



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: Relazione semestrale sulle condizioni di stress dei macachi e misure intraprese per limitare gli effetti avversi – notifica all'Ufficio 6 DGSAF.

In relazione 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 invia quanto in oggetto.

- 1) I primi due macachi femmina (*Macaca mulatta*) inizialmente reclutati per il progetto sono stati consegnati in data 7 marzo 2019 presso lo stabilimento utilizzatore dell'Università di Parma (Aut. Min. n. 10/2019-UT del 19/03/2019). Gli animali sono stati sempre stabulati in coppia, con contatto visivo e acustico con tutte le altre scimmie dello stabulario. Il fornitore autorizzato () ha garantito la compatibilità della coppia, proveniente da un gruppo più numeroso, separando i due animali dal resto del gruppo per almeno due settimane prima della consegna come da richiesta del responsabile dell'esecuzione degli esperimenti, . Ciò minimizza le possibilità di lotta o conflitto tra gli animali, ottimizzando quindi le condizioni di convivenza prima dell'arrivo in stabulario e riducendo al minimo ogni forma di stress per gli animali. Nessun conflitto rilevante è mai stato osservato nel periodo di permanenza negli stabulari di Parma. Gli animali hanno avuto costantemente a disposizione una vasta gamma di arricchimenti ambientali e alimentari, tra cui cibo di vario genere, corde, giocattoli di legno, accesso giornaliero a televisione con scene naturalistiche e musica. Gli arricchimenti sono sempre stati a disposizione degli animali, in base al programma di rotazione gestito dal tecnico stabularista (in possesso di certificazione FELASA A e B). Temperatura e umidità sono sempre state controllate e mantenute entro un range standard di variazione con media 26°C, grazie ad un sistema di controllo automatizzato, e l'illuminazione naturale è garantita da ampie finestre (oltre che dal sistema di illuminazione artificiale con timer di spegnimento notturno).
- 2) I due esemplari hanno mostrato diarrea sin dall'arrivo in stabulario. Questo può essere fisiologico a seguito del trasporto e/o al cambiamento del contesto ambientale. La sintomatologia scopre tipicamente nei primi giorni successivi all'arrivo, ma in questo caso non si è osservato un miglioramento apprezzabile nemmeno con il passare del tempo, nonostante diversi giorni di dieta a base di cibo secco (senza frutta e verdura, solo pellet e acqua *ad libitum*) e fermenti lattici forniti



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 riequilibrare la flora batterica (11-24/03/2019: *Diatab*[®], *Florentero Act*[®], *Carobin PET ultra*[®]). Il 21/03/2019 è stato eseguito un primo esame delle feci ed entrambe le scimmie sono risultate positive a *E. coli emoliticus*, *Streptococcus sp.* e *E. coli fergusonii*. Sulla base dell'antibiogramma fatto in concomitanza, gli animali sono stati trattati con Amoxicillina e acido Clavulanico (*Synulox*[®] 50 mg, PO), dal 28/03/2019 al 12/04/2019. Alla terapia non è seguito alcun miglioramento evidente. In seguito alla consultazione di altri veterinari che esercitano presso il Biomedical Primate Research Center – BPRC - con sede in Olanda - è stato somministrato Enrofloxacin (Baytril[®]) dal 23/04/2019 al 27/04/2019. Anche in questo caso, non si è registrato nessun miglioramento. Dal 1/05/2019 al 7/05/2019 i due animali sono stati trattati con *Cefazolina* come da antibiogramma precedentemente ottenuto, anche in questo caso senza miglioramenti significativi.

Il 6/05/2019 è stato nuovamente eseguito un esame delle feci. Entrambe le scimmie risultavano ancora positive a *E. coli emoliticus*, tuttavia l'antibiogramma indicava efficacia di Amoxicillina e Acido Clavulanico per uno solo dei due animali, mentre l'altro era divenuto resistente. Per verificare se il batterio potesse essere causalmente legato alla sintomatologia, il 9 maggio è stato effettuato un esame delle feci a tutti gli animali dello stabulario. I risultati, ricevuti il 14/05/2019, hanno indicato che 4 scimmie (senza alcun segno clinico di diarrea) erano positive a *E. coli emoliticus* ed altri patogeni minori ubiquitari, suggerendo che questo patogeno non fosse causalmente legato alla diarrea.

In base alle raccomandazioni dei veterinari del BPRC, il 27 Maggio sono stati effettuati tamponi anali per prelevare campioni direttamente dal retto delle due scimmie con diarrea e sono stati inviati al BPRC stesso per verificare la presenza di *Shigella spp.*, *Yersinia spp.*, *Salmonella spp.* and *Campylobacter spp.* Il risultato di laboratorio, pervenuto l'11 giugno, indicava positività per *Campylobacter*, in entrambi gli animali, sensibile all'eritromicina. Siccome l'eritromicina in Italia è disponibile soltanto per somministrazione locale, è stato somministrato un antibiotico analogo, Azitromicina (*Zitromax*[®]). Anche in questo caso gli animali non hanno mostrato miglioramenti.

Il quadro clinico gastrointestinale, già presente all'arrivo dei macachi a Parma il 7 Marzo 2019, non ha mai compromesso significativamente le funzioni organiche maggiori, permettendo ad entrambi gli animali di aumentare di peso (circa 500-600 gr ciascuna), di mantenere condizioni psicofisiologiche per il resto ottimali, e normali comportamenti specie-specifici. Tuttavia, in relazione alle loro condizioni di salute non ottimali, gli animali non sono mai entrati in alcuna procedura.

- 3) Data la resistenza a tutti i trattamenti somministrati, è stata ipotizzata la diagnosi di diarrea idiopatica cronica, che rendeva conseguentemente gli animali non idonei ad essere impiegati nel progetto di ricerca. Per supportare tale ipotesi diagnostica, il 18 giugno gli animali sono stati sottoposti ad un nuovo esame delle feci e prelievo di sangue venoso per 1) esami microbiologici e parassitologici tramite l'IZSLER (Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e Emilia-Romagna), 2) emocoltura presso il laboratorio del Dipartimento di Scienze Veterinarie dell'Università di Parma, 3) test virologici al BPRC. I report di laboratorio, pervenuti il 24 Giugno, non hanno rivelato nessun patogeno di rilievo nei campioni, supportando così l'ipotesi diagnostica di Diarrea Idiopatica Refrattaria a tutti i trattamenti intrapresi.



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

Di conseguenza, gli animali sono stati restituiti al fornitore e due ulteriori animali sono stati importati in sostituzione dei precedenti.

- 4) Informato l'Ufficio 6 del Ministero della Salute e con il consenso del veterinario designato, del responsabile del benessere animale dell'Università di Parma e alla presenza del veterinario AUSL (), il fornitore autorizzato () ha provveduto a sostituire i primi due animali con due maschi sani il giorno 8 agosto 2019, prendendo in consegna i due esemplari femmina e consegnando a Parma i due esemplari maschi, denominanti Larry e Alan (ID: 1404035; ID:1402269).
- 5) I due macachi maschi sono stabulati in coppia dal loro arrivo (il fornitore ha garantito l'equilibrio della gerarchia di dominanza della coppia che era stata formata dall'Aprile 2019). Sono al momento in ottime condizioni psicofisiche, appaiono una coppia ben equilibrata e non mostrano segni di stress o comportamenti di aggressività l'uno verso l'altro. Si trovano in fase di ambientamento all'interno dello stabulario senza essere coinvolti in alcuna procedura. A breve si prevede di cominciare con l'addestramento comportamentale come da protocollo.
- 6) Le condizioni di stabulazione e di accesso ad arricchimenti ambientali e alimentari riportati al punto 1 permangono validi e immutati anche per i nuovi esemplari maschi (Larry e Alan).

Parma, 06/09/2019

Il responsabile scientifico
del progetto

Il responsabile dell'esecuzione
degli esperimenti

Il Veterinario designato

Il Responsabile del
Benessere Animale