



UNIVERSITÀ DI PARMA

DIPARTIMENTO DI MEDICINA E CHIRURGIA

Via Gramsci, 14 - 43126 Parma

Tel: +39 0521 033184 fax: +39 0521 033185

e-mail: amministrazione.dimec@unipr.it - PEC: DipMedicina@pec.unipr.it

Al Ministero della Salute
Direzione Generale della Sanità Animale
e dei Farmaci Veterinari
Sede Centrale
Viale Giorgio Ribotta, 5
00144 - Roma

settembre

7 ~~Marzo~~ 2021

OGGETTO: Comunicazioni ulteriori in merito al benessere degli animali utilizzati nel progetto autorizzato n. 803/2018-PR del 15/10/2018 – notifica all'Ufficio 6 DGSAF.

In riferimento al progetto "Meccanismi anatomico-fisiologici soggiacenti il recupero della consapevolezza visiva nella scimmia con cecità corticale" (codice BDNS A75A0.1) autorizzato ai sensi del D.lgs. 26/2014 con DM del Ministero della Salute n° 803/2018-PR del 15/10/2018

vista la comunicazione della DGSAF Prot. 0044544 all'Università degli Studi di Parma del 15/02/2021, nella quale vengono richiamati i rilievi presenti nella sentenza del Consiglio di Stato n. 1186/2021 in cui si rilevava come i report semestrali debbano:

- a) puntualizzare "i parametri di monitoraggio dello stress";
- b) documentare "le condizioni fisiche, ma soprattutto psichiche dei macachi oggetto di sperimentazione";
- c) nella predisposizione dei report venga "registrato lo stato fisico e psichico dei macachi ad ogni singola attività o stimolazione o terapia ai quali sono sottoposti";

si inviano in calce, ad accompagnamento della relazione semestrale prevista dalla autorizzazione in oggetto:

- 1) specifica valutazione del primatologo consulente .
- 2) valutazione quantitativa quotidiana della disponibilità degli animali a partecipare spontaneamente alle attività sperimentali autorizzate (su una scala da 1 a 3 punti);
- 3) relazione ad un mese dalla procedura invasiva di impianto del sistema ferma-testa sul decorso peri e post-operatorio.



UNIVERSITÀ DI PARMA

DIPARTIMENTO DI MEDICINA E CHIRURGIA

Via Gramsci, 14 - 43126 Parma

Tel: +39 0521 033184 fax: +39 0521 033185

e-mail: amministrazione.dimec@unipr.it - PEC: DipMedicina@pec.unipr.it

Al Ministero della Salute
Direzione Generale della Sanità Animale
e dei Farmaci Veterinari
Sede Centrale
Viale Giorgio Ribotta, 5
00144 - Roma

Settembre

7 ~~Marzo~~ 2021

OGGETTO: Comunicazioni ulteriori in merito al benessere degli animali utilizzati nel progetto autorizzato n. 803/2018-PR del 15/10/2018 – notifica all’Ufficio 6 DGSAF.

In riferimento al progetto “Meccanismi anatomico-fisiologici soggiacenti il recupero della consapevolezza visiva nella scimmia con cecità corticale” (codice BDNS A75A0.1) autorizzato ai sensi del D.lgs. 26/2014 con DM del Ministero della Salute n° 803/2018-PR del 15/10/2018

vista la comunicazione della DGSAF Prot. 0044544 all’Università degli Studi di Parma del 15/02/2021, nella quale vengono richiamati i rilievi presenti nella sentenza del Consiglio di Stato n. 1186/2021 in cui si rilevava come i report semestrali debbano:

- a) puntualizzare “i parametri di monitoraggio dello stress”;
- b) documentare “le condizioni fisiche, ma soprattutto psichiche dei macachi oggetto di sperimentazione”;
- c) nella predisposizione dei report venga “registrato lo stato fisico e psichico dei macachi ad ogni singola attività o stimolazione o terapia ai quali sono sottoposti”;

si inviano in calce, ad accompagnamento della relazione semestrale prevista dalla autorizzazione in oggetto:

- 1) specifica valutazione del primatologo consulente
- 2) valutazione quantitativa quotidiana della disponibilità degli animali a partecipare spontaneamente alle attività sperimentali autorizzate (su una scala da 1 a 3 punti);
- 3) relazione ad un mese dalla procedura invasiva di impianto del sistema ferma-testa sul decorso peri e post-operatorio.

Valutazione sullo stato di benessere dei soggetti sperimentali e considerazioni generali di tipo etico sull'andamento del progetto “Meccanismi anatomico-fisiologici soggiacenti il recupero della consapevolezza visiva nella scimmia con cecità corticale” (n° 803/2018-PR)

Per la preparazione di questa relazione, ho visitato lo stabulario e i laboratori del Dipartimento di Medicina e Chirurgia dell'Università di Parma, dove sono condotti gli esperimenti del progetto in esame. Ho osservato i soggetti sperimentali, e condotto interviste in persona con diversi membri del personale dedicato al progetto, dal personale tecnico al *[nome]*, e anche il *[nome]* via skype.

La visita è stata effettuata il 26 agosto 2021.

Questa relazione riguarda le procedure compiute sui due maschi (di età circa 7 anni) della specie macaco reso (*Macaca mulatta*), attualmente coinvolti nel progetto (Larry - ID: 1404035- e Alan ID:1402269). Gli animali sono arrivati a Parma l'8 agosto 2019. Al momento le due principali procedure compiute su questi animali sono l'addestramento a rinforzo positivo per sedere sulla sedia di restrizione, e l'impianto del ferma-testa per la registrazione (in un secondo momento), dell'attività neuronale.

La mia valutazione utilizza il “Principio delle “3R” di Russell e Burch come guida per verificare gli aspetti di benessere degli animali e qualità scientifica del progetto in questione.

Sostituzione (“Replacement”): Il macaco reso è una specie appropriata per ottenere il modello animale che è necessario per lo svolgimento del progetto. La complessità del comportamento che deve essere studiata non permette l'uso di un'altra specie che non sia un primate non-umano. Le vie visive di questa scimmia sono molto simili, in termini di funzione e anatomia, a quelle proprie della specie umana. Inoltre, *Macaca mulatta* si è svelata essere una specie particolarmente adatta a programmi di addestramento a rinforzo positivo, come osservato in diversi laboratori europei che utilizzano tale primate per diversi tipi di ricerca.

Riduzione (“Reduction”): Al momento vengono utilizzati due soggetti sperimentali rispetto ai complessivi sei autorizzato dall'autorità competente italiana (Ministero della Salute). Questi numeri sono il minimo indispensabile per ottenere risultati significativi, replicazioni convincenti di tali risultati e un buon livello di riproducibilità. E' anche importante sottolineare che in questo tipo di studi l'unità statistica non è rappresentata dai soggetti sperimentale *per se*, ma bensì dal numero di neuroni dei quali viene registrata l'attività.

Affinamento delle procedure-stabulazione (“Refinement”): Ho visitato lo stabulario dove sono mantenuti i due soggetti sperimentali. Larry e Alan sono alloggiati in coppia, nella stessa stanza e in visione di altri macachi utilizzati in altri progetti. Ho osservato a lungo i due individui alla ricerca di eventuali segni di malessere comportamentale. Non ho osservato alcuna stereotipia, nessun comportamento sociale anormale, nessun atteggiamento che denotasse uno stato anormale di tensione o stress. I due individui sono apparsi vigili e attenti, curiosi e attivi. Larry, il dominante, era molto attento a tutto ciò che succedeva al di fuori della sua gabbia (tipico degli individui dominanti che controllano l'ambiente per difendere il gruppo). Alan, il

subordinato, era più interessato all'ambiente interno alla gabbia, utilizzando gli arricchimenti presenti al momento. E' importante notare che, durante la mia visita, erano presenti gli operai che stavano ristrutturando parte dello stabulario. Tutte le scimmie non hanno mostrato alcun segno di stress per la presenza di queste persone, ma invece erano molto curiose di quello che accadeva intorno alle loro gabbie. Tutto ciò è un'ulteriore prova del livello di calma e abitudine agli umani che è stato raggiunto per i macachi di questo stabulario.

Ero particolarmente interessato a capire se il recente impianto di un ferma-testa su Larry e Alan creava qualche tipo di disagio fisico, interferendo sul normale repertorio comportamentale dei due individui. Larry and Alan sono stati operati durante la prima settimana di Agosto 2021. Durante le mie osservazioni ho notato che i due individui si toccavano il ferma-testa molto raramente, e mai hanno toccato il ferma-testa del compagno, anche durante sessioni di "grooming" (il rituale spulciamento reciproco del pelo). Il proprio ferma-testa veniva toccato brevemente quando urtava contro qualche oggetto dell'ambiente circostante. Mi è stato spiegato che, nel momento nel quale il cervello avrà incorporato l'esistenza del ferma-testa come parte dello schema corporeo, le scimmie saranno in grado di evitare sistematicamente di urtare con l'impianto l'ambiente circostante. Questo è quello che è successo con le altre scimmie che hanno avuto un impianto dello stesso tipo.

Le scimmie, in generale, mostravano un'atteggiamento positivo verso tecnici e ricercatori: assenza di stress o paura, e accettazione di cibo dalle loro mani. Le dimensioni delle gabbie sono a norma, gli animali hanno spazio per muoversi allungando gli arti, saltare e arrampicarsi. Sono rimasto positivamente colpito dall'uso di differenti arricchimenti ambientali che vengono alternati nelle diverse gabbie. Gli arricchimenti sono di tipo sensoriale, strutturale e cognitivo. Il tecnico di laboratorio che si occupa di questo aspetto è una persona di grande esperienza, motivazione e creatività. Recenti arricchimenti includono: i) scatolette e cilindri di cartone sigillati, da strappare, con dentro paglia e semi; ii) bottiglie del latte di plastica, con dentro ramoscelli di rosmarino. I macachi li estraggono, se li strusciano addosso e poi li mangiano; iii) rami con foglie, con le foglie cosparse di miele e semi; iv) bicchierini di plastica con frullato congelato. Questi arricchimenti aggiuntivi sono alternati tra gabbie e presentati agli animali tre volte alla settimana.

Larry e Alan al momento non possono utilizzare la "playroom" (una gabbia più larga, visitata a turno da tutte le scimmie, dedicata esclusivamente all'uso di arricchimenti, ma non di tipo alimentare) perchè, come accennato più sopra, sono in corso lavori di ristrutturazione proprio di quella gabbia. Nel giro di una settimana la normalità verrà ristabilita.

Mi è stato spiegato che da tempo c'è un Progetto per ampliare ulteriormente lo spazio a disposizione delle scimmie, ma i lavori sono stati ritardati dalla pandemia.

Affinamento delle procedure sperimentali ("Refinement"): A causa dei lavori di ristrutturazione e per la presenza degli operai, non è stato possibile assistere a una sessione di addestramento a rinforzo positivo. Comunque, durante precedenti visite, ho potuto assistere a tale procedura, e ne sono rimasto favorevolmente impressionato per la calma del personale che metteva in atto l'addestramento, e la calma dimostrata dai soggetti sperimentali. La procedura mi è stata comunque rispiegata con dovizia di particolari. L'addestramento di Larry e Alan viene condotto esclusivamente sempre dalle stesse due persone, per poter conquistare la completa fiducia da parte dei soggetti sperimentali. Al momento Alan è stato abituato a sedersi spontaneamente sulla sedia, uscendo dalla gabbia, e venire trasportato in laboratorio. Mette la testa fuori mentre è seduto sulla sedia, con un minimo di costrizione. Larry è arrivato allo stesso punto, ma quando mette la testa fuori non c'è nessun tipo di costrizione e la può ritrarre quando vuole. La ragione di questa differenza tra i due è che Larry è dominante rispetto a Alan, e quindi

il suo addestramento richiede più tempo perchè vuole avere più controllo sulla procedura alla quale è sottoposto.

E' stata acquistata una nuova sedia di costrizione, più robusta e più agevole da usare per il personale. Inoltre, tale sedia permette alla scimmia di sedersi meglio e più comodamente. Ciò è in accordo con le raccomandazioni del NC3Rs di Londra.

Tutte le fasi dell'addestramento, come già accennato, tengono conto della gerarchia sociale instauratasi fra i due individui. L'addestramento è di tipo classico, con l'uso di un "clicker", che serve da "ponte" fra l'azione desiderata e il premio. Il premio è particolare per quel particolare tipo di azione atteso (spostamento dalla gabbia, o sedersi sulla sedia...). Frutta e verdura, durante il periodo di addestramento, vengono date solo durante tali procedure. Acqua e pellet sono a disposizione sempre *ad libitum*. Quindi, i soggetti sperimentali non vengono sottoposti a deprivazione di cibo. Al di fuori del periodo di addestramento i soggetti sperimentali ricevono l'usuale dieta di pellet, frutta e verdura.

Il senso di fiducia degli animali verso gli addestratori, e la mancanza di paura e frustrazione, sono elementi essenziali per la riuscita dell'addestramento.

Per quanto riguarda le procedure relative alla somministrazione di anestetico per l'operazione di impianto del ferma-testa, l'individuo viene costretto gentilmente verso il fondo della gabbia, mediante l'uso di un pannello scorrevole. Quindi, nel momento in cui il soggetto è immobilizzato, l'iniezione dell'anestetico viene fatta intra-muscolo, senza ulteriormente toccare la scimmia. Lo spazio a disposizione nella gabbia rimane limitato fino a quando l'animale non si addormenta, per evitare che si faccia male sbattendo sul pavimento mentre si sta addormentando. Ho chiesto se era possibile addestrare l'animale con rinforzo positivo per ricevere l'iniezione, senza bisogno di costrizione. La risposta è stata che tale iniezione viene fatta raramente e sarebbe troppo oneroso, in termini di tempo e personale, avviare un programma di addestramento per questo tipo di necessità.

Per quanto riguarda l'impianto dei ferma-testa, lascio le considerazioni tecniche a chi ha più competenze a riguardo di me. Però vorrei notare che sono rimasto molto impressionato dallo sforzo messo in atto dal team sperimentale per migliorare la gestione e la riuscita di tale impianto, un chiaro esempio di affinamento (refinement) delle procedure sperimentali. La testa degli animali, dove era stato fatto l'impianto, appariva completamente pulita, senza alcun segno di infezione o altre reazioni avverse. Mi è stato spiegato che il ferma-testa è stato modellato *ad hoc* per le due scimmie, dopo aver ottenuto una copia 3-D del cranio di Larry e Alan.

La mia impressione è che il concetto di affinamento delle procedure sperimentali è compreso e applicato in maniera efficace in questo laboratorio, nell'ambito del progetto in oggetto.

INTERVISTE CON IL TEAM SPERIMENTALE

Ho intervistato diversi membri del personale che afferisce al progetto. E' mia opinione che è estremamente importante capire l'attitudine generale e le opinioni delle diverse persone coinvolte nel progetto a differenti livelli e con differenti compiti e responsabilità. Tutte queste informazioni servono per comporre uno scenario nel quale possono essere meglio valutati gli aspetti etici relativi al progetto in esame.

Sono rimasto favorevolmente impressionato da questi incontri. Ho parlato sia con il Dr. [redacted] (in persona) che con il Dr. [redacted] (via skype), quindi con ricercatori, anestesista, veterinario designato e tecnici di laboratorio adibiti al mantenimento della colonia. Ho riscontrato tra gli intervistati un significativo accordo di motivazioni, atteggiamento e attenzione verso gli animali sperimentali. Ho avuto l'impressione di un gruppo molto compatto, sulla stessa "lunghezza d'onda", per quanto riguarda sia il benessere degli animali coinvolti che per la qualità del dato sperimentale e del progetto in generale. L'enfasi era differente, chiaramente in relazione al compito svolto, ma per tutti il benessere degli animali e la qualità del dato sperimentale devono andare di pari passo.

Vorrei qui riassumere i concetti generali che ho tratto dalle interviste:

- Il personale intervistato sottolinea più volte l'importanza di avere un rapporto personale con le scimmie. I macachi devono essere in grado di fidarsi degli umani che lavorano con loro, e sono in grado di distinguere molto bene una persona dall'altra. E' essenziale che i macachi siano calmi e fiduciosi.
- Ogni particolare scimmia ha una preferenza per un particolare tipo di arricchimento. Il tecnico di laboratorio che si occupa degli arricchimenti tiene sempre molto presente questa informazione, e lo fa con grande cura e attenzione. In particolare, è molto attento a capire per ogni singolo individuo la personalità e il livello di motivazione a partecipare al programma di arricchimento.
- La conoscenza dell'etologia del macaco reso è cruciale per capire il livello di benessere dei soggetti sperimentali. Tale conoscenza è essenziale per un addestramento a rinforzo positivo che abbia successo.
- E' molto importante che gli individui abbiano un certo grado di controllo sull'ambiente e su ciò che accade intorno a loro. L'addestramento è adattato alla personalità, attitudine e posizione sociale di quel particolare individuo. La procedura di addestramento rappresenta una sorta di arricchimento per la vita dei soggetti sperimentali. Sono pronti a partecipare alle sedute di addestramento, ma devono essere in grado di esercitare controllo sui modi e i tempi, se no perdono interesse.
- Tutte le scimmie hanno un nome, tutte le scimmie hanno una loro distinta personalità.
- Ho notato un ottimo livello di comunicazione e rispetto tra i tecnici di laboratorio, i veterinari e i ricercatori. C'è continuo scambio di informazioni sul benessere dei soggetti sperimentali: i tecnici di laboratorio conoscono bene il progetto, e i ricercatori ascoltano i consigli dei tecnici di laboratorio per questioni che riguardano il benessere dei soggetti sperimentali

RAPPORTO DANNO/BENEFICIO

Le misure di affinamento delle procedure adottate, e qui descritte, risultano in una significativa riduzione del disagio imposto ai soggetti sperimentali. I primati sono utilizzati nel pieno rispetto delle loro esigenze di benessere psico-fisico. Bisogna anche considerare che questi animali possono essere considerati, in termini evolutivi, "selvatici" se comparati, per esempio, con i cani. Ciò li porta a possedere un livello di tolleranza al dolore relativamente alto.

Le considerazioni espresse in questa relazione portano a una favorevole valutazione del rapporto danno/benefico, alla luce del potenziale e significativo progresso delle conoscenze sulle basi

neurali della coscienza visiva, e sulle applicazioni pre-cliniche per curare le conseguenze del danno nervoso al sistema visivo umano.

Tale progetto appare essere in linea con i concetti “sostituzione”, “riduzione” e “affinamento delle procedure”, come indicato dall’articolo 13 del D. Leg.vo 26/2014 (implementazione italiana della Direttiva 2010/63/EU).

Considero quindi lo standard etico mantenuto nel progetto “Light-Up” più che accettabile. In effetti, penso che dovrebbe essere di ispirazione per altri progetti che utilizzano primati non umani in ricerca di tipo neuroscientifico.

Roma, 30/8/2021

Centro di Riferimento per le Scienze Comportamentali e Salute Mentale
Istituto Superiore di Sanità
ROMA



UNIVERSITÀ DI PARMA

DIPARTIMENTO DI MEDICINA E CHIRURGIA

Via Gramsci, 14 - 43126 Parma

Tel: +39 0521 033184 fax: +39 0521 033185

e-mail: amministrazione.dimec@unipr.it - PEC: DipMedicina@pec.unipr.it

Al Ministero della Salute
Direzione Generale della Sanità Animale
e dei Farmaci Veterinari
Sede Centrale
Viale Giorgio Ribotta, 5
00144 - Roma

7 settembre 2021

Valutazione quantitativa quotidiana della disponibilità degli animali a partecipare spontaneamente alle attività sperimentali autorizzate (su una scala da 1 a 3 punti).

La valutazione che segue fa riferimento ad un periodo compreso tra il 31 maggio 2021 e il 6 settembre 2021.

Legenda dei punteggi assegnati:

- 1:** L'animale rifiuta di partecipare alla sessione di addestramento e non sale in sedia o non accetta di separarsi dal compagno.
- 2:** L'animale collabora con lo sperimentatore per alcune fasi dell'addestramento (es. sale correttamente in sedia), ma non risulta particolarmente motivato o collaborante, mostrando comportamenti particolarmente selettivi rispetto alla tipologia del rinforzatore o rifiuto di ottemperare ad alcune richieste del compito, nuove o già acquisite/consolidate in precedenza.
- 3:** L'animale collabora pienamente con lo sperimentatore ed esegue correttamente tutte le richieste, mostrandosi anche ricettivo a richieste ulteriori e dunque progredendo nella fase di addestramento.

Le frecce rosse indicano 1) il giorno in cui gli animali sono stati separati dalla loro home-cage per la prima volta (8 giugno 2021) e 2) l'inizio della fase di addestramento al neck-plate (19 luglio 2021). Le interruzioni nei grafici indicano le giornate (fine settimana) o periodi (agosto) di sospensione.

Risulta evidente che mentre Alan (subordinato) ha accettato volontariamente la parziale costrizione dovuta al neck-plate senza regressioni, Larry ha imposto un ritorno a fasi precedenti dell'addestramento per ripristinare livelli ottimali di collaborazione. I punteggi tra i due animali dopo il 19 luglio 2021 riguardano perciò richieste del compito leggermente diverse in laboratorio, individualizzate rispetto alle necessità e disponibilità del singolo animale.



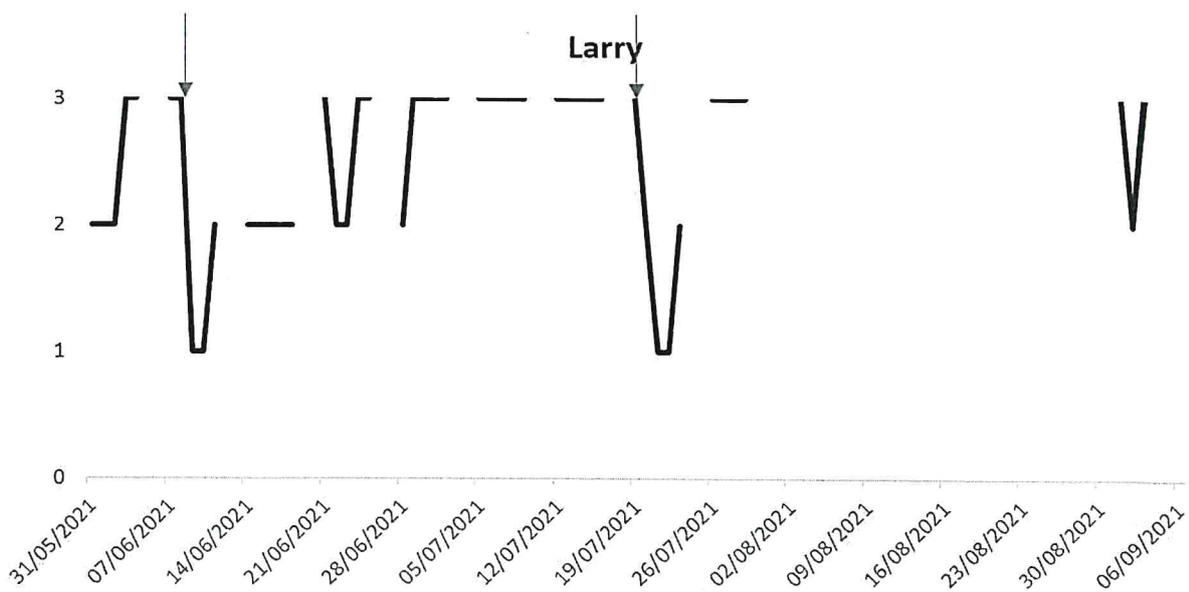
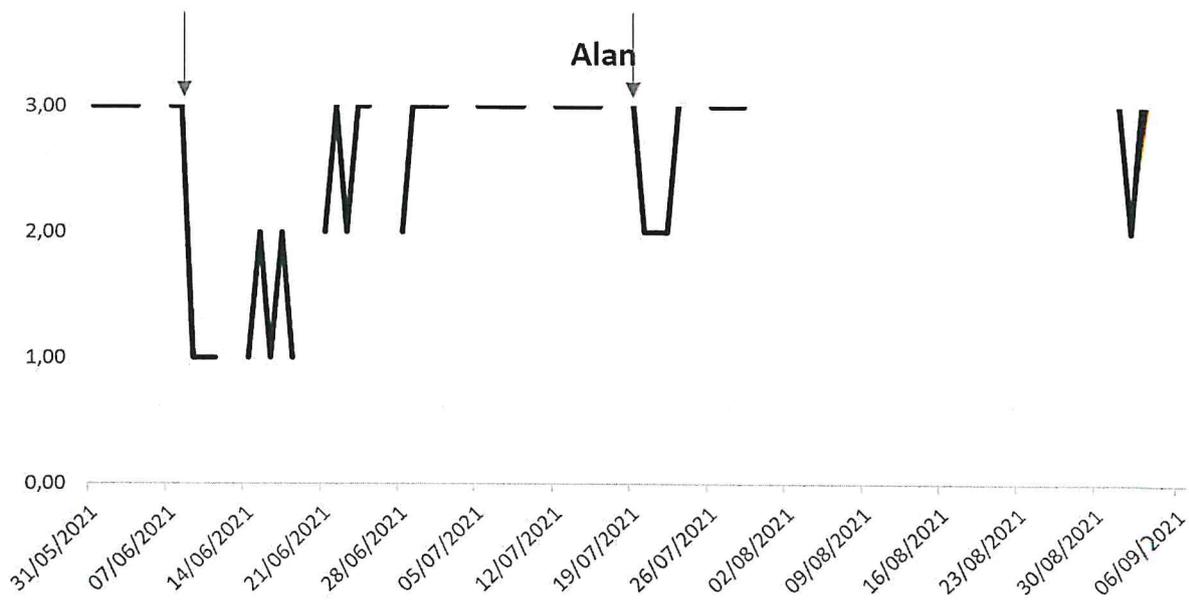
UNIVERSITÀ DI PARMA

DIPARTIMENTO DI MEDICINA E CHIRURGIA

Via Gramsci, 14 - 43126 Parma

Tel: +39 0521 033184 fax: +39 0521 033185

e-mail: amministrazione.dimec@unipr.it - PEC: DipMedicina@pec.unipr.it



Il responsabile scientifico del progetto

Il responsabile dell'esecuzione
degli esperimenti



UNIVERSITÀ DI PARMA

DIPARTIMENTO DI MEDICINA E CHIRURGIA

Via Gramsci, 14 - 43126 Parma

Tel: +39 0521 033184 fax: +39 0521 033185

e-mail: amministrazione.dimec@unipr.it - PEC: DipMedicina@pec.unipr.it

Il responsabile scientifico del progetto

Il responsabile dell'esecuzione
degli esperimenti

Il veterinario designato

Il responsabile del
benessere animale



UNIVERSITÀ DI PARMA

Organismo Preposto al Benessere Degli Animali - OPBA

Scheda riassuntiva sopralluogo Sezione dello Stabulario Unico dell'Università di Parma

COD MINIST	REFERENTE LOCALE DEL BENESSERE
A75A0	

Osservazioni

Motivo dell'intervento: Valutazione post-operatoria in seguito a procedura chirurgica per l'impianto di dispositivi ferma-testa sui primati "ALAN" (TATUAGGIO 1402269 – MICROCHIP 201002) e "LARRY" (TATUAGGIO 1404035 – MICROCHIP 982126051-200591)

La valutazione clinica che segue si riferisce alle visite effettuate nel periodo peri- e post-operatorio comprendente i trenta giorni successivi alle procedure chirurgiche effettuate, rispettivamente, il 3 e 5 agosto 2021 sugli esemplari di Macaca mulatta denominati Alan e Larry.

Le chirurgie sono state eseguite dal personale autorizzato e in ottemperanza alle procedure definite dal protocollo, alla presenza del sottoscritto e del dottor _____ con funzione di anestesista.

Lo scopo delle procedure, svolte in condizioni di asepsi, in anestesia generale (isofluorano) e con monitoraggio strumentale dei parametri vitali per l'intera durata dell'anestesia, consisteva nell'impianto di un dispositivo ferma-testa in titanio biocompatibile sagomato in sede preoperatoria sulla stampa 3D del cranio di ciascun animale, ulteriormente adattato in sede intra-operatoria per aderire perfettamente alla superficie ossea, migliorando l'osteointegrazione del dispositivo.

La tecnica di impianto utilizzata è consistita in un'unica incisione della cute a forma di semiluna con vertice in regione frontale ed estremità sulle regioni parieto-temporali di destra e sinistra, con successiva sezione dei piani sottostanti, senza asportazione di tessuto, garantendo così la conservazione della migliore vascolarizzazione. Dopo l'esposizione dell'osso cranico, il ferma-testa è stato posizionato sulla regione predefinita in coordinate stereotassiche, ulteriormente aggiustato mediante apposita pinza sterile per aderire alla superficie, e infine fissato con viti autofilettanti per osso in titanio. Al termine del fissaggio del dispositivo, si è proceduto a riposizionare e suturare separatamente con monofilo assorbibile muscolo, fascia, e cute. Le procedure fin qui descritte seguono i più recenti standard internazionali per impianti di questo tipo, in accordo con le indicazioni del NC3Rs.

Agli animali sono stati somministrati farmaci antinfiammatori, analgesici e antibiotici in sede intraoperatoria, e sono stati fatti risvegliare completamente soltanto all'interno della loro gabbia, in condizioni di temporanea stabulazione individuale per consentire il completo recupero in tranquillità e sicurezza. Il risveglio è avvenuto in modo rapido e gli animali apparivano entrambi calmi e in buone condizioni generali. Circa due ore dopo il completo risveglio di entrambi gli animali non erano evidenti segni di sanguinamento, la ferita suturata appariva pulita e perfettamente chiusa; non si riscontravano segni neurologici, gli animali apparivano vigili e orientati, attenti e interessati agli stimoli, con buona destrezza e rapidità di movimento sia sulle superfici orizzontali che verticali; non evidenti deficit di forza. Assenti segni e sintomi suggestivi di possibili patologie di natura internistica, gastroenterica, cardio-respiratoria, ed ortopedica. Nessuno dei due animali mostrava significativi comportamenti diretti alla porzione esterna del dispositivo impiantato né alla ferita. Nel tardo pomeriggio, ad entrambi gli animali è stato fornito cibo morbido (frutta e verdura) e succo di frutta, ed entrambi si sono alimentati normalmente.

Le terapie post-operatorie, consistenti in antibiotico ad ampio spettro, cortisone e antinfiammatorio, sono state proseguite sotto costante monitoraggio per 4 giorni per ciascun animale. Dopo questo periodo in entrambi gli animali la ferita appariva uniformemente asciutta e in fase avanzata di cicatrizzazione, senza evidenze di zone necrotiche o processi infiammatori in atto. Nel soggetto Larry permaneva un leggero gonfiore nella porzione frontale in prossimità della base del dispositivo impiantato che, ad un esame più accurato, non ha evidenziato criticità tali da giustificare

interventi maggiori e si è pertanto optato per proseguire semplicemente per ulteriori 4 giorni la sola terapia cortisonica. Nel corso di questo periodo gli animali hanno mostrato comportamenti abbastanza frequenti di interazione con la porzione esterna del dispositivo impiantato – un fenomeno molto normale in questi casi, soggetto a rapido decremento nel corso dei giorni man mano il dispositivo viene incluso nello schema corporeo; non si sono tuttavia osservati segni di interazione con i punti di sutura applicati esternamente, consentendo una ottimale e rapida guarigione della ferita e corroborando l'impressione clinica che gli animali non provassero dolore o fastidio anche dopo l'interruzione della terapia farmacologica.

Indicatori Etologici, aspetto fisico e rilievi ambientali alla sospensione delle terapie. Entrambi i soggetti nel corso dell'osservazione nel giorno successivo all'interruzione delle terapie appaiono vigili ed intenti alle loro occupazioni abituali, interagiscono con gli arricchimenti ambientali e trascorrono molto tempo in attività di foraggiamento sul substrato alla base delle gabbie, arricchito con semi e granaglie, mostrando quindi un buon livello di sicurezza e tranquillità. Rari episodi di interazione con la porzione esterna del proprio dispositivo ferma-testa, più frequenti in Larry, ma non con quello del compagno. Gli animali si alimentano e bevono in modo normale, non mostrando segni di dolore o fastidio neppure durante la masticazione di cibi solidi o duri, come il pellet o le granaglie, che mangiano normalmente e ricercano attivamente.

L'alvo appare regolare e non si rilevano tracce ematiche, né nelle feci né nelle urine. Rimangono tranquilli verso gli stimoli esterni di routine (quali l'ingresso e uscita del personale nel corso della visita o degli spostamenti delle persone nello stabulario), e non sono stati osservati comportamenti anomali quali stereotipie, comportamenti autolesivi, posture anomale in condizioni statiche e dinamiche, tremori, vocalizzazioni anomale o aggressività auto/etro-diretta (al soggetto subordinato è stato somministrato nuovamente Suprelorin in sede operatoria, essendo trascorsi quasi 6 mesi dalla precedente applicazione con eccellenti risultati sulla compatibilità della coppia).

L'osservazione non suggerisce condizioni di disagio, stress, sofferenza o paura.

Gli animali sono stati monitorati dal personale quotidianamente per l'intero mese di agosto, e hanno subito una brevissima sedazione in data 16 Agosto 2021 per la rimozione dei punti di sutura esterni.

L'osservazione clinica odierna (6 settembre 2021) degli animali conferma il completo recupero e la perfetta integrazione dell'impianto, con evidente ricrescita del pelo nella zona circostante il dispositivo ferma-testa. Si ribadiscono le osservazioni etologiche, e fisico-ambientali riportate già al 6° giorno del decorso post-operatorio per entrambi gli animali, cui si aggiunge l'assenza di occorrenze di comportamenti diretti al ferma-testa, che appare dunque ben accettato da entrambi gli animali.

In conclusione, gli interventi sono riusciti senza complicazioni, le condizioni psicofisiche di entrambi i soggetti si sono mantenute nella norma per tutto il decorso peri- e post-operatorio, con un recupero completo e rapido sia sul piano clinico sia sul piano comportamentale, indicando che entrambi gli animali risultano in buone condizioni e sono pienamente idonei a proseguire con le fasi successive del protocollo sperimentale autorizzato.

Il Veterinario Designato