



## 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.



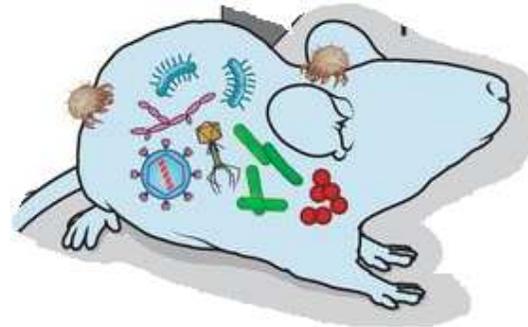
# Tipo di stabulario

- Stabulario utilizzatore
- Stabulario allevatore
- Stabulario fornitore



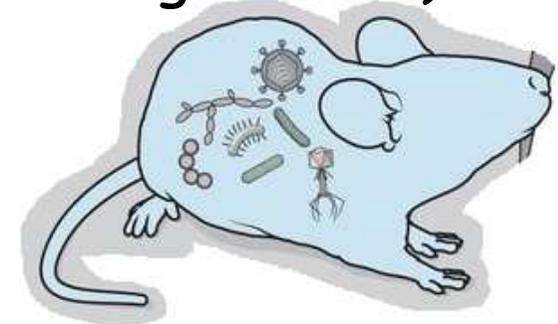
# Tipo di stabulario

- Stabulario convenzionale



- Stabulario barrierato o SPF (Specific Pathogen Free)

- Stabulario Germ free



## Analisi sanitarie

Virus	METODO	FREO.
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
<b>Batteri e Micoplasmi</b>		
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 $\beta$ -hemolytic	C	Q
Streptococcus pneumonie	C	Q
Helicobacter spp.	PCR	A
Streptobacillus moniliformis	C	A
<b>Parassiti eProtozoi</b>		
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

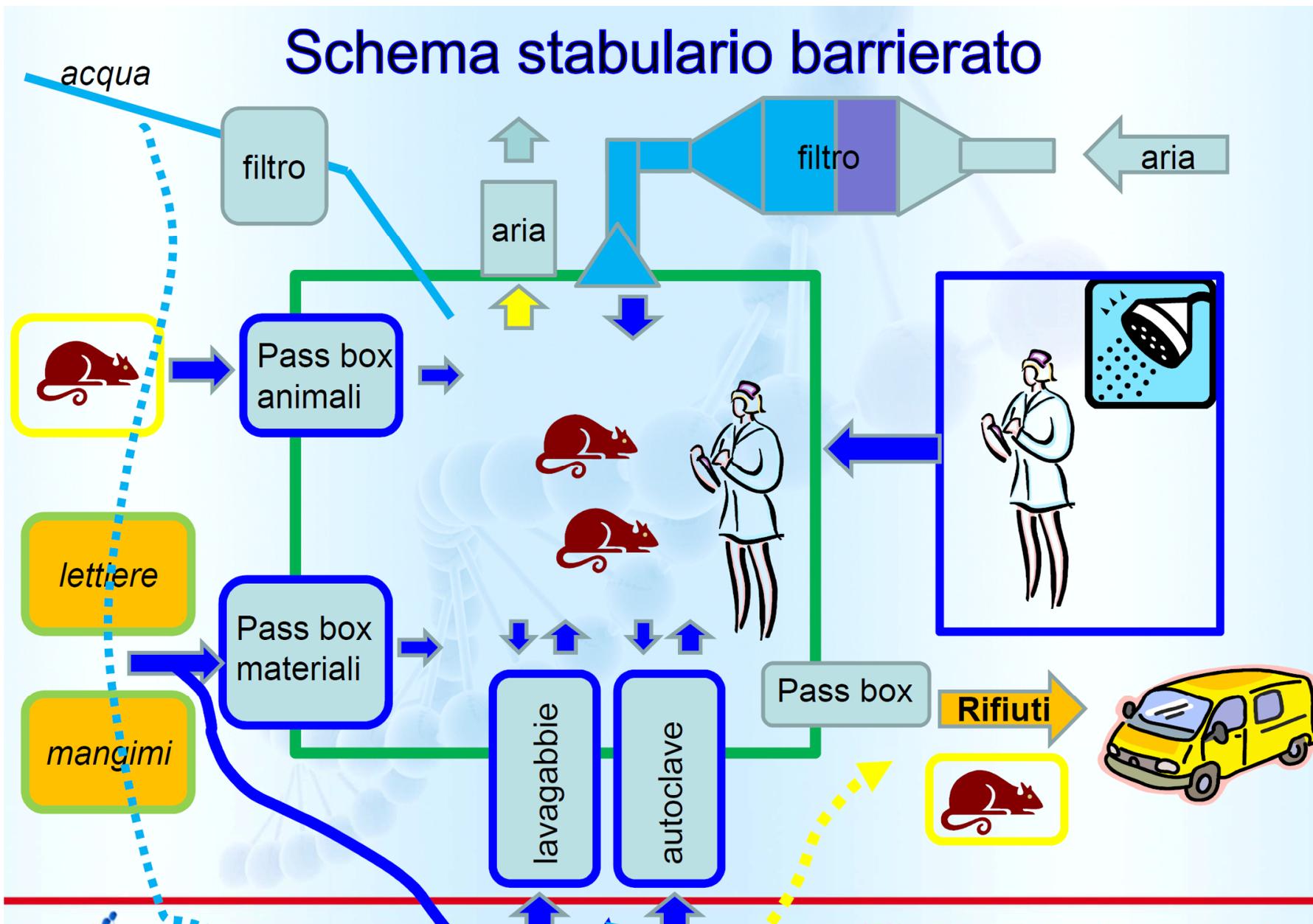


Devono contenere lo stretto indispensabile

# 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

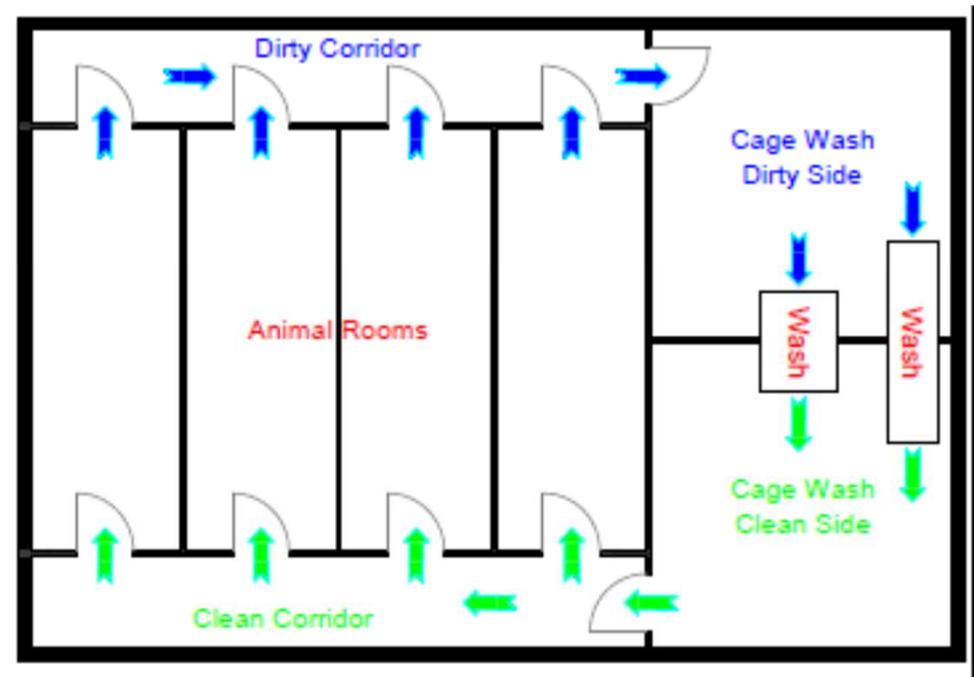
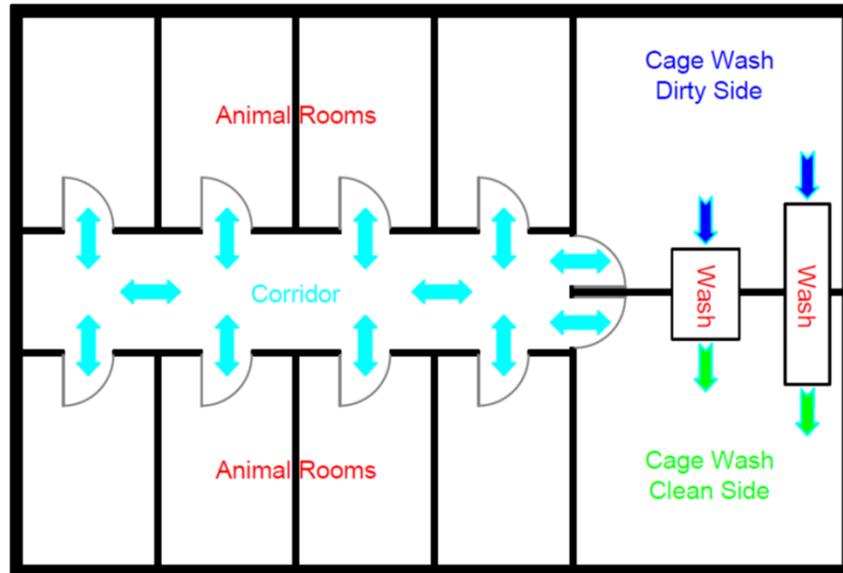




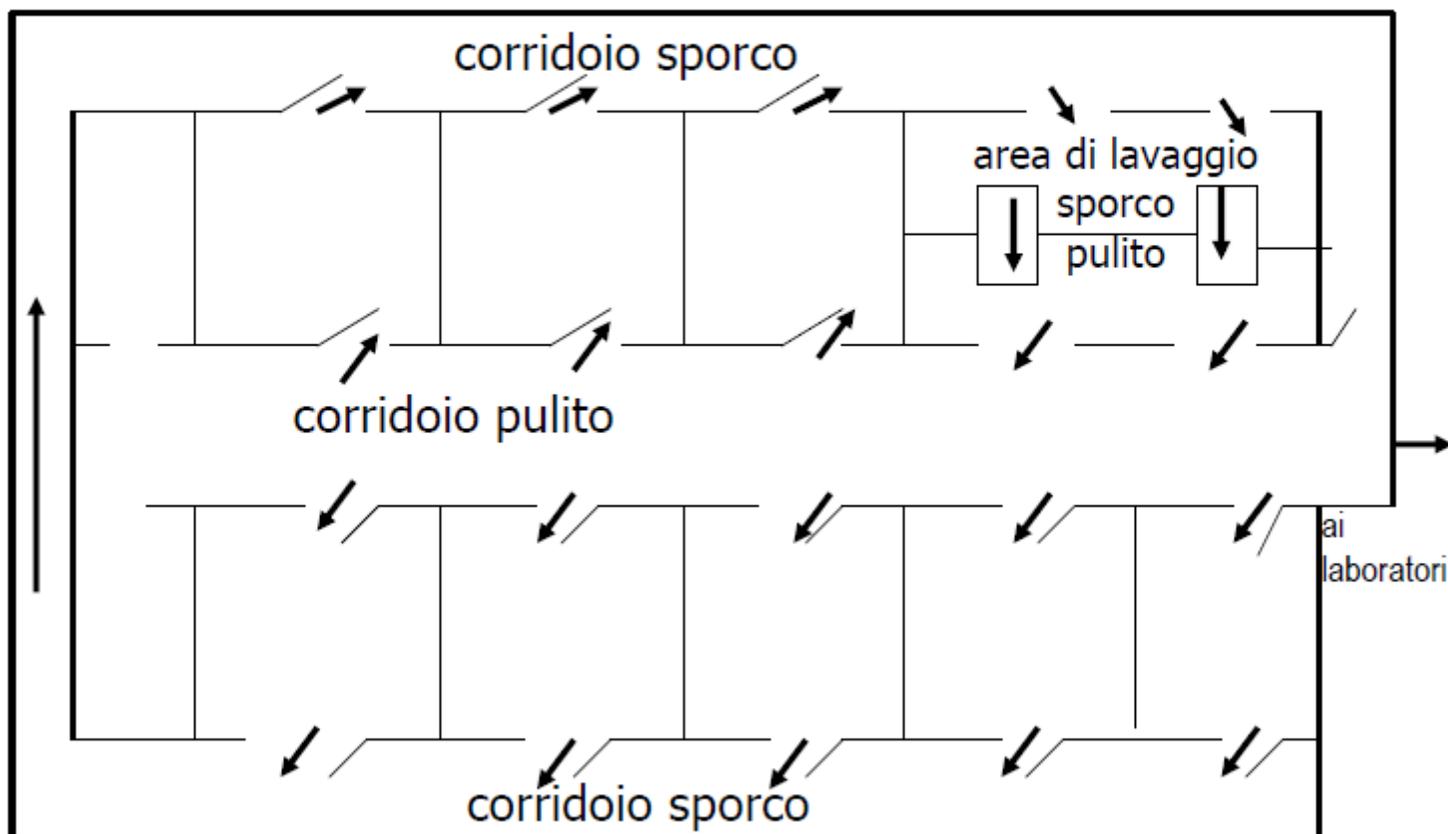
# Stabulario convenzionale: ingresso del personale e dei materiali

- 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](http://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

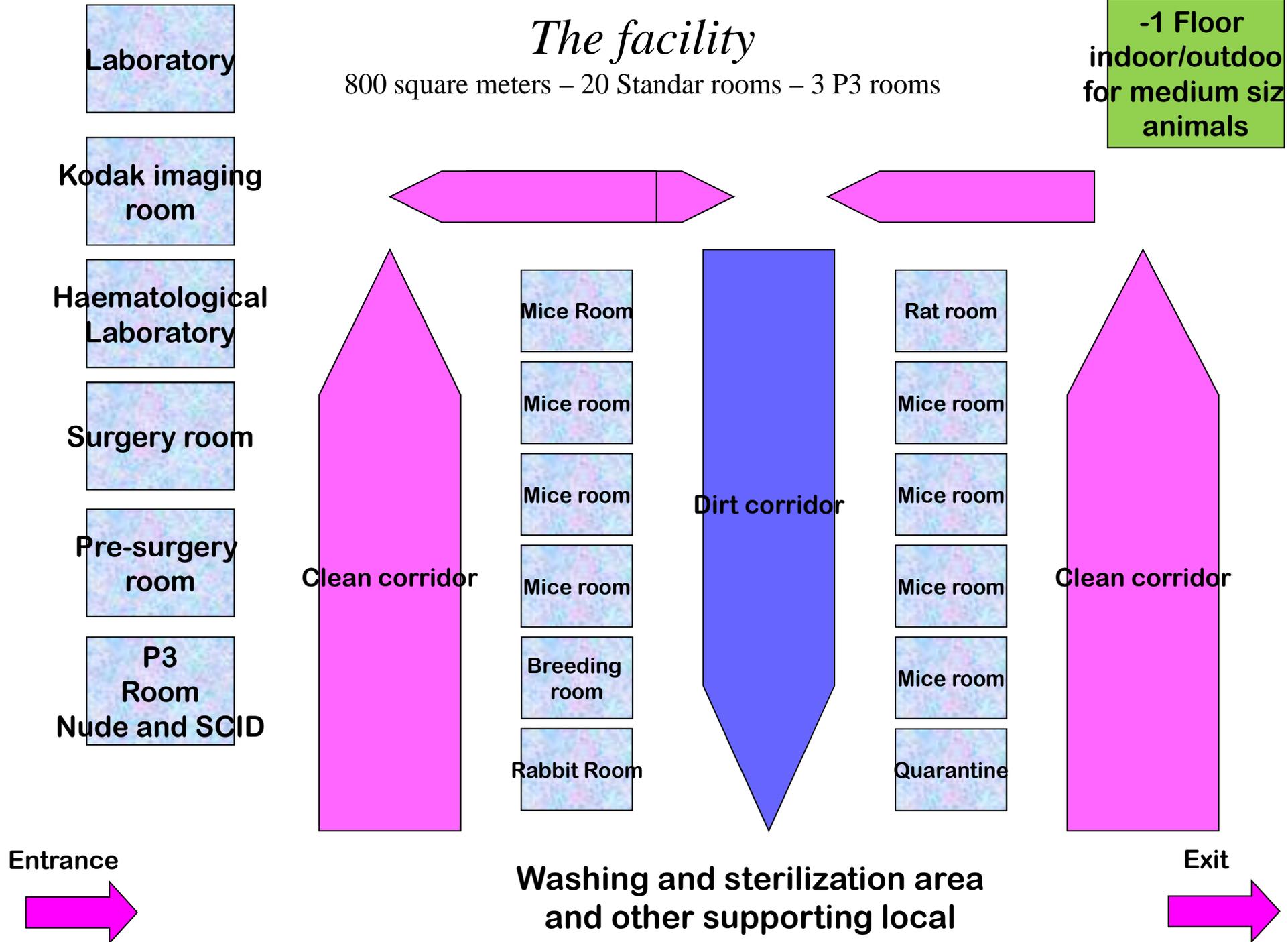
Services:

- ✚ 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

# The facility

800 square meters – 20 Standar rooms – 3 P3 rooms

-1 Floor  
indoor/outdoor  
for medium size  
animals



# *Gli Animali*



Dott.ssa Roberta Bernardini

# 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
- lettiere
- densità della popolazione e limitazioni di spazio

## **TEMPERATURA OTTIMALE NEI LOCALI DI STABULAZIONE per alcune specie di laboratorio**

20-28 °C

Primati del  
Nuovo  
mondo

20-24 °C

Topo  
Ratto  
Criceto  
Gerbillo  
Cavia  
Primati del  
Vecchio  
mondo

15-21 °C

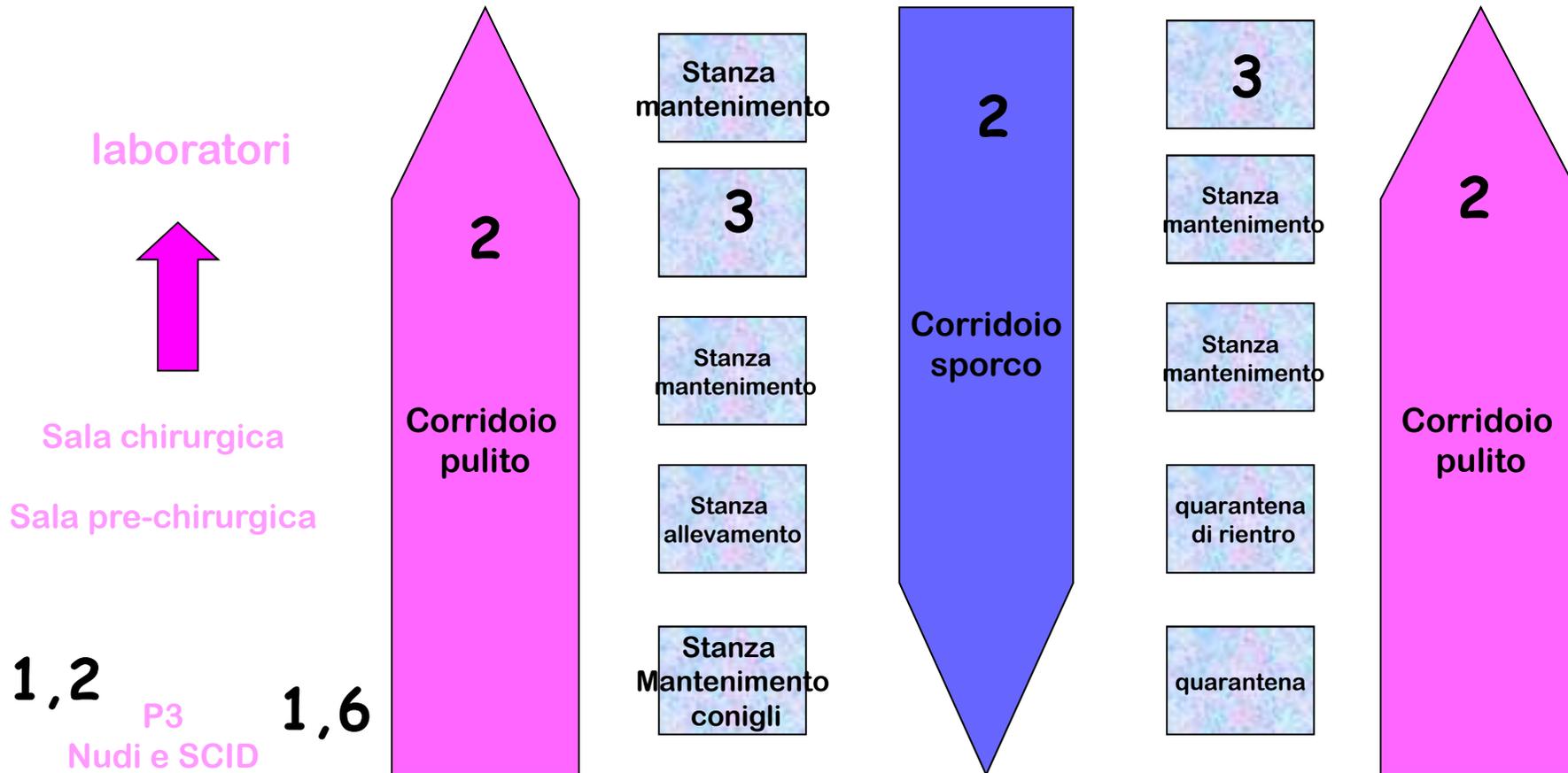
Coniglio  
Gatto  
Cane

10-24 °C

Maiale

# Pressioni

Pressione esterna  
= 1



Area di lavaggio e sterilizzazione  
ed altri locali di supporto

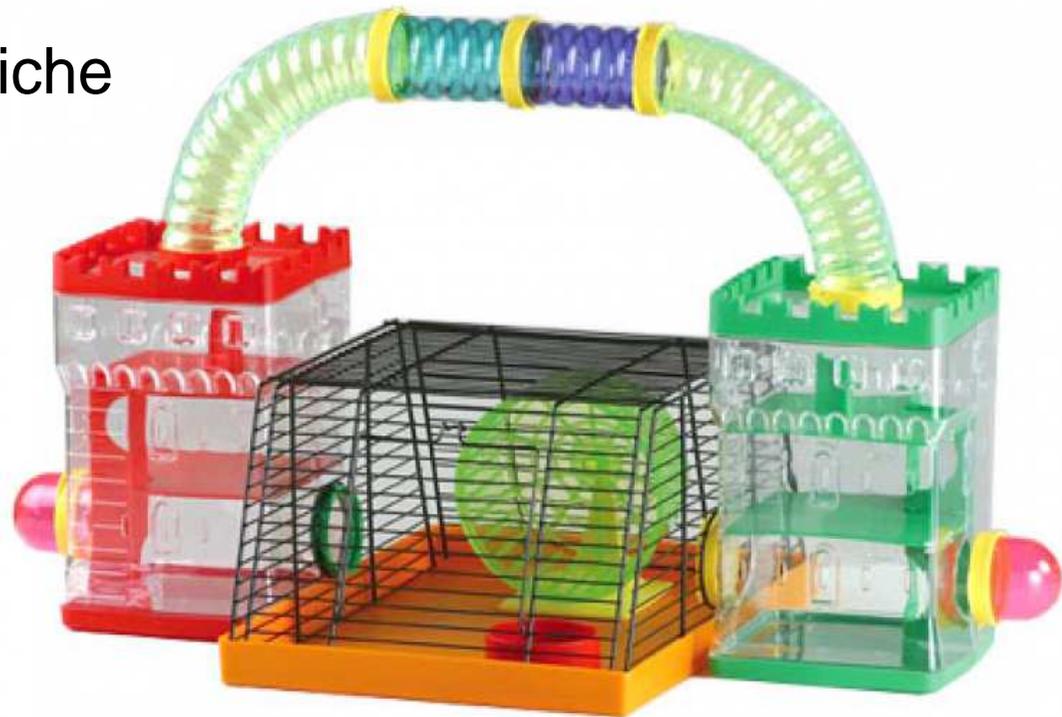
## Fattori che possono influenzare il risultato sperimentale

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 <sup>2</sup> )	Spazio al suolo per animale (cm <sup>2</sup> )	Altezza minima dell'alloggiamento (cm)	Data di cui all'articolo 22, comma 1
In riserva e durante le procedure	fino a 20	330	60	12	1° gennaio 2017
	> 20 fino a 25	330	70	12	
	> 25 fino a 30	330	80	12	
	oltre 30	330	100	12	
Riproduzione		330 Per una coppia monogama (non consanguinei/consanguinei) o un trio (consanguinei). Per ogni ulteriore femmina e figliata aggiungere 180 cm <sup>2</sup>		12	
Riserva presso gli allevatori* Dimensione alloggiamento 950 cm <sup>2</sup>	inferiore a 20	950	40	12	
Dimensione alloggiamento 1 500 cm <sup>2</sup>	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, morbilità 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 <sup>2</sup> )	Spazio al suolo per animale (cm <sup>2</sup> )	Altezza minima dell'alloggiamento (cm)	Data di cui all'articolo 22, comma 1
In riserva e durante le procedure*	fino a 200	800	200	18	1° gennaio 2017
	> 200 fino a 300	800	250	18	
	> 300 fino a 400	800	350	18	
	> 400 fino a 600	800	450	18	
	oltre 600	1 500	600	18	
Riproduzione		800 Madre e figliata. Per ciascun animale adulto aggiunto all'alloggiamento in via permanente aggiungere 400 cm <sup>2</sup>		18	
Riserva presso gli allevatori** Dimensione alloggiamento 1.500 cm <sup>2</sup>	fino a 50	1 500	100	18	
	> 50 fino a 100	1 500	125	18	
	> 100 fino a 150	1 500	150	18	
	> 150 fino a 200	1 500	175	18	
Riserva presso gli allevatori** Dimensione alloggiamento 2.500 cm <sup>2</sup>	fino a 100	2 500	100	18	
	> 100 fino a 150	2 500	125	18	
	> 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, morbilità 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 <sup>2</sup> )	Spazio minimo al suolo per animale (cm <sup>2</sup> )	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	



## GLI ANIMALI CHE ESCONO NON POSSONO RIENTRARE



# Importante

## Cartellino:

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

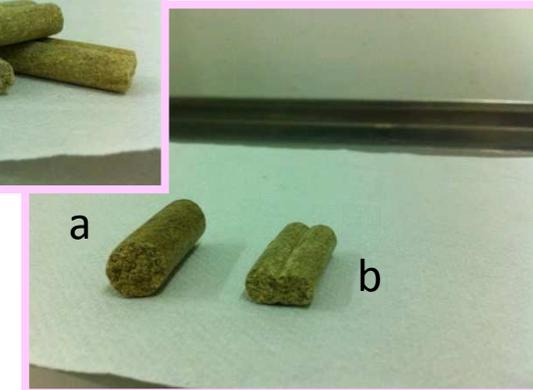
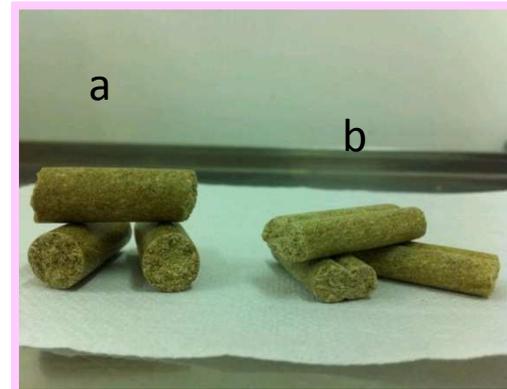
 <b>TOR VERGATA</b> UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI ROMA		Lotto <u>CA-203</u>
		N° Prot. <u>205/2020</u>
N°-Genere-Ceppo <u>4 ♀♀ CD1</u>		
Data Nascita/Arrivo <u>01/01/2020</u>		
Resp. Prog. Ricerca <u>MATEI</u>	Resp. Esec. Esperim. <u>BERNARDINI</u>	
Note <hr/>		

# Importante

- Mangime (Quale usare? Quanto?)

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

**Mangime irradiato**

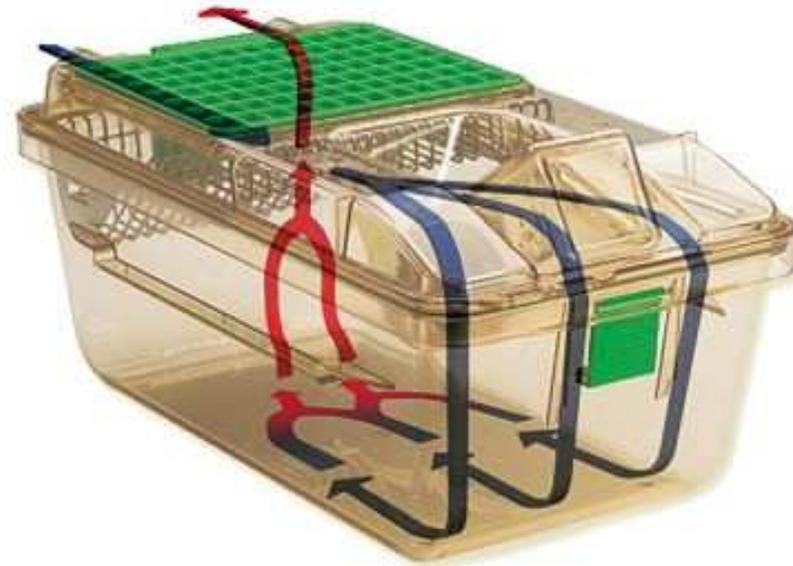


## Importante

- Biberon (pieno e raggiungibile)
- Griglia chiusa
- Arricchimento ambientale
- Accoppiamento (estro nelle 24 ore successive al parto)
- Cannibalismo nelle primipare
- Svezzamento (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

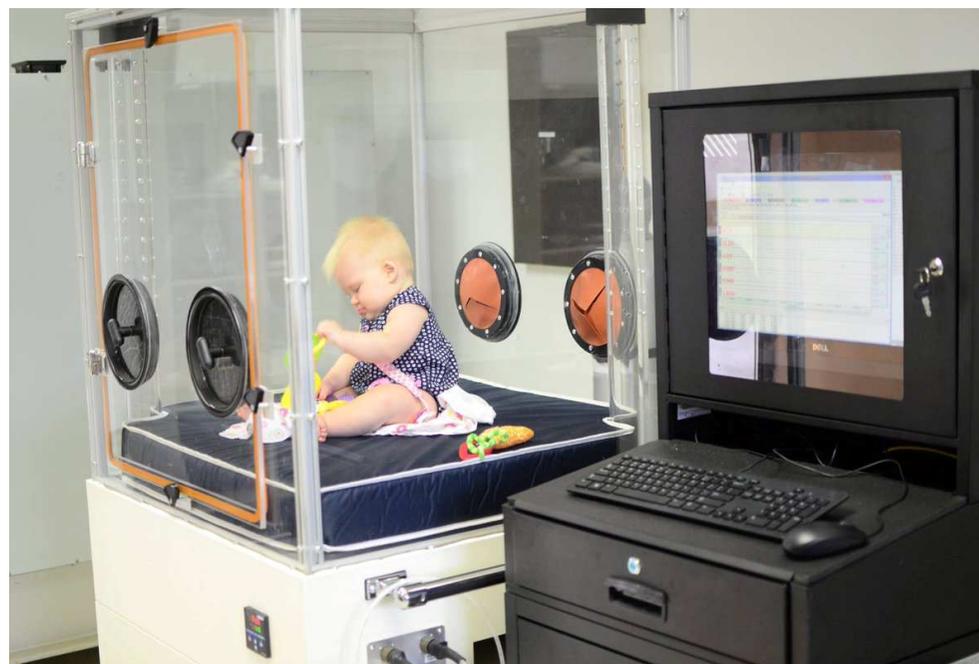
- Le gabbie sono in pressione negativa o positiva
- Si evita la cross-contamination tra gabbie
- Nelle gabbie viene immessa aria "sterile" (hepa filter 99,99 d.O.P.)
- Si evita l'espulsione di allergeni in ambiente (hepa filter 99,99 D.O.P.)
- La stanza rimane in condizioni di pulizia
- Riduzione costi 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

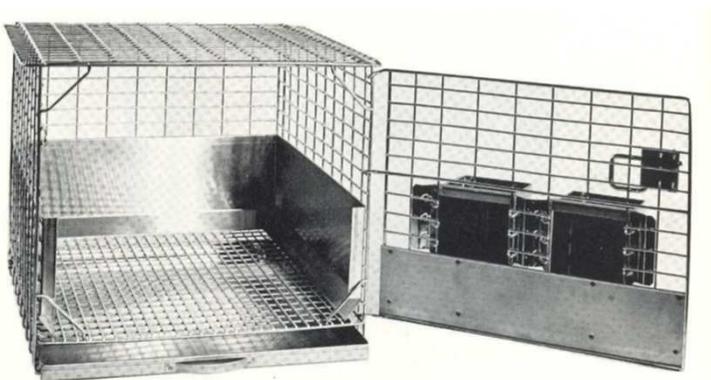
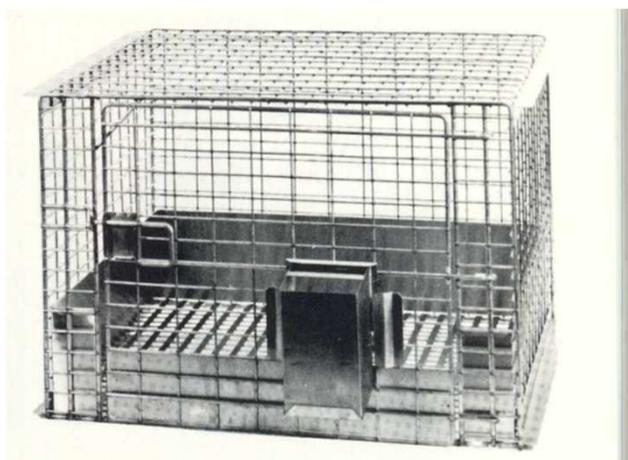






# Gabbie per conigli

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 svezamento)
- 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!!***

