



# 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

31 gennaio 2022

**OGGETTO: Supplemento alla sesta 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, sei 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 raggomitolata)
	Comportamenti sociali inter-specifici (verso gli umani)	Affiliazione	Comportamenti amichevoli (es. vocalizzazioni, espressioni facciali, ricerca di prossimità)
		Aggressività	Osservare anomala presenza di minacce, vocalizzazioni e/o evitamento
	Comportamenti anormali	Scratching	Alta frequenza di scratching (grattamento) indice di elevato stress
		Bruxismo	Digignare 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	Vocalizzazioni	Produzione di vocalizzazioni di allerta, paura, minaccia	
	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 quadrimestre 8 Settembre 2021 - 8 Gennaio 2022 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 aversivi sui due esemplari di Macaca mulatta attualmente in uso per il progetto.**

## **Periodo: 8 settembre 2021– 8 novembre 2021.**

### a. Attività svolte ed eventi occorsi

Come già riportato nella precedente relazione, gli addestramenti sono ripresi per entrambi gli animali in data 1 settembre senza deviazioni significative rispetto al periodo precedente. Alan, il soggetto subordinato della coppia, aveva già accettato del tutto la chiusura della gorgiera mentre Larry, il soggetto dominante della coppia, accettava di sporgere la testa dall'apertura per ottenere cibo ma non ancora la chiusura completa, fino al 15 settembre 2021: da questo momento in poi non si sono più verificate significative regressioni riguardo questo aspetto dell'addestramento per tutto il successivo periodo di tempo considerato. L'addestramento di entrambi i soggetti a queste fasi del protocollo sperimentale è rimasto inalterato per consentire un consolidamento del comportamento. Il 29 settembre 2021 sono iniziate le brevi fasi di manipolazione della testa degli animali in sedia da parte dello sperimentatore, in modo da abituarli gradualmente alla situazione di transitoria restrizione del movimento della testa necessario per le successive fasi sperimentali, come da protocollo autorizzato. Questa procedura è proseguita per quasi un mese, assicurando la necessaria gradualità per poter essere ben tollerata dagli animali. In data 25 ottobre 2021, si è proceduto ad una breve sedazione in sedia degli animali allo scopo di adattare il ferma-testa al sistema di bloccaggio ancorato alla sedia: questa fase è fondamentale per garantire una corretta e comoda posizione di ogni singolo animale all'interno della sedia, la quale deve essere adattata in base alle dimensioni del soggetto in esame. Nei giorni successivi, fino all'8 novembre 2021, sono proseguite le normali fasi di addestramento finora riportate 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 i consueti, 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 e disagio.~~



# 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

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.

## Periodo: 9 novembre 2021– 28 novembre 2021.

### a. Attività svolte ed eventi occorsi

Dopo la graduale fase di abitudine precedentemente descritta, entrambi gli animali sono stati posti in condizione di testa fissa in data 9 novembre 2021, per un periodo di tempo inizialmente inferiore ai 3 minuti, durante il quale è stato erogato succo di frutta attraverso l'apposita cannula per l'erogazione delle ricompense. Nei giorni successivi si è proceduto gradualmente ad allungare progressivamente i tempi di fissaggio della testa, aggiungendo all'erogazione di succo piccoli pezzi di cibo che l'animale poteva afferrare e mangiare autonomamente: la possibilità di esprimere comportamenti attivi consente, 1) di limitare lo stress eventualmente generato da queste prime fasi di ulteriore restrizione, 2) di assegnare una certa capacità di controllo e gestione della situazione all'animale, e 3) di mantenerne la disponibilità a collaborare fino a raggiungere tempi di permanenza a testa fissa sufficienti a consentire l'inizio dell'addestramento formale ai compiti comportamentali previsti dal protocollo (circa 30 minuti). Nessuno degli animali ha mostrato marcati segni di stress, come il rifiuto totale di collaborare o di accettare cibo e succo, il tentativo reiterato di ruotare il corpo o di aggressione verso lo sperimentatore. La gradualità dei vari passaggi e l'abitudine progressiva alle nuove situazioni di maggiore restrizione, sempre associata all'erogazione di rinforzatori positivi contingenti a comportamenti utili a consegnare all'animale il massimo senso di controllo possibile sulla situazione, hanno consentito di ottenere una ottimale tolleranza della transitoria restrizione al movimento della testa necessaria per procedere con le successive fasi sperimentali.

### 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. La graduale procedura che si è svolta nell'arco di 20 giorni lavorativi ha consentito di ottenere dagli animali un comportamento collaborativo, dimostrato anche dal fatto che non si sono mai verificati problemi nella procedura di salita autonoma in sedia in questo lasso di tempo. La personalizzazione della posizione della testa adattando la conformazione della sedia per primati al singolo animale come precedentemente descritto, ha permesso di garantire ai singoli soggetti una posizione corretta e comoda per l'espressione della più vasta gamma di comportamenti appetitivi e ingestivi anche nella condizione a testa fissa. Ciò ha contribuito alla progressione ottimale dell'addestramento alle varie fasi sperimentali senza particolari disagi per gli animali che non potessero essere controbilanciati da un accurato controllo dei rinforzatori più graditi in termini di quantità e qualità.

### 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: 29 novembre 2021– 21 dicembre 2021.**

### **a. Attività svolte ed eventi occorsi**

Il 29 novembre 2021 si è proceduto al primo giorno di addestramento al task comportamentale a testa fissa, consistente nella presentazione di uno stimolo visivo al centro del monitor attraverso il quale è stato possibile calibrare la posizione dell'occhio di ciascun soggetto all'inizio della sessione. Inizialmente, il compito consisteva semplicemente nel presentare uno stimolo e attendere che l'animale effettuasse un movimento saccadico diretto ad esso. A seguito di ciò, in maniera simultanea, veniva presentato un segnale acustico e l'erogazione della ricompensa. Il sistema di monitoraggio della posizione oculare basato sull'utilizzo di una telecamera a infrarossi, totalmente non invasiva, consentiva di automatizzare completamente la procedura, variando online i tempi connessi alle varie fasi di presentazione dello stimolo quali, attesa del comportamento, durata della fissazione ecc. Questo garantiva una perfetta contingenza tra risposte comportamentali ed erogazione del rinforzo. Una tale metodologia consente 1) di limitare al minimo l'interazione diretta con l'animale, offrendogli al contempo la migliore possibilità di controllo della situazione, nonché 2) di incrementare rapidamente il numero di occasioni di emissione di comportamenti rinforzati da parte di ciascun animale, minimizzando il numero di errori (che possono altrimenti generare frustrazione). Nel periodo preso in considerazione si è proceduto per entrambi gli animali ad allungare gradualmente i tempi di presentazione dello stimolo, variando le richieste del compito per avvicinarle ai requisiti sperimentali. Il 21 dicembre 2021, le prestazioni di entrambi gli animali all'esecuzione del compito di fissazione visiva erano molto buone raggiungendo percentuali di performance ben oltre l'80% di risposte corrette con i criteri progressivamente adattati nel corso delle settimane precedenti.

### **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 azione correttiva aggiuntiva oltre le normali prassi gestionali.

## **Periodo: 22 dicembre 2021– 9 gennaio 2022.**

### **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.



# 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, 31/01/2022

**Il responsabile dell'esecuzione degli esperimenti**

**Il veterinario designato**

**Il responsabile del benessere animale**