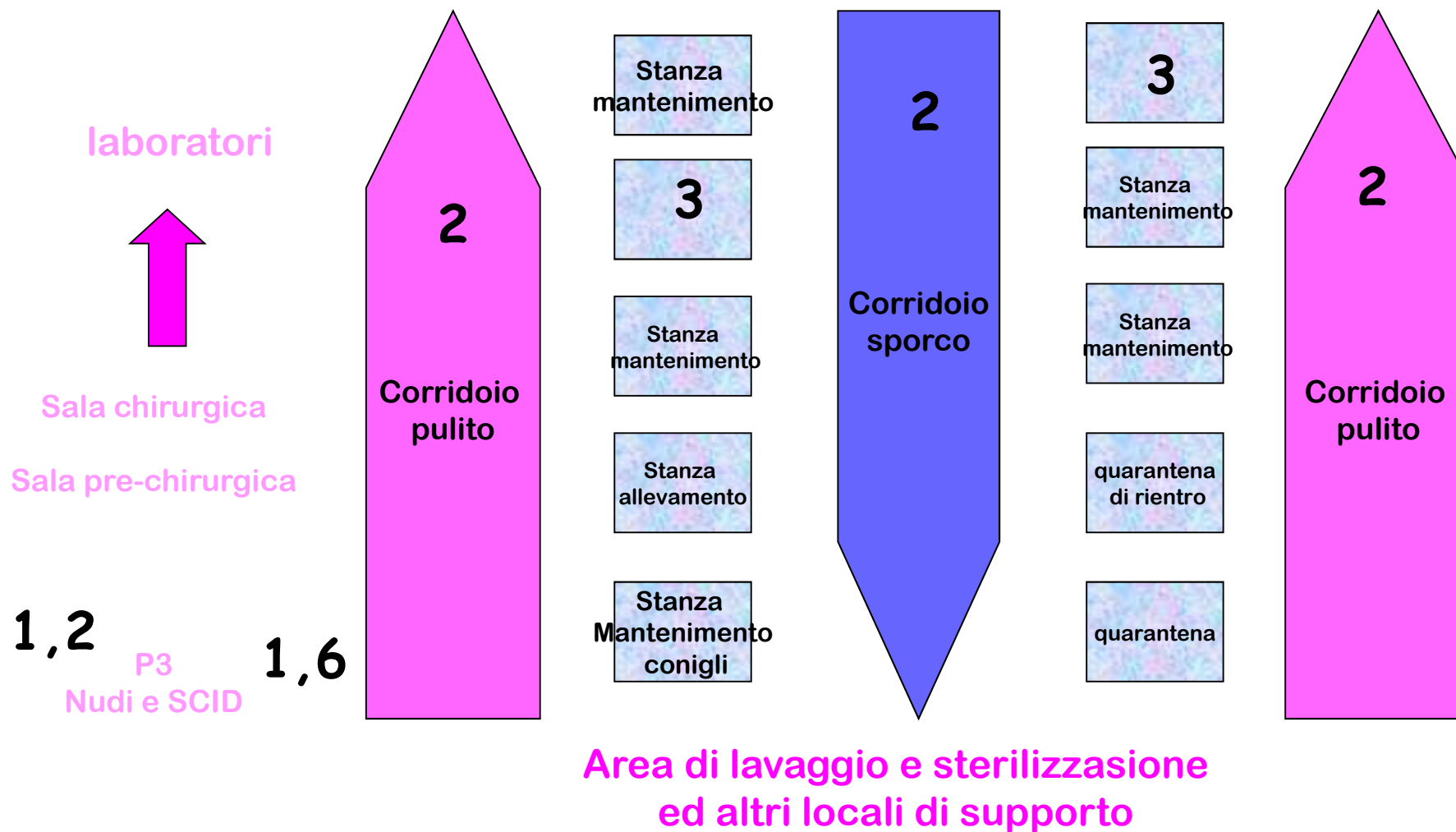
- temperatura (20-22°C)
- umidità (50-65%)
- ventilazione (15 ricambi/h)
- illuminazione (12h/12h)
- rumore
- pressione
- contaminanti chimici
- lettiera
- densità della popolazione e limitazioni di spazio

TEMPERATURA OTTIMALE NEI LOCALI DI STABULAZIONE per alcune specie di laboratorio

20-28 °C	20-24 °C	15-21 °C	10-24 °C
Primati del Nuovo mondo	Topo Ratto Criceto Gerbillo Cavia Primati del Vecchio mondo	Coniglio Gatto Cane	Maiale

Pressioni

Pressione esterna
=1



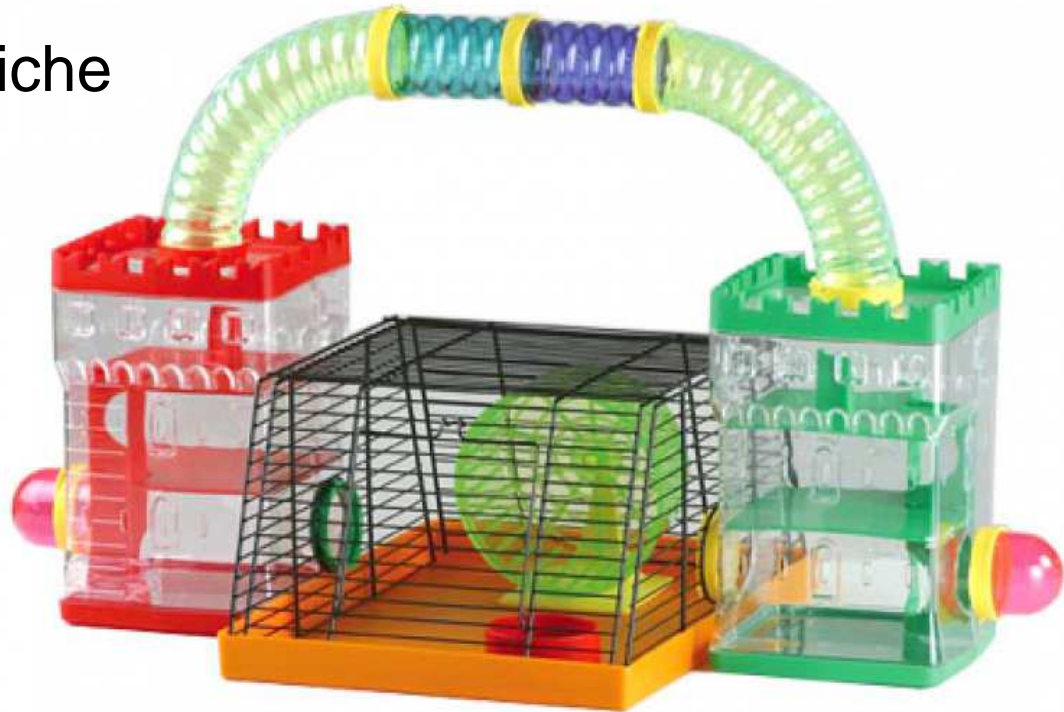
Fattori che possono influenzare il risultato sperimentale

Fattori fisici	Fattori chimici	Fattori biologici	Fattori comportamentali
Temperatura	Alimentazione	Animali malati	N° di animali per gabbia
Umidità	Lettiera	Insetti	Presenza di animali di specie o sesso diversi
Ventilazione	Odori, polveri, gas	Uomo	Manipolazione
Ciclo luce-buio	Insetticidi, disinfettanti		
Illuminazione			
Rumore			

Microambiente di stabulazione

sistemi di stabulazione:

- statico
- ventilato individualmente
- Isolatori
- Gabbie metaboliche



Stabulazione statica





Tabella 1.1. Topi

	Peso corporeo (g)	Dimensione minima dell'alloggiamento (cm ²)	Spazio al suolo per animale (cm ²)	Altezza minima dell'alloggiamento (cm)	Data di cui all'articolo 22, comma 1
In riserva e durante le procedure	fino a 20 > 20 fino a 25 > 25 fino a 30 oltre 30	330 330 330 330	60 70 80 100	12 12 12 12	1° gennaio 2017
Riproduzione		330 Per una coppia monogama (non consanguinei/consanguinei) o un trio (consanguinei). Per ogni ulteriore femmina e figliata aggiungere 180 cm ²		12	
Riserva presso gli allevatori* Dimensione alloggiamento 950 cm ²	inferiore a 20	950	40	12	
Dimensione alloggiamento 1 500 cm ²	inferiore a 20	1500	30	12	

* I topi svezzati possono rimanere a queste densità di popolamento più elevate per il breve periodo dopo lo svezzamento e fino a quando si riproducono purché gli animali siano accolti in alloggiamenti più grandi con adeguato arricchimento e purché queste condizioni di alloggiamento non compromettano in alcun modo il benessere degli animali creando situazioni quali: livelli più elevati di aggressività, morbidità o mortalità, stereotipie o altri deficit comportamentali, perdita di peso o altre risposte da stress psicologico o comportamentale.

Tabella 1.2. Ratti

	Peso corporeo (g)	Dimensione minima dell'alloggiamento (cm ²)	Spazio al suolo per animale (cm ²)	Altezza minima dell'alloggiamento (cm)	Data di cui all'articolo 22, comma 1
In riserva e durante le procedure*	fino a 200 > 200 fino a 300 > 300 fino a 400 > 400 fino a 600 oltre 600	800 800 800 800 1 500	200 250 350 450 600	18 18 18 18 18	1° gennaio 2017
Riproduzione		800 Madre e figliata. Per ciascun animale adulto aggiunto all'alloggiamento in via permanente aggiungere 400 cm ²		18	
Riserva presso gli allevatori**	fino a 50 > 50 fino a 100	1 500 1 500	100 125	18 18	
Dimensione alloggiamento 1.500 cm ²	> 100 fino a 150 > 150 fino a 200	1 500 1 500	150 175	18 18	
Riserva presso gli allevatori**	fino a 100 > 100 fino a 150	2 500 2 500	100 125	18 18	
Dimensione alloggiamento 2.500 cm ²	> 150 fino a 200	2 500	150	18	

* Per gli studi a lungo termine, se lo spazio minimo disponibile per ogni animale è inferiore a quello indicato nella tabella verso la fine degli studi in questione, occorre privilegiare il mantenimento di strutture sociali stabili.

** I ratti svezzati possono rimanere a queste densità di popolamento più elevate per il breve periodo dopo lo svezzamento e fino a quando si riproducono purché gli animali siano accolti in alloggiamenti più grandi con adeguato arricchimento e purché queste condizioni di alloggiamento non compromettano in alcun modo il benessere degli animali creando situazioni quali: livelli più elevati di aggressività, morbidità o mortalità, stereotipie o altri deficit comportamentali, perdita di peso o altre risposte da stress psicologico o comportamentale.

Tabella 2.3. Conigli di età inferiore a 10 settimane

La tabella 2.3 è applicabile sia alle gabbie che ai box chiusi.

Età	Dimensione minima dell'alloggiamento (cm ²)	Spazio minimo al suolo per animale (cm ²)	Altezza minima (cm)	Data di cui all'articolo 22, comma 1
Dallo svezzamento fino a 7 settimane	4 000	800	40	1° gennaio 2017
Da 7 a 10 settimane	4 000	1 200	40	

Tabella 2.4. Conigli: dimensioni ottimali delle piattaforme rialzate degli alloggiamenti che presentano le dimensioni indicate nella tabella 2.1.

Età in settimane	Peso corporeo definitivo (kg)	Dimensione ottimale (cm x cm)	Altezza ottimale a partire dal suolo dell'alloggiamento (cm)	Data di cui all'articolo 22, comma 1
oltre 10	inferiore a 3	55 x 25	25	1° gennaio 2017
	da 3 a 5	55 x 30	25	
	oltre 5	60 x 35	30	

4 ADULTI
1 GRAVIDA

2 ADULTI
1 GRAVIDA

10 ADULTI
2 GRAVIDE



GLI ANIMALI CHE ESCONO NON POSSONO RIENTRARE



Importante

Cartellino:

- Lotto
- n. di protocollo
- n. animali
- Data nascita/arrivo
- Ceppo
- Sesso
- Fornitore
- Ricercatore
- Telefono

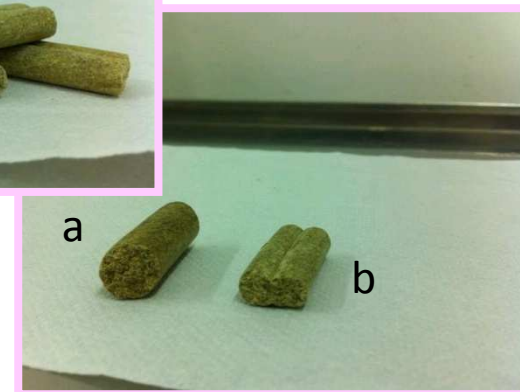
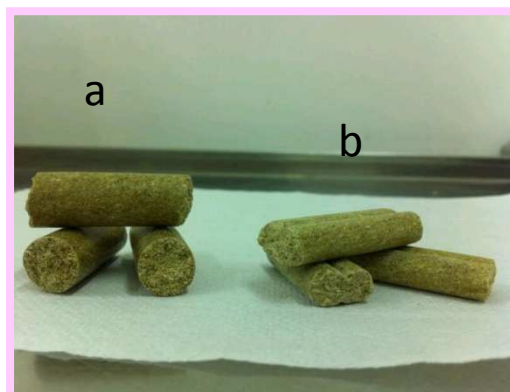
TOR VERGATA UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI ROMA		Lotto <u>CA-203</u>
		N° Prot. <u>205/2020</u>
N°-Genere-Ceppo <u>4 ♀♀ CD1</u>		
Data Nascita/Arrivo <u>01/01/2020</u>		
Resp. Prog. Ricerca <u>MATEI</u>	Resp. Esec. Esperim. <u>BERNARDINI</u>	
Note 		

Importante

- Mangime (Quale usare? Quanto?)

**Mangime:
Standard (a) o Iperproteico (b)**

Mangime irradiato

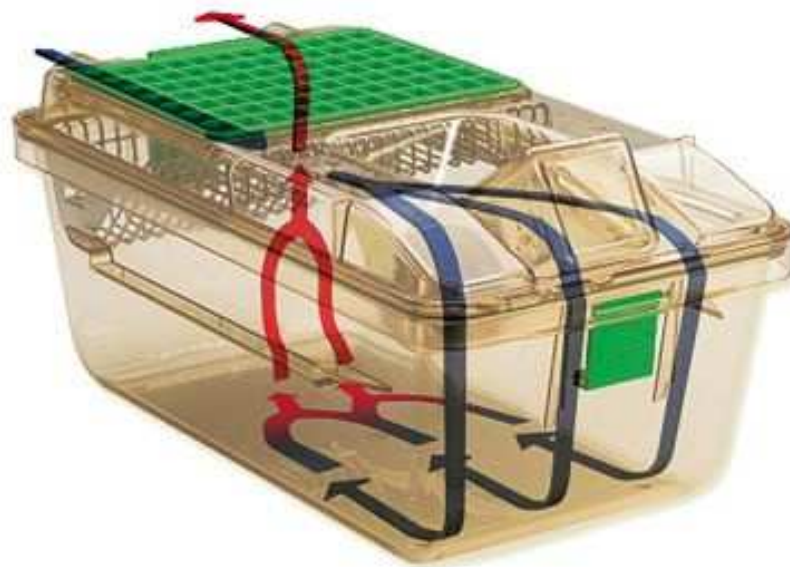


Importante

- Biberon (pieno e raggiungibile)
- Griglia chiusa
- Arricchimento ambientale
- Accoppiamento (estro nelle 24 ore successive al parto)
- Cannibalismo nelle primipare
- Svezamento (21 giorni ed oltre, sostegno con mangime nella lettiera)

Gabbia ventilata singolarmente

- Posizione ugelli immissione aria
- Chiusura ugelli durante la rimozione
- Ricambi aria (60-70 ricambi/h)
- Velocità aria (<0,20 m/s)
- Pressione positiva e negativa



Gabbia ventilata singolarmente

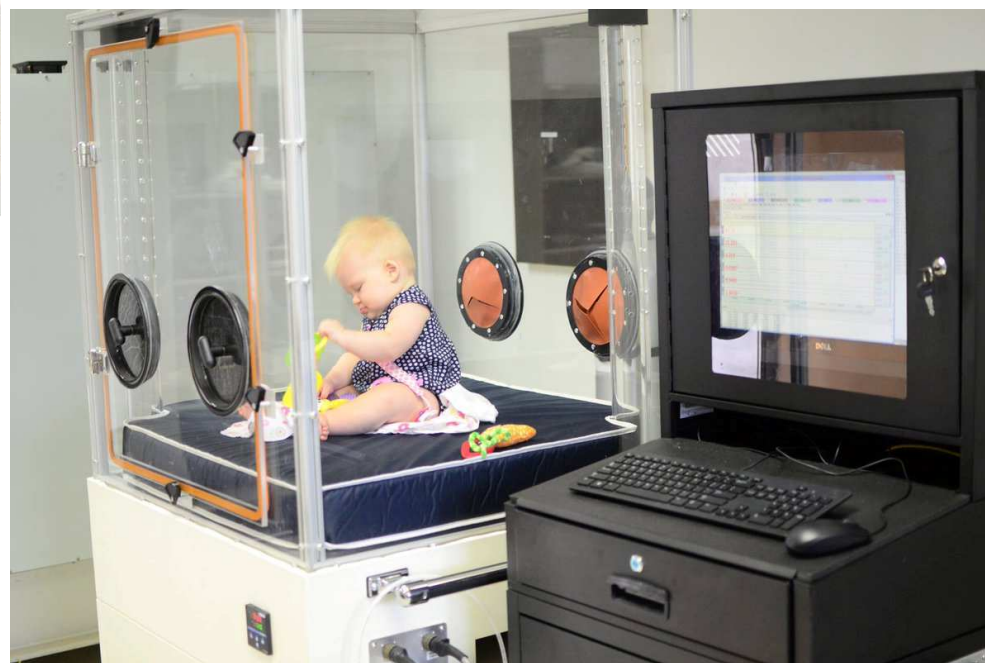
- Le gabbie sono in pressione negativa o positiva
- Si evita la cross-contamination tra gabbie
- Nelle gabbie viene immessa aria "sterile" (hepa filter 99,99 d.O.P.)
- Si evita l'espulsione di allergeni in ambiente (hepa filter 99,99 D.O.P.)
- La stanza rimane in condizioni di pulizia
- Riduzione costi e smaltimento della lettiera (un cambio ogni 15 Giorni)
- Riduzione costi impianto di climatizzazione-sufficienti 8-10 ricambi d'aria ambiente
- Numero notevole di animali all'interno dei locali di sperimentazione



ISOLATORE

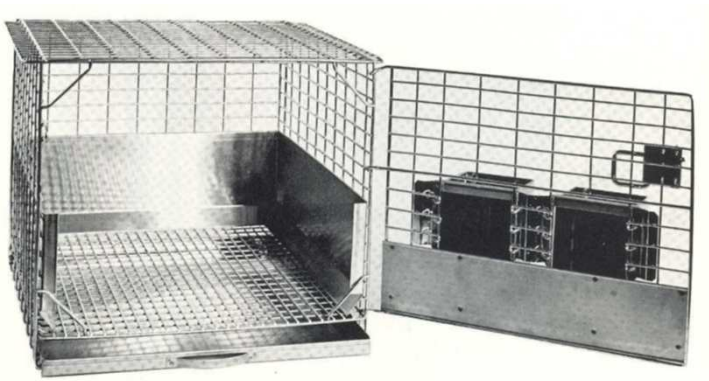
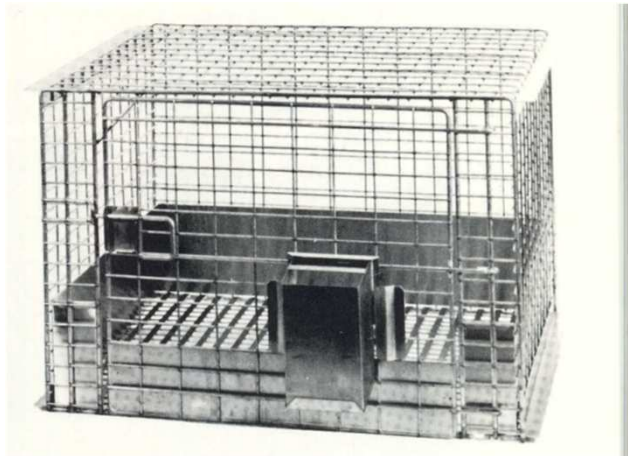






Gabbie per conigli

Gabbie in rete '60-'70

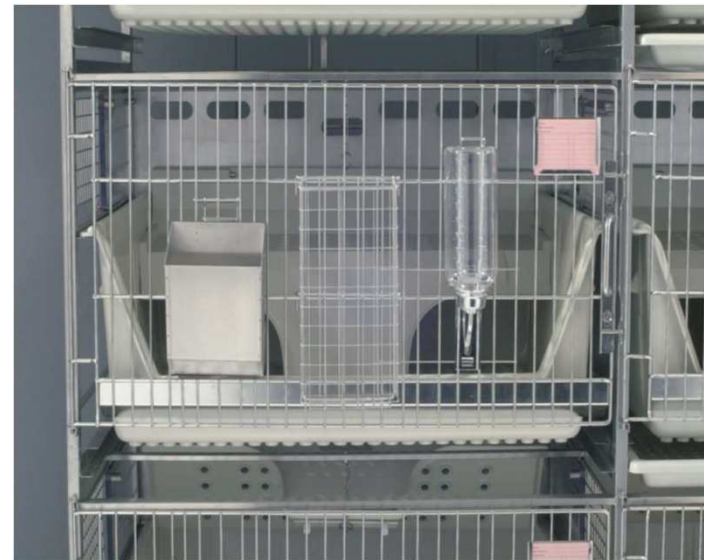


Gabbie in acciaio '70-'80



Gabbie per conigli

Gabbie in Noryl '90-'95



Gabbie per conigli

2000 - Stabulazione singola e di gruppo con arricchimento ambientale



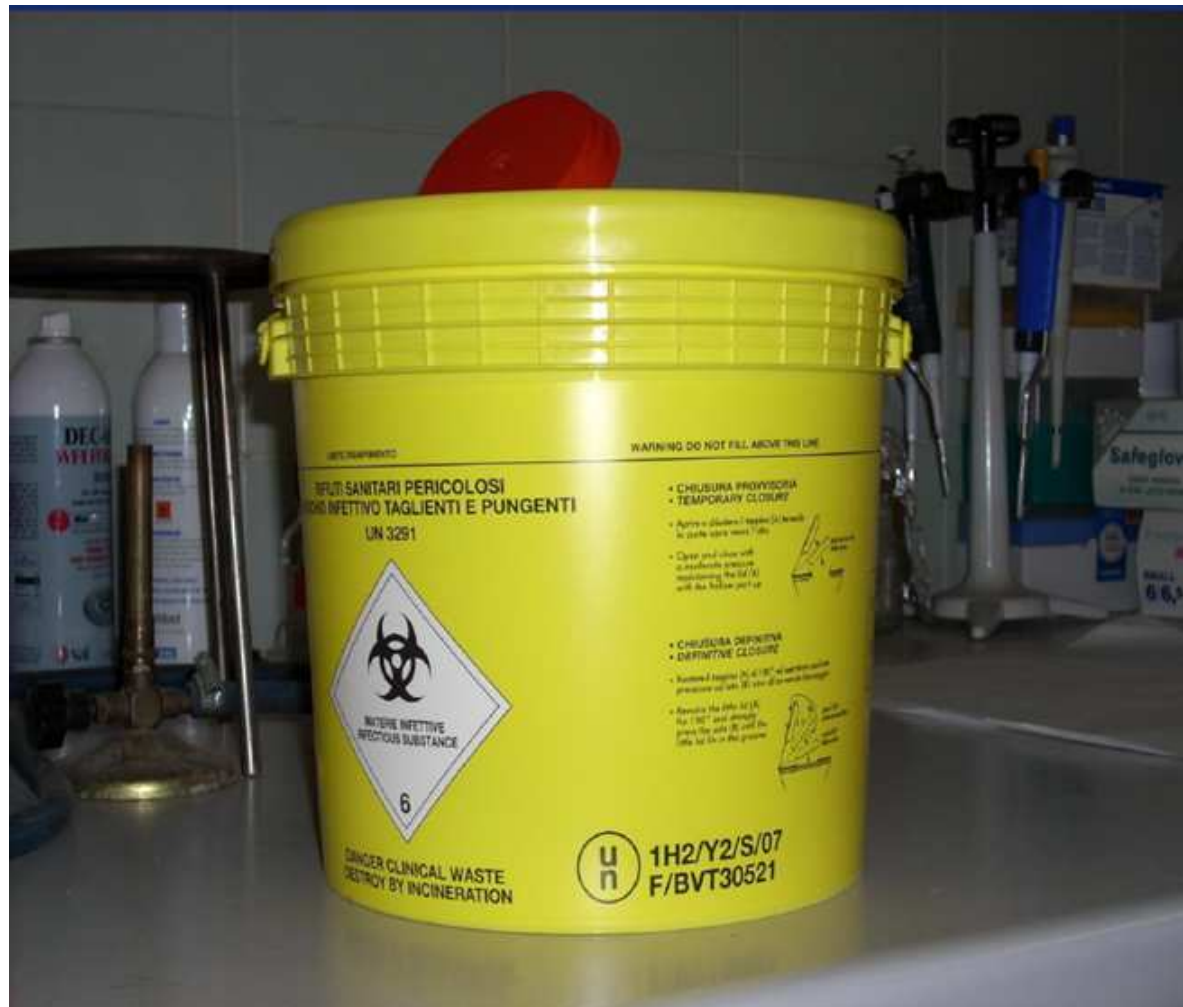
Importante

- DPI (capelli raccolti)
- Prenotazione stanze di sperimentazione (util. 30 min)
- Manipolazione e procedure in stanze dedicate e su apposite superfici (eccetto svezzamento)
- Controllo da parte dei tecnici e responsabilità del ricercatore

Importante

- Sacrificio, personale competente
- Smaltimento carcasse
- Pulizia carrelli
- Lavandini liberi
- Luce
- Barriera
- Chiudere le porte
- Riciclo camici

Il divieto della pratica del rincappucciamento manuale degli aghi in assenza di dispositivi di protezione e di sicurezza per le punture



Grazie per l'attenzione!!!

