



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

OGGETTO: Quinta 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 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 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: è a tal proposito 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,



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

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.

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	Verificarne l'occorrenza ed eventuali cambiamenti
	Comportamenti sociali intra-specifici	Affiliazione (contatto e/o	Osservarne l'occorrenza ed eventuali cambiamenti



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

	per verificare la compatibilità delle coppie di animali e quindi migliorarne la gestione	prossimità fisica con il partner)	
		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 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:

- a) 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



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

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;

- b) **comportamenti specie-specifici osservabili di tipo individuale**, di tipo sociale inter- ed intra-specifico, **comportamenti anomali** di tipo individuale (es. segni neurologici o stereotipie conseguenti a stress);
- c) **osservazioni longitudinali di possibili alterazioni nelle performance ai test.**

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 8 Marzo 2021 - 7 Settembre 2021 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: 8 marzo 2021– 15 marzo 2021.

a. Attività svolte ed eventi occorsi

Dopo una temporanea sospensione delle procedure di addestramento a causa della colluttazione tra i due coabitanti e alla somministrazione di SUPRELORIN-IMPIANTI (9.4 mg) al soggetto subordinato della coppia avvenuta in data 25 febbraio 2021 (vedi relazione precedente), l'8 marzo 2021 sono ricominciate regolarmente le procedure di addestramento, lungamente sospese a seguito dell'ordinanza del Consiglio di Stato, prima, e della colluttazione riportata nella relazione precedente, poi. Si è pertanto ricominciato l'addestramento con una fase di avvicinamento allo sperimentatore e spostamento in varie zone della gabbia. Gli animali, durante questa fase di addestramento, passavano dalla play-room alla loro home-cage agevolmente e senza esitazione, grazie all'ausilio di una procedura consolidata di clicker-training comprendente l'offerta di frutta fresca, ortaggi, succo di frutta e cibo ad alto contenuto energetico come uvetta, arachidi, anacardi e datteri come ricompensa. Questa fase, essenziale per abituare i soggetti a farsi temporaneamente separare, è stata propedeutica ad una seconda fase in cui si è presentata la sedia per primati attraverso cui gli animali vengono trasportati poi all'interno del laboratorio. L'addestramento è stato eseguito per ogni singolo animale.

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. 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 frequenti episodi di grooming, in particolare del subordinato (Alan - ID:1402269) nei confronti del soggetto dominante (Larry - ID 140403599), suggerendo una buona efficacia del trattamento adottato con Suprelorin nel ristabilire un migliore equilibrio nella relazione tra i due animali. Il soggetto dominante avvicinava spontaneamente gli sperimentatori e il personale per ricevere cibo direttamente, mentre il subordinato si manteneva a distanza, indicando così la



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

presenza di una relazione sociale e gerarchica appropriata e stabile. 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 non hanno reso necessaria l'adozione di alcuna azione correttiva. L'addestramento è stato reso ulteriormente sistematico anche in relazione alla necessità di addestrare sempre prima il soggetto dominante, per ridurre al minimo possibili situazioni di competizione legate alla disponibilità di rinforzi positivi molto appetibili durante le fasi di addestramento.

Periodo: 16 marzo 2021– 5 aprile 2021.

a. Attività svolte ed eventi occorsi

In data 16 marzo 2021 si è proceduto con la fase successiva dell'addestramento in cui si è presentata nuovamente la sedia per primati dopo molti mesi di sospensione. Dopo un attimo di esitazione, gli animali si sono avvicinati alla sedia e seduti correttamente sin dal primo giorno. Il comportamento di salita in sedia in maniera autonoma da parte di entrambi gli animali, a cui erano stati addestrati prima della sospensione delle attività sperimentali da parte del consiglio di stato, si è rivelato ben acquisito e consolidato. Nei giorni successivi è stata gradualmente ridotta l'apertura posteriore della sedia senza, tuttavia, chiuderla del tutto, e il comportamento degli animali è rimasto pressoché invariato.

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.

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, si sono rivelate ottimali e non hanno quindi reso necessario il ricorso ad alcuna particolare azione correttiva.

Periodo: 6 aprile 2021– 26 aprile 2021.

a. Attività svolte ed eventi occorsi

Dopo una graduale fase di abituazione alla chiusura della paratia posteriore della sedia nello stabulario, entrambi gli animali in data 6 aprile 2021 sono stati definitivamente chiusi all'interno della sedia per primati. Gli animali hanno mostrato di tollerare la condizione di transitoria, maggiore restrizione senza particolari comportamenti di opposizione o tentativi di fuga, ricevendo e mangiando il cibo loro offerto quasi senza notare l'impossibilità di rientrare a loro discrezione nella gabbia. Nei giorni successivi non sono state



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

introdotte ulteriori variabili (brevi pause, poi piccoli spostamenti dello sperimentatore, ecc) per restituire all'animale la consapevolezza di non poter rientrare in gabbia spontaneamente, ma associando tali momenti alla consumazione di rinforzatori particolarmente graditi: il comportamento degli animali è rimasto positivo e invariato.

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.

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, si sono rivelate ottimali e non hanno quindi reso necessario il ricorso ad alcuna particolare azione correttiva.

Periodo: 27 aprile 2021– 7 giugno 2021.

a. Attività svolte ed eventi occorsi

In data 27 aprile è stata introdotta una nuova sedia per primati, realizzata in accordo con le raccomandazioni del NC3Rs di Londra e ordinata mesi prima. Più robusta, confortevole per gli animali, e più agevole da usare per il personale è stata acquisita allo scopo di migliorare le condizioni lavorative sia degli animali sia degli sperimentatori essendo appositamente realizzata per migliorare le procedure di addestramento senza collari. La nuova sedia è stata introdotta alla coppia di animali mantenendo invariate tutte le altre condizioni, variabili e procedure. Ciò ha comportato una prevedibile, breve regressione del comportamento per alcuni giorni in entrambi gli animali, i quali però volontariamente si sono fatti nuovamente chiudere all'interno della nuova sedia in data 5 maggio 2021. Da questo momento in poi non sono state introdotte altre variazioni e l'addestramento è proseguito con l'obiettivo di aumentare progressivamente i tempi di permanenza degli animali nella sedia, rendendo meglio tollerabili le successive fasi in cui la sedia deve essere staccata dalla loro home-cage e gli animali trasportati in laboratorio. Infine, allo scopo di permettere all'animale di prevedere le fasi successive del training e migliorando così la sua performance, nei giorni finali di questa fase di addestramento si è proceduto a simulare il distacco della sedia dalla home-cage, rimanendo comunque all'interno dello stabulario.

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.

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, si sono rivelate ottimali e non hanno quindi 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: 8 giugno 2021– 6 luglio 2021.

a. Attività svolte ed eventi occorsi

Sulla scorta del buon andamento dell'addestramento, in data 8 giugno 2021 si è proceduto con il distacco della sedia per la prima volta dalla home-cage. Dopo un iniziale momento di esitazione all'accettazione e di cibo, associato a comportamenti di agitazione nella sedia (come girarsi verso la gabbia senza muoversi, o spingere con le mani contro lo sportello posteriore), entrambi gli animali si sono calmati e hanno accettato il cibo offerto dallo sperimentatore (selezionato tra quelli preferiti da ciascun animale). Nei giorni immediatamente successivi gli animali si sono prevedibilmente rifiutati di salire in sedia: come da prassi, si è proceduto a riprendere dalle fasi di addestramento precedenti, riconquistando rapidamente la fiducia degli animali fino a ricreare le condizioni per separare la sedia dalla gabbia, in data 7 luglio 2021, quando gli animali sono stati entrambi nuovamente separati dalla home-cage sulla sedia per primati.

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.

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, si sono rivelate ottimali e non hanno quindi reso necessario il ricorso ad alcuna particolare azione correttiva, ad eccezione della predetta ripresa di fasi di addestramento già consolidate in precedenza per consentire il passaggio alle fasi successive con la collaborazione degli animali.

Periodo: 7 luglio 2021– 29 luglio 2021.

a. Attività svolte ed eventi occorsi

A seguito della consulenza richiesta ed ottenuta da altri centri primatologici con esperienze di addestramento analoghe con grandi numeri di animali, dopo aver riportato il comportamento degli animali a livelli ottimali di performance in data 7 luglio 2021 si è proceduto nuovamente al distacco della sedia per primati dalla home-cage, ma questa volta trasportando entrambi gli animali direttamente in laboratorio, dove hanno ricevuto i rinforzatori positivi a ciascuno più graditi: in questo modo si è cercato di ovviare alla naturale tendenza degli animali di cercare di ritornare nella home-cage, non visibile nell'ambiente nuovo del laboratorio. Durante tutto il tragitto verso il laboratorio (una ventina di metri lungo il corridoio), lo sperimentatore ha continuato ad offrire frutta fresca, ortaggi e cibo ad alto contenuto energetico come datteri, arachidi e uvetta. Nei giorni successivi entrambi gli animali hanno ripetuto tutte le fasi dell'addestramento e sono stati portati regolarmente in laboratorio, dove progressivamente si è proceduto ad aprire in sicurezza la parte superiore della sedia, che consente la fuoriuscita della testa mentre gli animali sono seduti comodamente. Successivamente, è stato introdotto il fissaggio del blocco in plastica (da questo momento in poi chiamato "neck-plate") che impedisce all'animale di ritrarre la testa all'interno della sedia, consentendo il movimento della testa e del corpo in ogni altra direzione. Questa fase, come descritto approfonditamente nel protocollo autorizzato, è propedeutica alle fasi sperimentali successive può implicare tempistiche differenti a seconda degli animali. In data 29 luglio 2021 Alan, il soggetto subordinato della coppia, aveva già accettato del tutto la parziale restrizione offrendo autonomamente la testa non appena



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

arrivava in laboratorio, mentre Larry, il soggetto dominante della coppia, accettava di sporgere la testa attraverso l'apertura della sedia ma non permetteva allo sperimentatore di chiudere del tutto la gorgiera, imponendo tempi di attesa più lunghi per mantenerne l'indispensabile collaborazione.

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.

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 intersorsi, si sono rivelate ottimali e non hanno quindi reso necessario il ricorso ad alcuna particolare azione correttiva.

Periodo: 30 luglio 2021– 31 agosto 2021.

a. Attività svolte ed eventi occorsi

In questo periodo le attività di addestramento sono state interrotte poiché, come da comunicazioni effettuate al Ministero secondo quanto prescritto dall'Autorizzazione Ministeriale, in data 3 agosto 2021 si è proceduto all'impianto del sistema ferma-testa nel soggetto subordinato (Alan) e il 5 agosto 2021 il sistema ferma-testa è stato impiantato nel soggetto dominante (Larry). Gli animali sono stati sottoposti a terapia post-operatoria come da indicazioni da parte del veterinario designato e rispettando le procedure descritte in dettaglio nel protocollo autorizzato, comprendenti la somministrazione di antibiotici ad ampio spettro, antinfiammatori e analgesici. Gli animali non sono stati sottoposti ad ulteriori fasi di addestramento fino al 31 agosto 2021, e la data per gli interventi è stata appositamente scelta per coincidere con il periodo di sospensione estiva delle attività che poteva offrire le migliori condizioni per il completo recupero degli animali.

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), sia durante il decorso post-operatorio sia nei giorni festivi. Durante il periodo di riferimento, le rilevazioni 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, in relazione alle attività svolte e agli eventi intersorsi, si sono rivelate ottimali e non hanno quindi reso necessario il ricorso ad alcuna particolare azione correttiva eccedente rispetto a quelle previste nel protocollo autorizzato per le procedure svolte.

Periodo: 1 settembre 2021 – 7 settembre 2021.

a. Attività svolte ed eventi occorsi



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

In data 1 settembre 2021 si è ripresa l'attività di addestramento. Entrambi gli animali sono saliti in sedia e sono stati riportati in laboratorio. Ad oggi le fasi di addestramento non hanno subito variazioni rispetto all'ultima fase di addestramento eseguita durante il mese di luglio e prima delle chirurgie, dimostrando un buon consolidamento e accettazione delle tappe sin qui effettuate.

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.

c. Osservazioni relative al benessere psico-fisico

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

Parma, 7/09/2021

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

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 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 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 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 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 [redacted], e anche il [redacted] 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 dal 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 cosparsa 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 spiegata 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 privazione 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 [redacted] (in persona) che con il [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 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.
- 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

neurale 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.



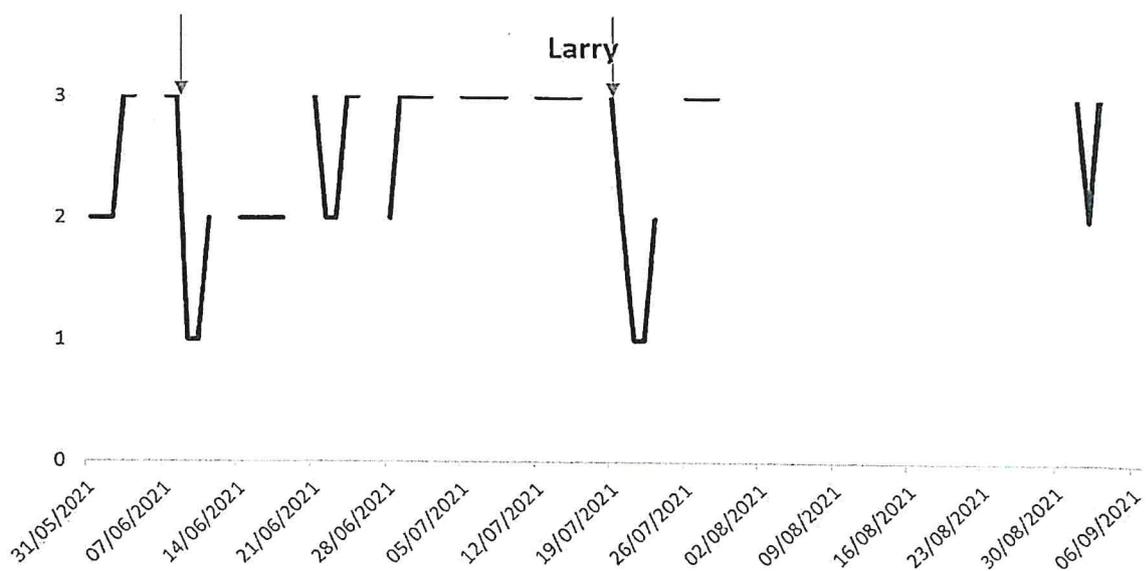
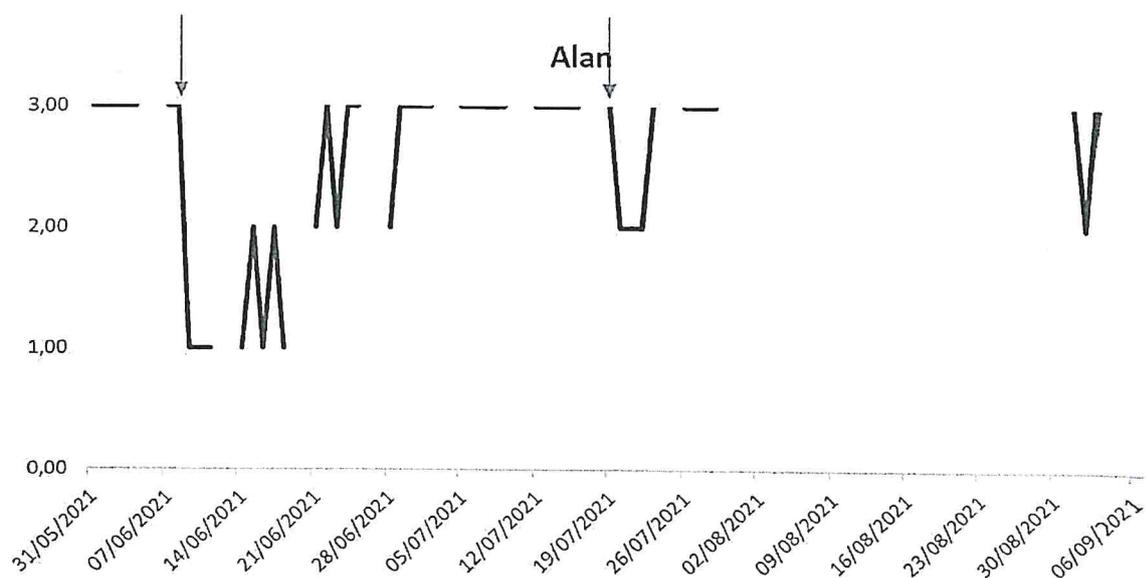
UNIVERSITÀ DI PARMA

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