



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
PEC: dgsa@postacert.sanita.it

07 Marzo 2023

OGGETTO: Ottava relazione semestrale sulle condizioni di benessere dei macachi e misure intraprese per limitare gli effetti avversi – 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 l'autorizzazione nella quale si prescrive "l'invio all'Ufficio 6 della DGSAF dei dati relativi alle condizioni di stress rilevate durante le singole fasi del progetto, nonché le misure intraprese per limitare gli effetti avversi, con cadenza semestrale" si comunica quanto segue:

1. Preliminarmente, si richiamano integralmente le condizioni di stabulazione, modalità e tipologia di accesso agli arricchimenti ambientali, cognitivi e alimentari riportati nelle relazioni precedenti.
2. In merito ai "parametri di monitoraggio dello stress", si richiama quanto riportato integralmente nel testo del progetto autorizzato, già utilizzato come riferimento anche per le precedenti relazioni. Lo sviluppo, in anni recenti, di un approccio interdisciplinare di "laboratory animal science" ha contribuito a definire una serie di parametri e misure comportamentali osservabili (vedi Truelove et al. 2020 per una rassegna recente) che possono essere utilizzati quali indici affidabili dello stato psico-fisico degli animali, in particolare nel caso dei primati non-umani. Questi indici rilevano efficacemente eventuali deviazioni significative da uno stato fisiologico e psicologico di benessere, derivanti da condizioni di dolore, stress o danno prolungato, sia legate alle condizioni di stabulazione, sia riferibili a singole tipologie di attività sperimentali, stimolazioni o terapie cui gli animali possano essere sottoposti. Tutto ciò, in particolare, se i parametri vengono rilevati da **personale adeguatamente formato e con una conoscenza diretta e quotidiana degli animali stabulati**, delle loro abitudini, caratteristiche e comportamenti individuali e collettivi. A tal proposito, è opportuno notare che una quantificazione e registrazione quotidiana delle summenzionate osservazioni non solo esula dagli scopi e dagli obiettivi del progetto autorizzato, ma non è prevista dalla normativa vigente né potrebbe in alcun modo migliorare ulteriormente il benessere degli animali utilizzati nel progetto in questione, costituendo al limite uno studio sperimentale a sé stante di indubbio interesse scientifico ma non perseguibile né contemplato nell'ambito delle predette attività sperimentali autorizzate. Tutti gli indicatori adottati per la valutazione delle condizioni di benessere psico-fisico e delle eventuali condizioni di stress rilevate sono riportati nel progetto autorizzato e sono sempre stati utilizzati come guida e riferimento operativo dallo stesso personale responsabile delle procedure per la valutazione quotidiana delle condizioni degli animali. Gli stessi report semestrali inviati fino ad ora sono stati redatti col medesimo riferimento, valido ed autorizzato all'interno della proposta progettuale. Nello specifico, sulla base di una disamina della letteratura recente (cfr. Pickard et al. 2013, APC – Animal Procedures Committee), il progetto autorizzato ha identificato 32 parametri raggruppati in diversi domini, in funzione dei quali osservare e rilevare la condizione psico-fisica degli animali al fine di monitorare nel modo più preciso e oggettivo possibile il loro benessere. Questi indicatori sono stati dettagliati nella "scheda di valutazione clinica dei segni di possibile sofferenza" inclusa al punto 24 del progetto e di seguito riportata integralmente.



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

SCHEDA DI MONITORAGGIO DEI SEGNI DI POSSIBILE SOFFERENZA			
Categoria	Aspetti da considerare	Indicatori da monitorare	Descrizione
Aspetto fisico	Condizioni generali	Peso	Stato di sovrappeso o sottopeso. Il monitoraggio sarà effettuato sia qualitativamente, osservando gli animali in gabbia, sia quantitativamente, pesando gli animali in sedia o nel trasportino durante i trasferimenti in laboratorio.
		Pelo, pelle	Stato di pulizia del pelo. Alopecia, perdita di pelo, lesioni, gonfiore, eruzioni cutanee, secchezza e colorazione anomala della pelle (es. ittero).
		Denti	Anomalie nella dentatura tali da compromettere l'alimentazione e/o le interazioni competitive
		Bocca	Salivazione eccessiva, lesioni
		Occhi	Occhi semi-chiusi, non reattivi, secrezioni
		Naso	Secrezioni
		Addome	Addome gonfio e disteso
Funzioni fisiologiche		Respirazione	Accelerata o difficoltosa
Ambiente		Feci, urine	Presenza di feci molli; sangue nelle feci e/o urina; quantità di evacuazioni prodotte.
		Consumo di acqua e cibo	Ridotta o eccessiva assunzione
		Presenza di sangue	Tracce di sangue nella gabbia
		Uso degli arricchimenti	Verifica del loro utilizzo
Comportamento	Comportamenti specie-specifici	Self-grooming (pulizia del pelo)	Osservarne l'occorrenza direttamente o indirettamente attraverso lo stato del pelo (es. pelo sporco per assenza del comportamento; chiazze prive di pelo per eccesso di self-grooming).
		Esplorazione, reattività all'ambiente	Presenza/assenza di interesse verso stimoli fisici e/o sociali (apatia)
		Postura, locomozione	Posture e/o locomozione anomale, agitazione, immobilità, letargia, mancanza di equilibrio
		Allo-grooming	Verificare l'occorrenza ed eventuali cambiamenti
	Comportamenti sociali intra-specifici per verificare la compatibilità delle coppie di animali e quindi migliorarne la gestione	Affiliazione (contatto e/o prossimità fisica con il partner)	Osservarne l'occorrenza ed eventuali cambiamenti
		Aggressività	Osservare presenza di minacce o aggressioni dirette al partner
		Evitamento, paura	Osservare se il soggetto evita attivamente la prossimità col partner (es. occupando la zona della gabbia più distante da quest'ultimo), se



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

			esibisce segnali di paura (vocalizzazioni, espressioni facciali, postura raggomitata)
		Affiliazione	Comportamenti amichevoli (es. vocalizzazioni, espressioni facciali, ricerca di prossimità)
	Comportamenti sociali inter-specifici (verso gli umani)	Aggressività	Osservare anomala presenza di minacce, vocalizzazioni e/o evitamento
		Scratching	Alta frequenza di scratching (grattamento) indice di elevato stress
	Comportamenti anormali	Bruxismo	Digrignare e/o battere i denti
		Self-grooming e/o hair-pulling	Eccessivo self-grooming e/o hair-pulling con possibile comparsa di aree prive di pelo e/o lesioni
		Ingestione di escrementi e urine	Coprofagia, urofagia nonostante una dieta bilanciata
		Rigurgito	Rigurgitare ripetutamente il cibo ingerito (in assenza di specifiche patologie)
		Autolesionismo	Mordersi le estremità del corpo (arti, coda) anche senza provocarsi lesioni
		Locomozione	Camminare ripetutamente avanti-indietro o in circolo su percorsi fissi ed arbitrari senza apparente motivo (pacing, circling)
	Stereotipie	Possibili segni neurologici	Postura anomala, movimenti atassici, tremori, crisi epilettiche (convulsioni/spasmi), atonia/ipertonia, paralisi, alterazioni dei movimenti oculari, nistagmo.
		Testa, torso	Muovere ripetutamente parti del corpo (es. testa, torso) avanti-indietro (rocking, saluting)
		Vocalizzazioni	Produzione di vocalizzazioni di allerta, paura, minaccia
Vocalizzazioni	Pelo	Pilo-erezione indice di dinamiche sociali (es. interazioni agonistiche) da monitorare	
Osservazioni libere	Prestazioni test sperimentali	Evidente calo nella prestazione nei test sperimentali quando questi comprendono comportamenti specifici ottenuti mediante addestramento con rinforzo positivo N.B. Può indicare uno stato di malessere fisico e/o psicologico	

Gli indicatori comprendono domini multipli da considerarsi congiuntamente per un'adeguata valutazione dello stato psico-fisico di macachi rhesus, e comprendono:

- condizioni generali osservabili in base all'aspetto fisico e a parametri fisiologici**, desumibili anche da osservazioni indirette dei segni ambientali lasciati dagli animali (es. sangue, feci, urine) le cui alterazioni possono essere indicative di patologie di rilievo clinico-veterinario in grado di compromettere la salute dell'animale e quindi il suo stato ottimale di benessere;
- comportamenti specie-specifici osservabili di tipo individuale**, di tipo sociale inter- ed intra-specifico, **comportamenti anormali** di tipo individuale (es. segni neurologici o stereotipie conseguenti a stress);
- osservazioni longitudinali di possibili alterazioni nelle performance ai test.**



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

3. Il monitoraggio del benessere psico-fisico degli animali sulla base dei parametri sopra riportati è effettuato quotidianamente, 7 giorni su 7, da personale qualificato (certificazione FELASA A/B per il lavoro con primati non-umani), consentendo l'adozione, qualora necessario, di tempestive misure correttive.

Di seguito, si riportano, per il semestre 7 settembre - 6 marzo 2023 oggetto del presente report, **tutte le attività svolte, gli eventi accidentali, gli interventi intrapresi e le terapie somministrate per promuovere, preservare o ripristinare le migliori condizioni possibili di benessere psico-fisico degli animali, e/o limitare eventuali effetti avversi sui due esemplari di Macaca mulatta attualmente in uso per il progetto.**

Periodo: 07 settembre 2022– 22 dicembre 2022.

a. Attività svolte ed eventi occorsi

Durante il periodo di riferimento gli addestramenti sono proseguiti costantemente per entrambi gli animali senza deviazioni significative rispetto al periodo precedente e già riportato nella settima relazione semestrale. In particolare, si è proseguito nell'addestramento di entrambi gli animali al compito con risposta manuale previsto dal protocollo sperimentale, operando come di consueto mediante il ricorso a metodologie basate sullo shaping delle risposte selezionate mediante rinforzo positivo. Anche in questo caso, l'utilizzo di tecniche comportamentali supportate da erogazione sistematica e computerizzata del rinforzatore ha consentito di ottenere un'ottima partecipazione di entrambi i soggetti a questa fase del compito sperimentale, raggiungendo percentuali di performance ottimali. L'alto tasso di successo, coincidente con un'elevata frequenza di erogazione del rinforzo positivo, ha consentito di mantenere un'ottima compliance degli animali alle procedure sperimentali, nonostante il progressivo incremento della complessità del compito.

b. Osservazioni relative al benessere psico-fisico

Le valutazioni quotidiane degli animali secondo le metodologie e i riferimenti sopra descritti sono state effettuate prima, durante e dopo le sessioni sperimentali, oltre che nel corso delle giornate di sospensione dell'addestramento (sabati e domeniche). Durante il periodo di riferimento, le rilevazioni non hanno evidenziato deviazioni significative dalla norma. Le procedure impiegate hanno consentito di ottenere dagli animali un comportamento collaborativo, come dimostrato anche dal fatto che non si sono mai verificati problemi nella procedura di salita autonoma in sedia. Gli animali si sono sempre alimentati in modo fisiologico, senza variazioni apprezzabili nella quantità o modalità di apporto di cibi solidi e liquidi a disposizione, né durante le giornate di addestramento né durante i giorni di sospensione delle attività. Gli esemplari intrattenevano inoltre rapporti reciproci positivi con i consueti e frequenti episodi di grooming, senza apparenti episodi di conflittualità. Entrambi gli animali hanno sempre mantenuto un comportamento attento, curioso ed esplorativo rispetto agli stimoli e ai nuovi arricchimenti proposti, non evidenziando segni di apatia, disinteresse o noia, ed interagendo in modo attivo con l'ambiente. Non sono state rilevate stereotipie o comportamenti anomali, suggestivi di stress o disagio. Considerati complessivamente, tutti gli indici, i comportamenti e le osservazioni sopra riportate hanno indicato il permanere di buone condizioni di benessere psico-fisico sia sul piano igienico-sanitario che sul piano psicologico e sociale.

c. Azioni correttive intraprese

Le condizioni di benessere psico-fisico dei due esemplari nel periodo preso in esame, in relazione alle attività svolte e agli eventi intercorsi, non hanno reso necessario il ricorso ad alcuna particolare azione correttiva.



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

Periodo: 23 dicembre 2022– 8 gennaio 2023.

a. Attività svolte ed eventi occorsi

Durante il periodo di sospensione natalizia è stata garantita la sorveglianza quotidiana degli animali, sono rimaste invariate le condizioni di stabulazione, l'accesso alla playroom e la disponibilità di arricchimenti, ma non sono state svolte attività sperimentali o di addestramento.

b. Osservazioni relative al benessere psico-fisico

Le valutazioni quotidiane degli animali secondo le metodologie e i riferimenti sopra descritti non hanno evidenziato deviazioni significative dalla norma.

c. Azioni correttive intraprese

Le condizioni di benessere psico-fisico dei due esemplari nel periodo preso in esame non hanno reso necessario il ricorso ad alcuna particolare azione correttiva.

Periodo: 09 gennaio 2023– 06 marzo 2023.

a. Attività svolte ed eventi occorsi

Nel periodo considerato si è ripreso l'addestramento e il consolidamento di entrambi i soggetti nei compiti sperimentali. Ad oggi entrambi gli animali eseguono il compito dicotomico, come da protocollo autorizzato, con performance superiori all'80% di accuratezza. Il soggetto dominante inoltre sta procedendo nelle fasi di addestramento al compito di scelta forzata previsto dal protocollo autorizzato.

b. Osservazioni relative al benessere psico-fisico

Le valutazioni quotidiane degli animali secondo le metodologie e i riferimenti sopra descritti, sono state effettuate prima, durante e dopo le sessioni sperimentali, oltre che nel corso delle giornate di sospensione dell'addestramento (sabati e domeniche). Durante il periodo di riferimento, le rilevazioni non hanno evidenziato deviazioni significative dalla norma. Le procedure si sono svolte gradualmente e progressivamente rispettando i temi di familiarizzazione e apprendimento dei compiti di ciascun soggetto. Questo approccio ha consentito agli animali di mantenere un comportamento positivo e collaborativo, dimostrato anche dal fatto che non si sono mai verificati problemi nella procedura di salita autonoma in sedia. I soggetti hanno intrattenuto rapporti reciproci positivi con i consueti e frequenti episodi di grooming, senza episodi di conflittualità.

c. Azioni correttive intraprese

Le condizioni di benessere psico-fisico dei due esemplari nel periodo preso in esame, in relazione alle attività svolte e agli eventi intercorsi, non hanno subito variazioni significative. I soggetti sono sempre rimasti in condizioni di stabulazione di coppia, senza segni di aggressività reciproca, con la consueta dotazione e rotazione di arricchimenti ambientali.



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

Parma, 07/03/2023

Il responsabile scientifico del progetto

Il veterinario Designato

Il responsabile dell'esecuzione
degli esperimenti

Il responsabile del benessere animale

Valutazione sullo stato di benessere dei soggetti sperimentali e considerazioni generali sull'andamento del progetto “Meccanismi anatomo-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 membri del personale dedicato al progetto.

La visita è stata effettuata il **21 febbraio 2023**. Rispetto alla precedente visita effettuata il 1 settembre 2022 non ho constatato rilevanti novità riguardanti la stabulazione degli individui. È stata introdotta una nuova procedura di training, che qui di seguito metterò in risalto. Per il resto ripeterò quanto già scritto precedentemente, dato che il livello di attenzione al benessere dei soggetti sperimentali, e il grado di collaborazione tra sperimentatori e soggetti sperimentali, sono rimasti immutati.

Questa relazione riguarda le procedure compiute sui due maschi (di età circa 9 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 procedure principali riguardano l'uso di un joystick per segnalare il tipo di risposta a stimoli visivi, che avvengono mediante training a rinforzo positivo, come è tradizione consolidata di questo team di ricerca.

La mia valutazione utilizza, come sempre, 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, e ribadisce quanto affermato in precedenza.

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. Il modello animale si rende indispensabile per caratterizzare il substrato neurale relativo alla risposta di stimoli visivi, un dato attualmente non rilevabile nella specie umana in maniera non invasiva. Metodi relativamente non invasivi, quali risonanza magnetica, non consentirebbero di ottenere le informazioni necessarie allo svolgimento del progetto. 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, repliche convincenti di tali risultati e un buon livello di riproducibilità. È anche importante sottolineare che in questo tipo di studi l'unità statistica non è rappresentata dal soggetto 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. Al momento della mia visita in gabbia c’era solo Larry (il dominante), perché Alan era impegnato nella sessione di training con il manipolandum. Larry mostrava leggera stereotipia, dovuta molto probabilmente all’attesa di potere anche lui andare a partecipare alla sessione di lavoro. Inoltre, era in mia presenza e del Veterinario Designato, e ciò comportava un certo nervosismo. Durante la mia osservazione il soggetto non si è mai toccato l’impianto ferma testa. Mi è stato però riferito che ciò accade, ma i ricercatori che seguono il training dei due individui ispezionano giornalmente lo stato della cute circostante al ferma testae, se necessario intervengono, per pulirla. Detto questo, non si è mai verificato un caso nel quale si fosse dovuto intervenire in maniera significativa.

Ribadisco che il soggetto che ho osservato, in generale, mostrava un’atteggiamento positivo verso tecnici e ricercatori: assenza di stress o paura, e accettazione di cibo dalle loro mani. In particolare, ho notato una grande maestria e conoscenza delle dinamiche sociali da parte del tecnico che si occupa del loro mantenimento.

Come osservato precedentemente, le dimensioni delle gabbie sono a norma, gli animali hanno spazio per muoversi allungando gli arti, saltare e arrampicarsi. Sono rimasto positivamente colpito dall’utilizzo 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. Gli 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 cosparsa di miele e semi; iv) bicchierini di plastica con frullato congelato; v) contenitori cilindrici di plastica con dentro tappi di plastica che vengono estratti; vi) palle di plastica forate, con dentro semi e altri premi che i macachi devono estrarre; vii) cerchi da gioco sospesi dal tetto della gabbia (cerchi tipo hula-hoop) Questi arricchimenti, aggiuntivi rispetto a quelli fissi e strutturali, sono alternati tra gabbie e presentati agli animali tre volte alla settimana.

Come osservato nella mia ultima visita, Larry e Alan utilizzano una “playroom” (una gabbia più larga delle gabbie normalmente utilizzate), dedicata esclusivamente all’uso di arricchimenti, ma non di tipo alimentare. Tale playroom viene messa a disposizione tutti i pomeriggi, dal primo pomeriggio alla sera. Per il riposo notturno i due macachi ritornano nella loro gabbia.

In generale, ribadisco la sensazione di grande tranquillità mostrata dai due soggetti sperimentali.

Affinamento delle procedure sperimentali (“Refinement”):

Ho quindi assistito a una sessione di addestramento all’utilizzo di un manipolandum, per indicare presenza/assenza di stimolo visivo. La sessione ha visto la partecipazione di Larry, il maschio dominante.

Il tutto avviene nel più completo silenzio, gli unici che interagiscono direttamente con il soggetto sperimentale sono tre ricercatori che Larry conosce molto bene. L’individuo siede sulla sedia, e spontaneamente mette la testa in posizione per essere fissata. A ogni passaggio viene ricompensato sia con succo di frutta, che con rassicurazioni vocali. Una volta fissato, viene messo di fronte a un grande schermo, e il suo compito sarà quello di indicare la presenza o meno di uno stimolo visivo (l’immagine di un viso di scimmia). A ogni risposta corretta Larry viene ricompensato da un po’ di succo di frutta (deve essere ananas). Viene anche registrato il movimento oculare.

Alcuni elementi acquisiti durante la sessione sperimentale:

- i) Il soggetto appare molto calmo, non ho rilevato segni di insofferenza: non vocalizza, non mostra espressioni facciali di disagio, non cerca di liberarsi, ma nemmeno appare apatico.
- ii) Si fa fissare la testa rimanendo immobile e prende il premio alimentare con calma e determinazione. Se protesta (succede molto raramente), si aspetta che si calmi e gli si chiede di nuovo di porgere la testa per il fissaggio
- iii) La registrazione di movimenti oculari avviene in maniera non invasiva, mediante l'uso di una telecamera a raggi infrarossi.
- iv) L'animale non cerca di girarsi su se stesso, e indica lui stesso, mediante movimenti convenzionati degli arti, se vuole smettere e poi riprendere la sessione di addestramento. Durante il test vero e proprio è molto attento, fermo e focalizzato.
- v) La percentuale di successo nel task è segno di una condizione di benessere adeguata. La sessione viene interrotta quando questa percentuale diminuisce: segno di stanchezza o disinteresse nel task. La percentuale di successo non è stata mai sotto il 90% mentre ero lì.
- vi) Nessun task viene fatto senza la completa e spontanea partecipazione del soggetto sperimentale.
- vii) Finita la sessione, l'animale viene liberato del ferma testa, a quel punto indica se vuole rimanere per la ricompensa finale, oppure ritornare in gabbia (girandosi e fissando la porta di ingresso della stanza).
- viii) Ancora sulla sedia, prende frutta, pezzi di banana, kiwi e mela (sbucciata). A ogni boccone viene anche ricompensato vocalmente.
- ix) Viene quindi riportato in stabulario seduto sulla sedia su un carrello.

Ogni sessione dura circa 45-50 minuti e viene condotta giornalmente.

Il senso di fiducia degli animali verso gli addestratori, e la mancanza di paura e frustrazione, continuano a essere elementi essenziali per la riuscita dell'addestramento. L'individuo sperimentale è in controllo della procedura e lui stesso determina i tempi della sessione.

Ribadisco che 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 di nuovo il tecnico che si occupa del mantenimento dei macachi, e il ricercatore responsabile delle procedure di training e calibrazione dell'occhio. Inoltre ho intervistato il veterinario designato, e le due ricercatrici-dottorande che si occupano giornalmente dell'addestramento di Larry e Alan.

Come già detto, è 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 di nuovo favorevolmente impressionato da questi incontri. Ho ancora riscontrato tra gli intervistati un significativo accordo di motivazioni, atteggiamento e attenzione verso gli

animali sperimentali. Ho avuto l'impressione di nuovo di un gruppo molto compatto per quanto riguarda sia il benessere degli animali coinvolti che per la qualità del dato sperimentale e del progetto in generale. I ricercatori senior raccomandano caldamente alle giovani ricercatrici di passare tempo con Larry e Alan al pomeriggio quando sono nella playroom.

Quindi, ribadisco:

- Gli intervistati hanno sottolineato più volte l'importanza di avere un rapporto personale con le scimme. 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.
- 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.
- Mi è stato riferito un ottimo livello di comunicazione tra il tecnico di laboratorio, il veterinario designato 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 e veterinario designato per questioni che riguardano il benessere dei soggetti sperimentali.
- Il veterinario designato non ha rilevato nessun problema o fonte di preoccupazione in relazione alla salute dei soggetti sperimentali. Le ferite relative agli impianti sono pulite e, nel caso in cui gli animali le toccano, vengono giornalmente controllate. Dal punto di vista comportamentale ha affermato la sua piena fiducia nello spirito di osservazione etologica del tecnico addetto al loro mantenimento, per individuare eventuali problemi di tipo sociale.
- Ho notato con piacere parlando con le due dottorande un atteggiamento compassionevole e onesto in relazione allo stato di benessere dei soggetti sperimentali. Ho rilevato la volontà al mettersi continuamente in discussione dal punto di vista etico-morale, ma mantenendo sempre chiaro il fine e lo scopo del progetto. Hanno dato prova di aver sviluppato un forte attaccamento verso i due soggetti sperimentali, e una apprezzamento della complessità delle interazione fra loro e i macachi. Le due giovani ricercatrici al pomeriggio passano tempo Larry e Alan al di fuori delle necessità del protocollo del progetto.

RAPPORTO DANNO/BENEFICIO

Ribadisco che 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.

Le considerazioni espresse in questa relazione portano a una favorevole valutazione del rapporto danno/beneficio, 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.

Confermo che 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).

Confermo quindi che lo standard etico mantenuto nel progetto “Light-Up” è 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, 1/03/2023



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

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 anatomo-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 evidenzia 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 ognisingola attività o stimolazione o terapia ai quali sono sottoposti"*;

viste inoltre le indicazioni di azioni integrative da intraprendere per fattispecie che non compromettono il benessere degli animali ai sensi dell'art. 30, comma 2, prescritte in sede di ispezione ministeriale non programmata effettuata in data 26/05/2021 presso la sezione primati non umani dello stabulario unico di Ateneo dell'Università degli Studi di Parma, Dipartimento di Medicina e Chirurgia;

si inviano in calce, ad accompagnamento della relazione semestrale prevista dalla autorizzazione in oggetto, i risultati della valutazione quantitativa quotidiana della disponibilità degli animali a partecipare spontaneamente alle attività sperimentali autorizzate (su una scala da 1 a 3 punti; 1 = l'animale rifiuta di collaborare; 3 = l'animale è pienamente collaborante).

Il responsabile scientifico del progetto

Il responsabile dell'esecuzione
degli esperimenti

Il veterinario designato

Il responsabile del
benessere 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

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

07 marzo 2023

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 7 settembre 2022 e il 6 marzo 2023.

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 proposto 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.

Sono esclusi dalla valutazione quantitativa quotidiana le giornate in cui non è stato effettuato l'addestramento, come sabati e domeniche, festività o giornate di interruzione per ragioni tecniche o accademiche, e il periodo compreso tra il 23 dicembre 2022 e l' 8 gennaio 2023, corrispondente alla pausa natalizia.



UNIVERSITÀ DI PARMA

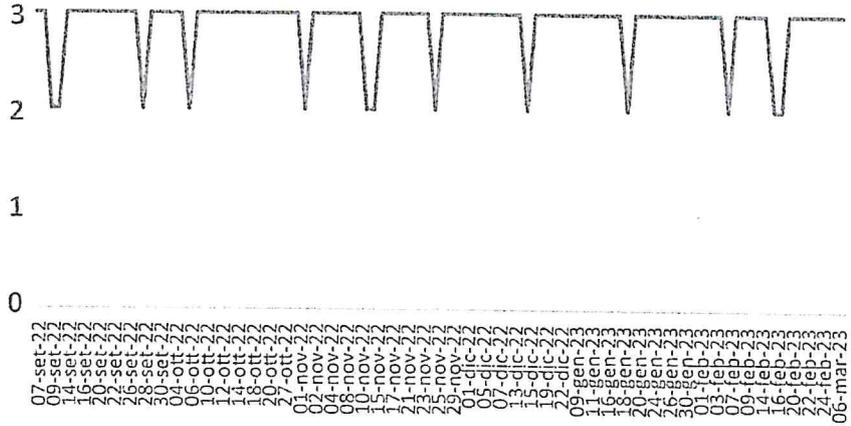
DIPARTIMENTO DI MEDICINA E CHIRURGIA

Via Gramsci, 14 - 43126 Parma

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

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

Alan Performance



Larry Performance

