



UNIVERSITÀ DI PISA

Corso di formazione

**“PROTEZIONE DEGLI ANIMALI IMPIEGATI NELLA
RICERCA:**

ASPETTI SCIENTIFICI, ETICI E APPLICATIVI”

8 - 15 - 22 Ottobre 2019

Aula Magna Storica, Palazzo della Sapienza, Pisa

**Gestione della salute delle specie
animali utilizzate a fini scientifici.**

Dott. Alberto Sbrana

Salute degli animali

- Un animale **sano** è in possesso di specifiche condizioni funzionali e strutturali che gli permettono di mantenersi stabilmente in equilibrio con l' ambiente esterno.**(omeostasi)**
Ogni modificazione della struttura degli organi o nella composizione dei fluidi che porta a una alterazione delle loro normali funzioni organiche sfocia nella **malattia**
-

Art.3 Dlg 26/2014

- c) **stabilimento**, qualsiasi impianto, edificio, gruppo di edifici o altri locali in cui sono **allevati**, sono **tenuti** o sono **utilizzati** animali alle finalità del presente decreto; esso può comprendere anche un luogo non completamente chiuso o coperto e strutture mobili; d) **allevatore**, la persona fisica o giuridica autorizzata ad allevare gli animali di cui all'allegato I destinati ad essere utilizzati nelle procedure o per impiegare i loro organi o tessuti ai fini scientifici o ad allevare altri animali principalmente per tali fini, con o senza scopo di lucro;
- e) **fornitore**, la persona fisica o giuridica, diversa dall'allevatore, autorizzata a fornire animali di cui all'allegato I e destinati ad essere utilizzati nelle procedure o per impiegare i loro organi o tessuti a fini scientifici, con o senza scopo di lucro;
- f) **utilizzatore**, la persona fisica o giuridica autorizzata a porre in esercizio uno stabilimento in cui vengono eseguite le procedure, con o senza scopo di lucro;

Allegato III

- Requisiti per gli stabilimenti e per la cura e la sistemazione degli animali
 - La ricezione degli animali
 - Micro e macro ambiente
 - Tecniche di manipolazione e contenimento
 - Gli arricchimenti
 - Osservazione degli animali
-

trasporto

- Norme e campi di applicazione
 - **Reg. 1/2005** Campo di applicazione . Il presente regolamento si applica al trasporto di **animali vertebrati vivi** all'interno della Comunità, compresi i controlli specifici che i funzionari competenti devono effettuare sulle partite che entrano nel territorio doganale della Comunità o che ne escono .
articolo 5. Il presente regolamento non si applica al trasporto di animali che non sia in relazione con un'attività economica e al trasporto di animali direttamente verso cliniche o ambulatori veterinari, o in provenienza dagli stessi, in base al parere di un veterinario.
-

trasporto

- A tal proposito bisogna evidenziare che l'**attività** di sperimentazione non sempre rientra tra quelle economiche, essendo però ricompresa, tra queste ultime, **l'attività di fornitura di animali per l'attività sperimentale**. Pertanto, si ritiene che il Regolamento **1/2005/CE** si applichi esclusivamente ai trasporti degli animali da impiegare nella sperimentazione tra fornitori o allevatori ed utilizzatori. In questi casi **le condizioni di cui all'art. 4 del Regolamento CE 1/2005 saranno soddisfatte mediante la compilazione del modello IV.**
- Nel caso, invece, di trasporto di animali **tra stabilimenti utilizzatori**, trattandosi di **scambi con finalità scientifiche** è sufficiente **un'autodichiarazione che attesti sia il carattere non commerciale del trasporto**, sia che lo stesso venga effettuato **utilizzando mezzi e personale propri dell'ente di ricerca**

Norme e linee guida internazionali

- Reg. 1/2005
 - Convenzione europea per la protezione degli animali durante il trasporto
 - Live animal regulation (International Air Transport Association IATA)
 - Permessi CITES per Primati non umani
 - Allo studio un **passaporto europeo per roditori GM**
-

trasporto

- Salute e benessere degli animali, compresa la loro **idoneità a viaggiare**; (esito favorevole del controllo veterinario)
 - Il design e i materiali dei **contenitori**, comprese le disposizioni per il carico e muovere gli animali con il minimo disagio e ispezione in transito;
 - Il **numero di animali** in ciascun contenitore e lo spazio dato a ciascun animale;
 - le **condizioni ambientali** all'interno del contenitore degli animali.
-

trasporto

- la qualità e la quantità della **lettiera**, del materiale di nidificazione, **cibo e acqua** (o fornitura alternativa di liquido);
 - la **durata** del viaggio;
 - il numero di **fermate** o cambiamenti tra veicoli, specialmente se scarico e è necessario ricaricare;
 - il **tipo di veicolo** (i) coinvolto;
 - l'esperienza, l'attitudine e la formazione del **personale** che maneggia e trasporta gli animali;
-

trasporto

Spazi a disposizione

Specie	Peso	Tipo di contenitore	Temperatura di trasporto	Superficie per capo	Altezza del contenitore
Topo	10-35g	Con filtro o senza filtro	Controllata o non controllata	48 cmq a 80 cmq	Min 15 cm
Ratto	< 50 - >250g	Con filtro o senza filtro	Controllata o non controllata	96 cmq a 600 cmq	Min 15 cm
Criceto	30 – 120g	Con filtro o senza filtro	Controllata o non controllata	96 cmq a 240	Min 15 cm
Cavia	100-500g	Con filtro o senza filtro	Controllata o non controllata	264 cmq a 260	Min 15 cm

Considerare la circolazione dell'aria all'interno del trasporto
 Temperatura di trasporto : l'effetto del gruppo nel contenitore da trasporto

trasporto

- La quantità di materiale usato come **lettiera** dovrebbe essere assorbente, confortevole e sufficiente per assorbire l'urina o le feci degli animali e qualsiasi fuoriuscita da fonti liquide collocate nel contenitore. La lettiera può essere usata anche come nido se gli animali sono pochi e hanno bisogno di calore
 - L'animale deve essere in grado di assumere **posture normali** e **muoversi liberamente** all'interno del contenitore
 - Per i viaggi lunghi sono forniti mangime e acqua, come **agar o gelatine o "poltiglie"**. Il rischio con l'acqua libera è l'allagamento della lettiera. Si considera di predisporre alimenti per il doppio del tempo di viaggio previsto
-

trasporto



Trospporto coniglio

- Contenitori in metallo, vetro resina ; plastica rigida; rete metallica resistente e saldata; o foderato di legno con rete metallica
 - I conigli vengono solitamente trasportati singolarmente o in scatole divise
 - L'altezza del contenitore deve essere limitata nei conigli per prevenire **lesioni alla schiena**
 - I conigli non dovrebbero richiedere l'alimentazione per 24 ore dopo il carico (privazione volontaria), oltre questa durata bisogna prevedere cibo (mangimi, verdure, cibi in scatola) e acqua
-

Trasporto zebrafish

- Sigillare bene una busta di plastica: 2/3 di aria e 1/3 di acqua
 - Doppio involucro a tenuta
 - Numero di pesci misurato sulla grandezza della busta e sul tempo del trasporto
 - Scatola adeguata con indicazioni precise (alto/basso), con polistirolo per il mantenimento della temperatura
-

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 (Responsabile del Benessere)



Il Medico Veterinario Designato

- 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.

Ingresso animali

- Possono essere introdotti solo Ratti, Topi, Conigli, Criceti, Cavie e Zebrafish provenienti da stabilimenti fornitori e/o allevamento;
 - Provenienza da stabilimenti come Envigo 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**
-

quarantena

- **RECUPERO FISICO DELL'ANIMALE :**
stress da trasporto, condizioni climatiche variabili, alterazione dei parametri ematobiochimici.
 - **VALUTAZIONE DEL SUO STATO FISICO E SANITARIO**
 - Possono sostituire i locali di quarantena : gli armadi climatizzati, gli isolatori, IVC
 - Durata della quarantena : da 5 a 15 gg
-

stabulario

- **Stabulario convenzionale:** non richiede particolari misure protettive e può ospitare animali che sono venuti a contatto con un numero variabile di agenti microbiologici. 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) -

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

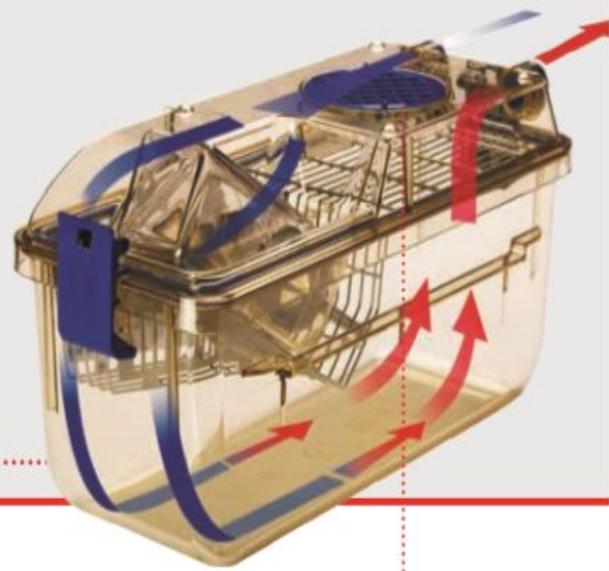
Gabbie a ventilazione forzata



SEALSAFE® NEXT A WIDE RANGE OF CAGES, OFFERING MAXIMUM FLEXIBILITY WITH THE WELL-KNOWN TECNIPLAST QUALITY

ANIMAL WELFARE

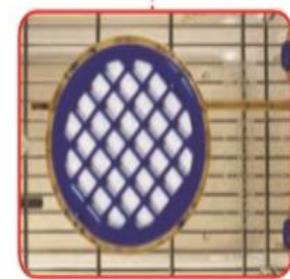
- Air inlet and outlet valves placed in the top: no air drafts at animal level, avoiding risk of stress and heat loss, as reported in the scientific literature
- Stand-alone Air Handling Unit: Easy, Smart and Sky Flow provide safe ventilation without transmitting vibrations to the rack, ensuring standardization of the experiment. The system is independently certified by TÜV



MAX AIR SPEED AT ANIMAL LEVEL: 0.05 M/SEC

PROTECTION FOR OPERATORS AND ANIMALS

- Microbiological filter (Virus filtration efficiency $\geq 99.999987\%$, bacteria filtration efficiency $\geq 99.9999937\%$) at cage level, ensures optimal gas exchange as well as protection also during procedures or in case of power failure
- Nylon Gasket and Latches: seal between cage base and the top
- Non-invasive rack nozzles to avoid cross-contamination
- DOP tested Air Handling Unit's HEPA Filters provide high protection against bacteria, viruses and allergens



MICROBIOLOGICAL FILTER

cappa d'aspirazione.jpg

■ ..\



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 (addolcitore)
 - **finestrature** dotate di retine a maglie strette anti insetti ed antiroditori
 - 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 di allarme che segnalino incendi, intrusioni, guasti agli impianti dei locali di stabulazione degli animali

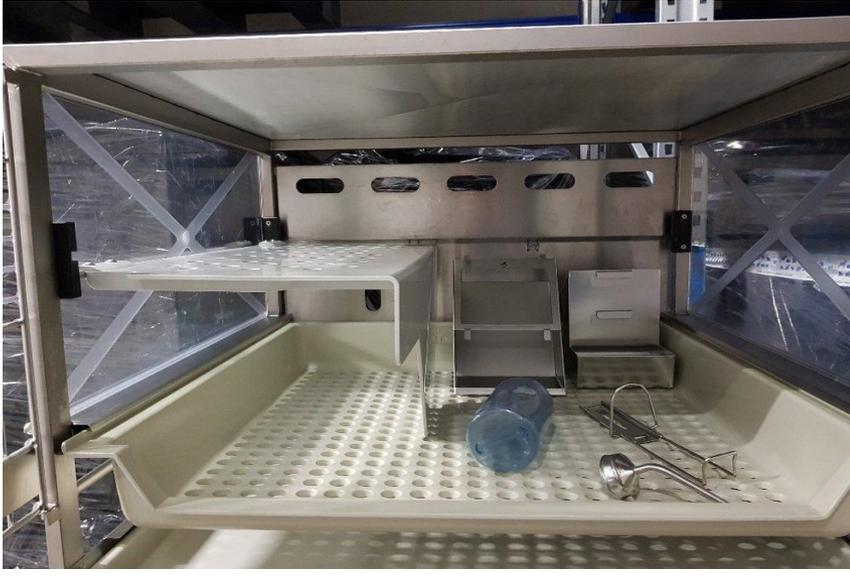
LOCALI STABULAZIONE



TEMPERATURA E UMIDITA'

- **TOPO, RATTO E CAVIA**
 - Temperatura 20-24°C
 - Umidità relativa % 50/60
 - Ventilazione (ricambi/h) 15
 - Luce/buio (h) 12/12 (14/10)
 - **CONIGLIO**
 - Temperatura 15/21°C
-

gabbie



arricchimento



Salute

Allegato 3 art. 3.1

- Gli stabilimenti sono dotati di una **strategia** che garantisca il mantenimento di uno stato di salute degli animali che salvaguardi il benessere degli animali e risponda ai benefici scientifici. Tale strategia comprende un **controllo sanitario periodico**, un **programma di sorveglianza microbiologica** e piani per far fronte a problemi di salute e definisce parametri e procedure sanitari per l'introduzione di nuovi animali.
 - Gli animale sono sottoposti a controlli almeno **giornalieri** effettuati da **persona competente**. Tali controlli garantiscono che tutti gli animali malati o feriti siano individuati e che si adottino misure adeguate.
-

Monitoraggio sanitario degli animali

- I controlli sanitari sono obbligatori per poter avere gli animali in buono stato di salute e per poter certificare lo stato sanitario. Le linee guida FELASA danno indicazioni su quali controlli sia necessario eseguire e con quale frequenza. La scelta deve tenere presente anche le caratteristiche dello stabulario (convenzionale, barrierato, ecc) e degli animali ospiti (convenzionali, SPF, geneticamente modificati ecc)
-

BACTERIA AND FUNGI

<i>Bordetella bronchiseptica</i>	-	-	Q	B	M	M	Culture
<i>CAR bacillus</i>	-	A	Q	Semi	-	-	ELISA
<i>Chlamydia psittaci</i>	-	-	-	-	A	-	IFA
<i>Citrobacter rodentium</i>	Q	Semi	-	-	-	-	Culture
<i>Clostridium piliforme</i>	Q	Semi	M	B	Q	M	Bead/ELISA
<i>Hyperkeratinosis Associated Corynebacterium spp.</i>	-	B	-	-	-	-	PCR
<i>Corynebacterium kutscheri</i>	Q	Semi	A	Semi	M	-	Culture
Dermatophytes	-	-	-	-	A	A	Culture
<i>Helicobacter spp.*</i>	M	B	M	B	-	-	PCR
<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	B	-	B	-	-	Culture
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	B	-	B	-	-	Culture
<i>Mycoplasma pulmonis</i>	Q	Semi	M	B	-	-	Bead/ELISA
<i>Pasteurella multocida</i>	M	B	M	B	M	M	Culture
<i>Pasteurella pneumotropica</i>	M	B	M	B	M	M	Culture
<i>Pneumocystis spp</i>	-	Semi	Q	Semi	-	-	PCR
<i>Pneumocystis murina</i>	A	-	-	-	-	-	PCR
<i>Proteus spp</i>	-	B	-	B	-	-	Culture
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	B	-	B	-	-	Culture
<i>Salmonella spp.</i>	Q	Semi	Q	Semi	Q	Q	Culture
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	B	-	B	-	-	Culture
<i>Streptococci Beta-haemolytic (group A and/or G)</i>	M	-	M	-	-	-	Culture
<i>Streptococci Beta-haemolytic (not group D)</i>	-	B	-	B	M	-	Culture
<i>Streptobacillus moniliformis</i>	Q	Semi	Q	Semi	Q	-	Culture
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	M	B	M	B	M	-	Culture
<i>Treponema (paraluis) cuniculi</i>	-	-	-	-	-	A	IFA
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	-	-	-	-	A	-	Culture

PARASITES

	BARRIER	ISOLATOR	BARRIER	ISOLATOR	BARRIER	BARRIER	
<i>Encephalitozoon cuniculi</i>	A	A	-	A	Q	M	ELISA
Endoparasites**	M	B	M	B	M	M	Direct microscopy
Ectoparasites***	M	B	M	B	M	M	Direct microscopy

Helicobacter spp.* when first positive it includes the differentiation into the following species: *Helicobacter bilis*, *Helicobacter hepaticus*, *Helicobacter rodentium* and *Helicobacter typhlonius*. **Endoparasites testing includes: *Aspicularis tetraptera*, *Balantidium spp.*, *Chilomastix sp.*, *Eimeria sp.*, *Entamoeba sp.*, *Giardia sp.*, *Hymenolepis nana*, *Spironucleus sp.*, *Syphacia spp.*, *Tritrichomonas sp.* *Ectoparasites testing includes: *Gliricola porcelli*, *Myocoptes musculinus*, *Myobia musculi*, *Radfordia ensifera*

Contact us

North America 800.793.7287 EU and Asia envigo.com/contactus VSRSEU@envigo.com



Necropsy procedures include a physical

tissues, organs, and systems. Abnormal fluids are examined by culture, and organs or tissues with lesions are examined histologically.

Serologic evaluations are performed on immunocompetent animals using Bead, ELISA, IFA, and PCR.

Microbiology procedures:

Aerobic, micro aerobic, and carbon dioxide cultures of nasopharynx and aerobic cultures of cecum are performed. PCR methods are used to test for the presence of some bacteria.

Parasitological evaluations are performed by direct microscopic

examination. The ears are evaluated for mites and lice. Small intestinal and cecal contents are evaluated for pathogenic and nonpathogenic helminths and protozoa. Encephalitozoon cuniculi is screened by serology.

Organism List and Testing Frequency

Legend: A = annually, Semi = semi-annually, Q = quarterly, M = monthly, B = bi-monthly, - = not tested. IFA = Indirect Fluorescent Antibody Testing, PCR = Polymerase Chain Reaction; ELISA = Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay; Bead = Microbead Assay/MFIA.

VIRUSES	MICE		RATS		GUINEA PIG	RABBIT	TEST METHODS
	BARRIER	ISOLATOR	BARRIER	ISOLATOR	BARRIER	BARRIER	
Ectromelia virus	Q	Semi	-	-	-	-	Bead
Guinea Pig Adenovirus	-	-	-	-	M	-	ELISA
Hantaan virus	A	A	Q	Semi	-	-	Bead/ELISA
Kilham Rat Virus	-	-	M	B	-	-	ELISA
Lactic Dehydrogenase-Elevating Virus	A	A	-	-	-	-	ELISA
Lymphocytic Choriomeningitis Virus	Q	Semi	A	A	Q	-	Bead/ELISA
Mouse Adenovirus-1 (MAd FL)	Q	Semi	Q	Semi	-	-	Bead/ELISA
Mouse Adenovirus-2 (MAd K87)	Q	Semi	Q	Semi	-	-	Bead/ELISA
Mouse Cytomegalovirus	A	A	-	-	-	-	Bead
Mouse Hepatitis Virus	M	B	-	-	-	-	Bead
Mouse K virus	A	A	-	-	-	-	ELISA
Mouse Minute Virus	M	B	-	-	-	-	Bead
Mouse Norovirus	M	B	-	-	-	-	Bead
Mouse Parvovirus	M	B	-	-	-	-	Bead
Mouse Polyoma Virus	A	A	-	-	-	-	ELISA
Mouse Rotavirus (EDIM)	M	B	-	-	-	-	Bead
Mouse Thymic Virus	A	A	-	-	-	-	IFA
Pneumonia Virus of Mice	Q	Semi	M	B	-	-	Bead/ELISA
Rabbit Haemorrhagic Disease Virus	-	-	-	-	-	M	ELISA
Rabbit pox virus (myxomatosis)	-	-	-	-	-	M	ELISA
Rabbit rotavirus	-	-	-	-	-	M	ELISA
Rat Minute Virus	-	-	M	B	-	-	ELISA
Rat Parvovirus	-	-	M	B	-	-	ELISA
Rat Theilovirus	-	-	M	B	-	-	ELISA
Reovirus type 3 (Reo 3)	Q	Semi	Q	Semi	-	-	Bead/ELISA
Sendai virus	Q	Semi	Q	Semi	M	-	Bead/ELISA
Sialodacryoadenitis Virus	-	-	M	B	-	-	ELISA
Theiler's Mouse Encephalomyelitis Virus	M	B	-	-	-	-	Bead
Toolan's H-1	-	-	M	B	-	-	ELISA

Prelievo delle feci e urine



Grazie per l'attenzione

-e l'ottavo giorno, dopo cena, creò i **LIVORNESI**

