



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

???



Sperimentazione animale

Roma 5 maggio 2021

Paola De Santis e-mail: paola.desantis@izslt.it

Istituto Zooprofilattico Sperimentale Lazio e Toscana "M. Aleandri"

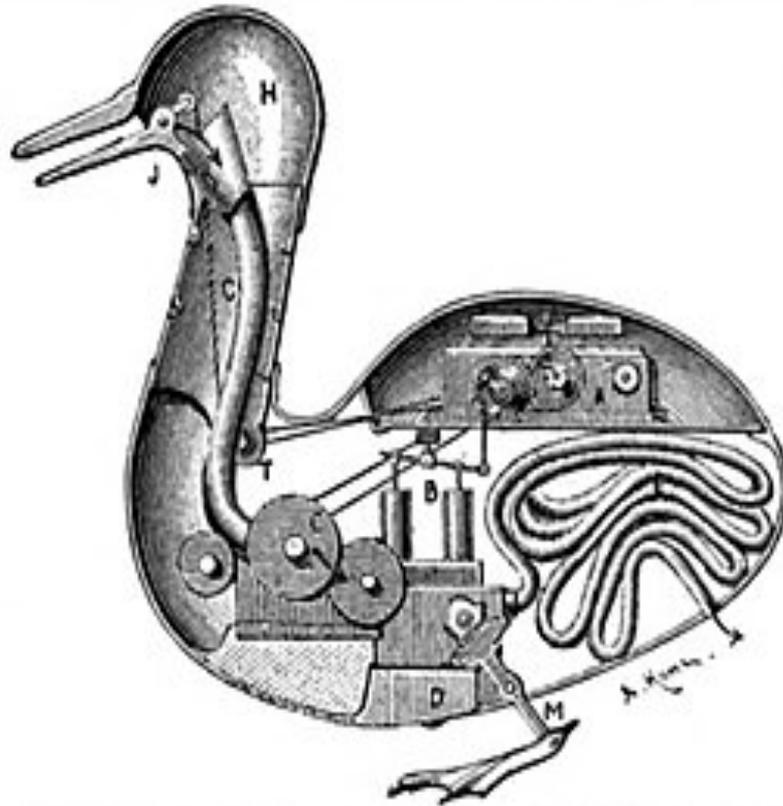


.....argomenti del giorno

- Evoluzione nel tempo del rapporto dell'uomo con gli animali
- Aspetti etici
- Concetto di animale senziente e di benessere
- Aspetti legati al benessere:
 - La normativa e le «3R» nella sperimentazione animale
 - Comportamento dei roditori e sperimentazione
 - Stress e implicazioni sulla salute
- Benessere sanitario della colonia di roditori
- Alcune zoonosi trasmesse da roditori



..da macchina a essere senziente



INTERIOR OF VAUCANSON'S AUTOMATIC DUCK.

A, clockwork; *B*, pump; *C*, mill for grinding grain; *E*, intestinal tube;
J, bill; *H*, head; *M*, feet.

Cartesio (1596-1650)

Nel *Discorso sul metodo*, Cartesio argomenta sulla natura degli animali.

Rispetto agli esseri umani gli animali sono una pura e semplice macchina: una realtà corporea priva di ogni sensibilità.

Solo l'uomo, è *res cogitans*, cioè capace di pensiero.



Cartesio (1596-1650)



Cartesio a Stoccolma



Monsieur Grat



Verso la fine della sua vita Cartesio incontra Monsieur Grat, un cane randagio che gli insegnò la lezione

Troppo tardi! Il danno era già fatto



Dal 1974 l'apparato normativo europeo, relativo al benessere animale si è ampliato sempre di più tra Convenzioni, Direttive e Regolamenti

1978

«Dichiarazione dei **diritti** degli animali»
(Bruxelles e Parigi)

1997

«Protocollo sulla protezione e il **benessere** degli animali»
(Trattato di Amsterdam)

2009

«Riconoscimento degli animali come **esseri senzienti**»
(Trattato di Lisbona)

Direttiva 2010/63 UE

(Emendata Regolamento EU 2019/1010)

Protezione degli animali utilizzati a fini scientifici



Animale come essere senziente

Capacità di un animale di **provare/sperimentare** stati affettivi positivi e negativi, emozioni e altri sentimenti come fame, sete e dolore.

Gli animali senzienti **scelgono** di cercare esperienze positive ed evitare esperienze negative.

Gli animali senzienti sono **consapevoli** del dolore, dell'angoscia e dei sentimenti piacevoli.

Il riconoscimento degli animali quali esseri senzienti, si basa su **rilevazioni** scientifiche prima di essere, in Europa, uno status **giuridico** degli animali



...la scienza dalla parte dell'animale

A livello legale, il riconoscimento scientifico della senzienza animale, va al di là della semplice

protezione degli animali dal dolore o dalla sofferenza

bensì

promuove il benessere positivo e non solo la salvaguardia da uno scarso benessere.



Etica animale

L'etica riguarda le azioni degli esseri umani e i valori che guidano tali azioni

- Etica animale: riguardante le relazioni uomo-animale.

Linee guida WSAVA sul benessere degli animali 2018

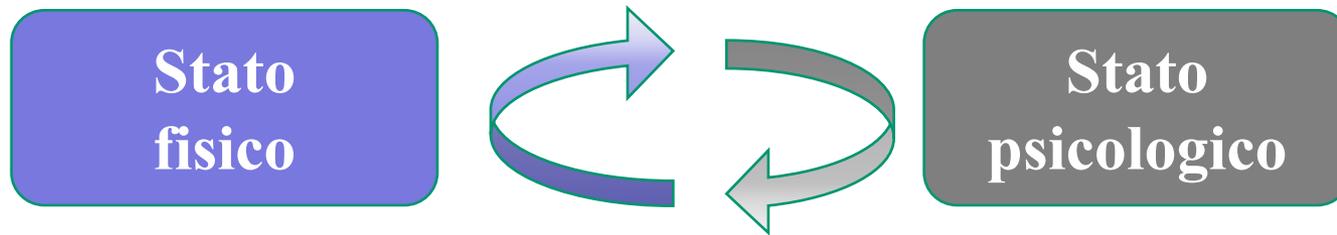


Etica animale: uno studio filosofico

- perché gli animali sono moralmente importanti
- come dovremmo trattare e prenderci cura degli animali
- cosa è giusto o sbagliato nel nostro trattamento degli animali.



Il benessere animale riguarda le esperienze



Dal punto di vista etico, sono state individuate alcune domande:

- 1) Qual è lo standard di base per il benessere degli animali moralmente accettabile?
- 2) Cos'è una buona vita animale?
- 3) Quali scopi di allevamento sono legittimi?
- 4) Che tipo di compromessi sono accettabili in un mondo tutt'altro che perfetto?





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

.....dal punto di vista scientifico

Non c'è buona scienza senza un buon livello di benessere
per gli animali utilizzati a fini scientifici



...dal punto di vista **etico**

Gli **animali** hanno il diritto di essere sollevati dal dolore e dall'angoscia ogni volta che questi possono essere prevenuti.

Coloro che usano gli animali nella ricerca hanno la responsabilità di trattarli umanamente.





[The-ethics-of-research-involving-animals-full-report.pdf](#)



Decreto legislativo 4 marzo 2014 n°26

(attuazione della Direttiva 2010/63/EU)

Si applica:

- animali utilizzati o destinati a essere utilizzati in procedure
- allevati specificamente in modo che i loro organi o tessuti possano essere utilizzati a fini scientifici
- fino a quando gli animali non vengono reinseriti o riportati in un habitat o sistema di allevamento idonei.



Decreto legislativo 4 marzo 2014 n°26

(attuazione della Direttiva 2010/63/EU)

Si applica:

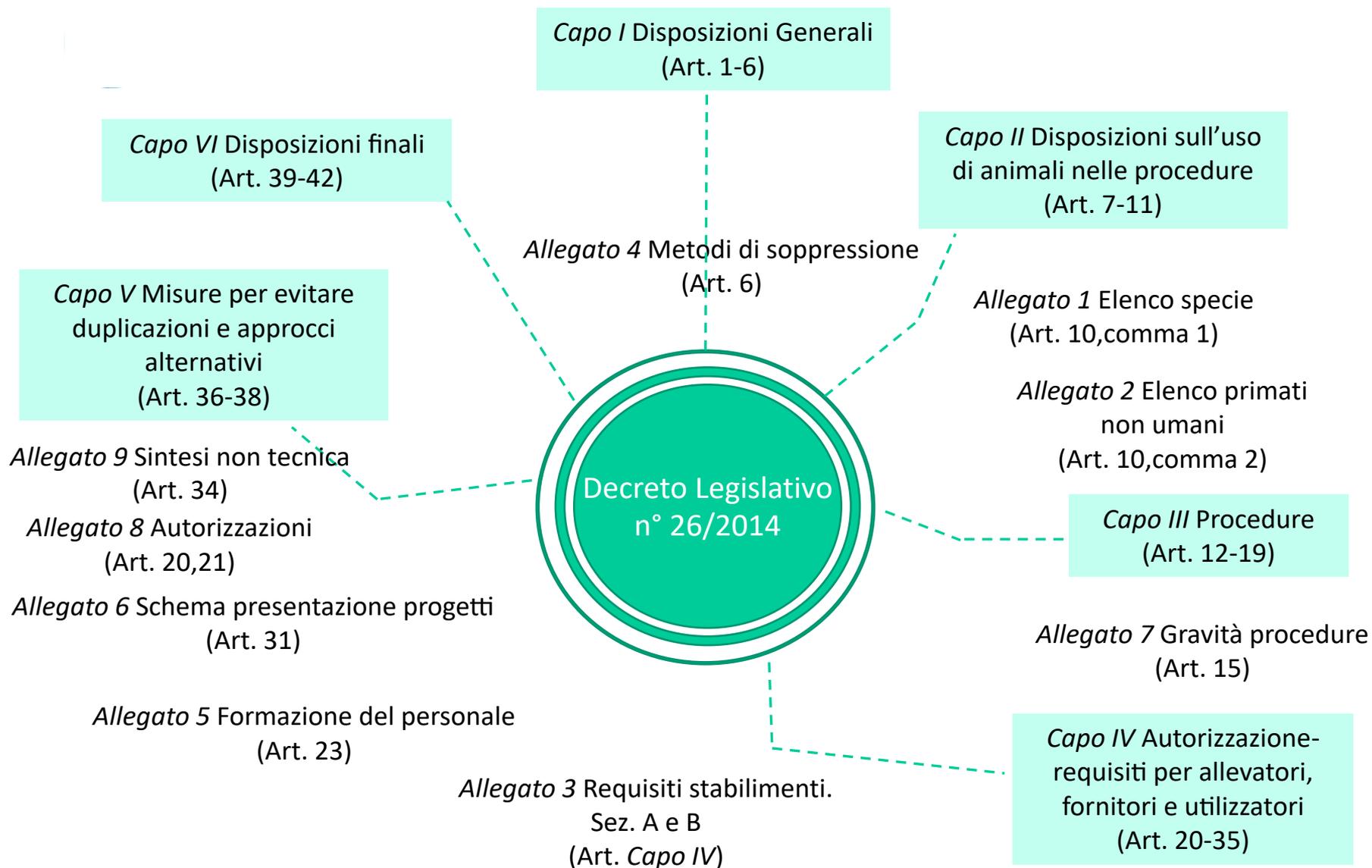
a) animali vertebrati vivi non umani, compresi:

- Forme larvali ad alimentazione autonoma
- Forme fetali di mammiferi a partire dall'ultimo terzo del loro normale sviluppo

b) cefalopodi vivi

Si applica anche agli animali utilizzati nelle procedure, che si trovano in una fase di sviluppo precedente all'ultimo terzo, se si intende consentire all'animale di vivere oltre tale fase pertanto si prevede d'infliggere dolore e sofferenza.





Principio delle «3R»

The Principles of Humane Experimental Technique

Russell & Burch 1959

Replacement (sostituzione)

Reduction (riduzione)

Refinement (perfezionamento)

Forniscono una struttura «**più umana**» per eseguire ricerche sugli animali



«3R» e umanità - disumanità

Umanità = assenza di disumanità

Disumanità equivale alla sofferenza

Fulcro delle 3R consiste nell'eliminazione o nella minimizzazione di esperienze di sofferenza intensa vissute dagli animali da laboratorio



Sofferenza: categorie

Dolore

Paura

Ansia (paura dalla quale non si può fuggire)

Frustrazione in relazione a un bisogno:

- Fame
- Sete
- Disagio fisico

Tutte le forme di **sensazione** di notevole **disagio** si qualificano come sofferenza, per la cui diminuzione e ove possibile eliminazione, sono adottate le «3R»



... affermano Russel & Burch

“perlomeno nei mammiferi, è possibile postulare un'apposita polarizzazione lineare di stati comportamentali lungo uno spettro che va da una condizione di completo benessere a una di sofferenza acuta”

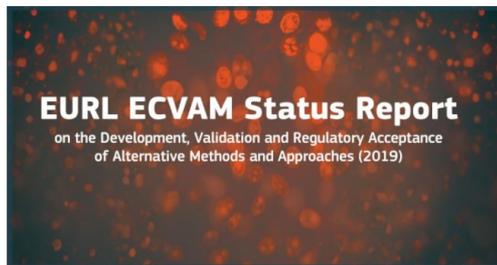
Definizione della gravità delle procedure



Replacement: i metodi alternativi

Replacement: sostituzione di animali superiori vivi e coscienti con materiale non senziente

Centro di Referenza Nazionale per i Metodi Alternativi
Benessere e Cura degli Animali da Laboratorio
IZS Lombardia ed Emilia Romagna



EU Reference Laboratory for alternatives to animal testing (ECVAM) JRC, Ispra Italy





	Document type	Title					
	Method summary	In vitro approaches for testing neurotoxicity through voltage-sensitive sodium channels - Summary	0	Neurotoxicity	Animal Origin Cell Lines Human Origin Primary Cell Culture	Cell function: membrane depolarisation Cell viability Ion channel function, sodium Ion channel function, toxin binding sites Ion flux through ligand-gated channels Spontaneous contractility of myotubes	Brain areas (rat, mice, chick or humans)

<http://cidportal.jrc.ec.europa.eu/ftp/jrc-opendata/EURL-ECVAM/datasets/DBALM/LATEST/online/dbalm.html>



Reduction: i metodi alternativi

Reduction: **riduzione** del numero di animali utilizzati per ottenere informazioni di quantità e precisione definite

Accurato calcolo della numerosità campionaria

La **potenza statistica** di un esperimento è la probabilità che si possa rilevare un effetto del trattamento, se presente.

[Sample Size Calculator - EpiCentro – ISS; GPower software](#)



Refinement: i metodi alternativi

Refinement: **perfezionamento** per la diminuzione dell'incidenza o della gravità delle procedure disumane applicate agli animali che devono comunque essere utilizzati

«benessere e il comfort favoriscono l'uniformità dei dati e l'uso di un minor numero di animali, poiché eliminano gli “effetti di disturbo” della sofferenza, persino di quella lieve»



Perfezionamento

Applicabile in molte fasi della sperimentazione:

- selezione di modelli animali idonei
- programmi di monitoraggio della salute
- condizioni abitative e ambientali
- trasporto di animali
- procedure di manipolazione, contenimento e dosaggio
- disegno sperimentale e scelta dei metodi
- protocolli anestetici e analgesici
- definizione di endpoint umano
- eutanasia



Useful Links

Accreditation of Laboratory Animal Care International (AAALAC) - www.aaalac.org

Alternatives Approaches to Animal Testing (EPAA) - www.ec.europa.eu/growth/sectors/chemicals/epaa_en

European Centre for the Validation of Alternative Methods (ECVAM) – www.eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu

European Commission - www.ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/home_en.htm

Federation of Laboratory Animal Science Associations (FELASA) - www.felasa.eu

Innovative Medicines Initiative (IMI) - www.imi.europa.eu

Institute for Laboratory Animal Research (ILAR) - www.dels.nas.edu/ilar

National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research (NC3Rs) - www.nc3rs.org.uk

3R Foundation - www.forschung3r.ch





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

https://issuu.com/ratrescueitalia/docs/1_rivista_rat_rescue_



Comportamento

Il comportamento determina la capacità di un animale di sopravvivere, svilupparsi e riprodursi in interazione con il suo ambiente (esterno o interno)



Ratto... comportamento

FORTE MOTIVAZIONE A SCAVARE GALLERIE

Abitudini notturne/crepuscolari

Esplorativi: elevazione sulle zampe posteriori

Larghi gruppi sociali

Tane: maschio dominante, femmine e maschi giovani

Comunicazione:

- segnali >20 kHz (22kHz allarme, 50kHz positivo)
- Ferormoni



Ratto.....comportamento



Berdoy M (2002). The Laboratory Rat: A Natural History. Film (27 mins)



Topo... comportamento

FORTE MOTIVAZIONE ALLA COSTRUZIONE DEL NIDO

Notturni

Molto attivi

Fortemente territoriali

Gruppi sociali ben definiti: maschio dominante, femmine e maschi subordinati

Comunicazione: segnali >20 kHz



Housing e arricchimento

A tutti gli animali deve essere fornito uno spazio sufficiente di adeguata complessità per consentire l'espressione di un'ampia gamma di comportamenti normali.

Controllo e scelta sul loro ambiente: arricchimento

[COMMISSION RECOMMENDATION of 18 June 2007 on guidelines for the accommodation and care of animals used for experimental and other scientific purposes.](#)



Animals used for scientific purposes



https://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/pubs_guidance_en.htm



STRESS

EUSTRESS

Term coined by endocrinologist Hans Selye, consisting of the Greek prefix eu- meaning "good", and stress, literally meaning "good stress".

Examples:
exposure to an enrichment environment,
social interaction.

DISTRESS

A state of extreme sorrow,
suffering, or pain.

Examples:
water and/or food deprivation,
social isolation, cold exposure.



Regolazione del comportamento

Il comportamento di ratti e topi si esprime attraverso l'attività muscolare che, a sua volta, è regolata dalle cellule nervose motorie (neuroni)

Il sistema nervoso autonomo (simpatico, parasimpatico), agendo direttamente sui muscoli lisci e cardiaci, prepara l'animale a “combattere” (anche scappando), o ad “arrendersi”.



Regolazione del comportamento

I messaggi che determinano il tipo di attività muscolare (contrazione o rilassamento) **provengono** dal sistema nervoso centrale o autonomo e dipendono dagli input a questi sistemi.

Tre tipi di messaggeri intercellulari sono implicati nella regolazione del comportamento: **neurotrasmettitori**, **neurormoni** e **ormoni**.



Omeostasi e comportamento

Il **feedback** negativo e positivo dalle ghiandole endocrine al cervello e all'ipofisi si traduce nel **coordinamento** dei sistemi neuroendocrini.

Alcuni peptidi di origine neuronale (**endorfine**, ecc.) svolgono un ruolo importante nel motivare gli animali a cercare soddisfazione.

I **corticosteroidi**, rilasciati dalle ghiandole surrenali in condizioni di stress, influenzano notevolmente il sistema nervoso autonomo e centrale.



Regolazione del comportamento

La **coscienza** modula il comportamento sotto la guida della memoria e della volontà per evitare il pericolo, cercare cibo e soddisfazione.





Controlli sanitari e zoonosi

<i>Virus</i>	<i>Zoonosi</i>	<i>FELASA</i>	<i>Ospite</i>
Norovirus	no	trimestrale	Topo
Mouse hepatitis Coronavirus	no	trimestrale	
Mouse Rotavirus	no	trimestrale	
Parvovirus:			
Mouse Minute Parvovirus	no	trimestrale	
H-1 Parvovirus	no	trimestrale	
Theiler's murine encephalomyelitis Picornavirus	no	trimestrale	
Adenovirus type 1 e 2	no	trimestrale	
Lymphocytic choriomeningitis Arenavirus	si	annuale	
Ectromelia orthopoxvirus	no	annuale	
Reovirus-3	no	annuale	
Sendai Paramyxovirus	no	annuale	
Lactate dehydrogenase-elevating Arterivirus	no	opzionale	
Herpesvirus:			
Mouse Thymic virus	no	opzionale	
Mouse cytomegalovirus	no	opzionale	
Polyomavirus (mouse polyomavirus, K virus)	no	opzionale	
Hantavirus (Seoul serotype)	si	opzionale	

Topo



Ratto



Parvovirus:			Ratto
Kilham rat virus	no	trimestrale	
Rat Minute virus	no	trimestrale	
Rat parvovirus	no	trimestrale	
Toolan's H-1 virus	no	trimestrale	
Pneumonia virus	no	trimestrale	
Sialodacryoadenitis Coronavirus	no	trimestrale	
Rat theilovirus Picornavirus	no	trimestrale	
Rat Coronavirus/Sialodacryoadenitis virus	no	trimestrale	
Hantavirus (Seoul serotype)	si	annuale	
Adenovirus type 1 e 2	no	annuale	
Reovirus-3	no	annuale	
Sendai Paramyxovirus	no	annuale	

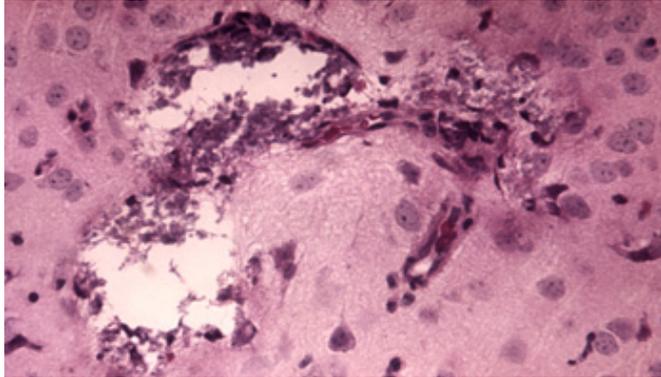


Batteri, funghi e parassiti

<i>Batteri e funghi</i>	<i>Zoonosi</i>	<i>FELASA</i>	<i>OSPITE</i>
Helicobacter spp	si	trimestrale	<i>Mus musculus</i>
Pasterurella pneumotropica	si	trimestrale	
Sterptococchi beta-emolitici (non D)	si	trimestrale	
Streptococcus pneumoniae	si	trimestrale	
Citrobacter rodentium	si	annuale	
Clostridium piliforme	?	annuale	
Corynebacterium kutscheri	no	annuale	
Mycoplasma pulmonis	no	annuale	
Salmonella spp.	si	annuale	
Stereptobacillus moniliformis	si	annuale	
Dermatofiti	si	trimestrale	
Helicobacter spp	si	trimestrale	<i>Rattus norvegicus</i>
Clostridium piliforme	?	trimestrale	
Mycoplasma pulmonis	no	trimestrale	
Pasterurella pneumotropica	si	trimestrale	
Sterptococchi beta-emolitici (non D)	si	trimestrale	
Cilia-associated respiratory bacillus	no	trimestrale	
Streptococcus pneumoniae	si	trimestrale	
Pneumocystis spp.	si	trimestrale	
<i>Parassiti</i>	<i>Zoonosi</i>	<i>FELASA</i>	<i>OSPITE</i>
Endo ed ectoparassiti	si	trimestrale	



Coriomeningite linfocitaria (LCMV)



Arenavirus envelope genoma RNA

Sintomi negli animali: minimi o inapparenti

Sintomi nell'uomo:

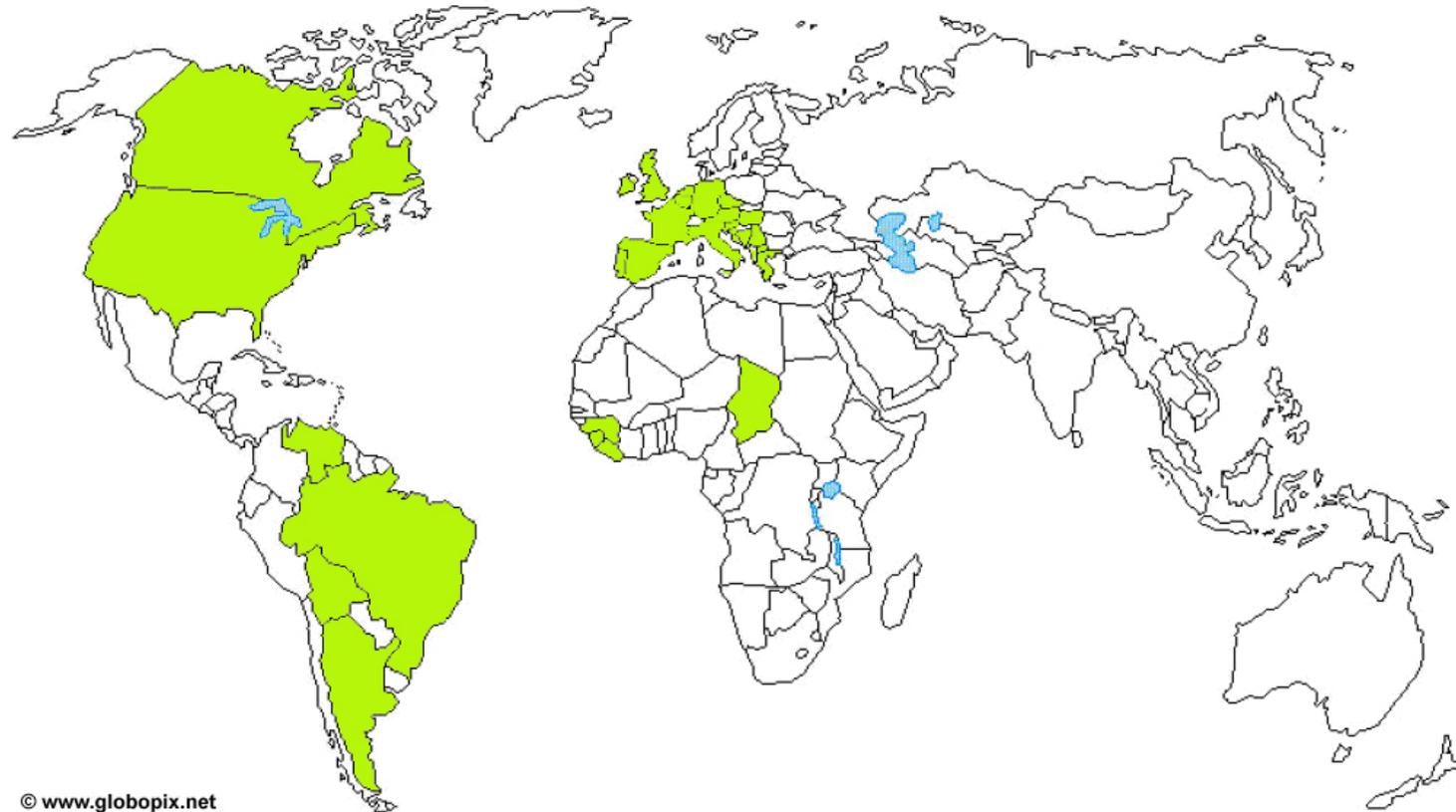
Forma simil-influenzale, febbri emorragiche o meningite, in gravidanza lesioni teratogene.

Tra i roditori il topo è il portatore più diffuso (cavia, gatto e scimmia)

Trasmissione – diretta da feci e urine; o indiretta da escreti secchi o per inalazione

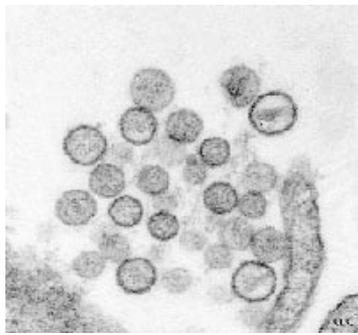


Coriomeningite linfocitaria: distribuzione



© www.globopix.net





Hantavirus pulmonary syndrome (HPS)

Hantavirus, genoma RNA. Famiglia Bunyaviridae.

Sintomi negli animali: minimi o inapparenti
Serbatoi: roditori selvatici *Peromyscus* (deer mouse)
e *Microtus* nelle Americhe.



Trasmissione: Inalazione del virus mediante polverizzazione delle feci e urine in locali infestati da roditori.

Il morso può trasmettere la malattia.

Non sono riportati casi di trasmissione uomo-uomo.



Marked interstitial edema with hilar indistinctness, in HPS
Image courtesy D. Loren Ketaj, M.D. fonte CDC

Mortalità elevata nonostante i trattamenti sintomatici (36%)

Fonte: CDC (Centers for Disease Control and Prevention) <http://www.cdc.gov/hantavirus/>



Malattie da morso di ratto



Tempio Karni Mata (o Tempio dei topi) in onore alla dea Durga. India Rajasthan, villaggio di Deshnoke



- **Malattia di Haverhill** (Massachusetts) o febbre da morso di ratto
La maggior parte dei casi in America è causata da *Streptobacillus moniliformis*
- **Sodoku** Forma asiatica causata da *Spirillum minus*. Asia ed Est asiatico.

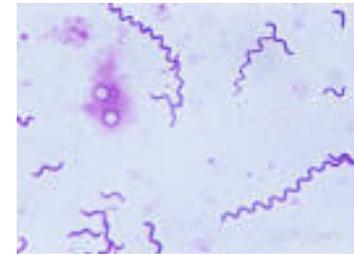


Malattie da morso di ratto: distribuzione

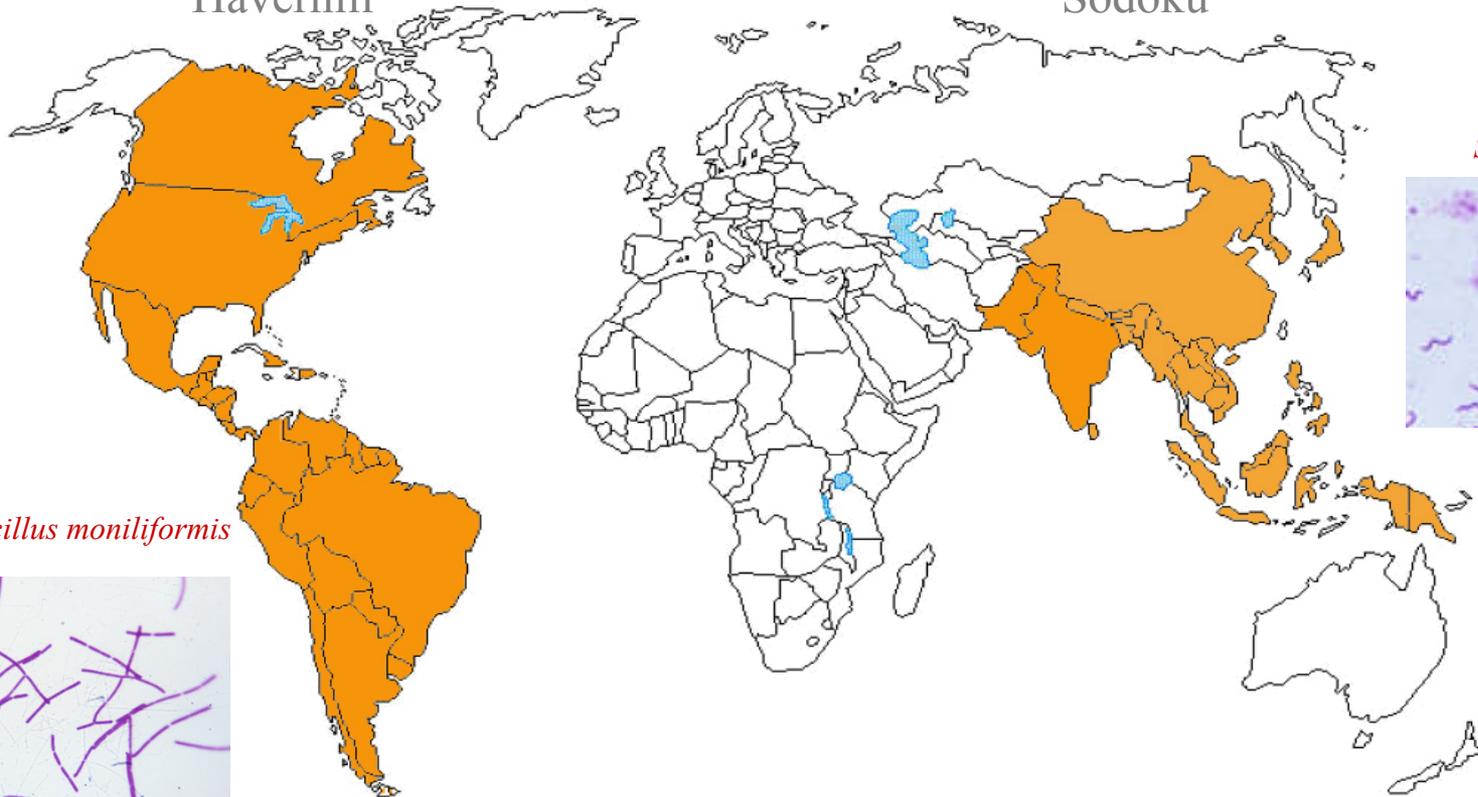
Haverhill

Sodoku

Spirillum minus



Streptobacillus moniliformis



Sodoku

Spirillum minus

Malattia nell'uomo la ferita nella sede di morsicatura inizialmente guarisce, successivamente a distanza di 15-20 giorni si fa edematosa e dolente e si ulcera, con la formazione di un'escara. Linfadenopatia satellite. Successivamente la malattia diventa febbrile e sistemica. Artralgie e le mialgie, esteso esantema.



Grazie!

