

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 del Dipartimento di Medicina e Chirurgia dell'Università di Parma, dove sono ospitati i soggetti sperimentali del progetto in esame, e ho condotto interviste in persona con membri del personale dedicato al progetto.

La visita è stata effettuata il **13 marzo 2024**. Rispetto alla precedente visita effettuata il 29 agosto 2023 non ho constatato rilevanti novità riguardanti la stabulazione e il livello di benessere degli individui interessati al progetto. La novità più rilevante è la presenza di una nuova responsabile della cura dei primati, della quale dirò di più in seguito. Per lo più però 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. Inoltre, il livello di comunicazione tra tutti i membri dello staff rimane molto soddisfacente.

Questa relazione riguarda le procedure compiute sui due maschi (di età circa 10 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.

Rispetto alla mia ultima visita, Alan ha ricevuto l'impianto degli elettrodi per registrazione semi-cronica il 25/09/2023, senza nessun tipo di conseguenza post-operatoria. Vi è stata una pausa del lavoro sperimentale a gennaio, dovuta ai lavori di ampliamento dei locali di stabulazione. Ciò non ha portato a nessuna conseguenza sull'attività di training e raccolta dati sui due macachi.

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 permetterebbero 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, 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 e procedure sperimentali (“Refinement”)

Ho visitato come sempre lo stabulario dove sono mantenuti i due soggetti sperimentali.

Durante la mia osservazione i due soggetti si sono costantemente puliti reciprocamente il pelo, e regnava una grande calma e rilassatezza. Larry, in particolare, era molto interessato ai documentari naturalistici trasmessi dalla televisione. La calma non era dovuta ad apatia, in quanto i due soggetti rispondevano agli stimoli. Ribadisco che i soggetti che ho osservato, in generale, mostravano un'atteggiamento positivo verso tecnici e ricercatori: assenza di stress o paura, e accettazione di cibo dalle loro mani. Durante la mia permanenza sono entrate tre ricercatrici per lavorare con altri soggetti; Larry e Alan sono rimasti calmi, senza dare segno di turbamento per la presenza delle ricercatrici. La nuova responsabile della loro cura si muoveva con attenzione e i macachi sembravano accettare la sua presenza.

Come osservato precedentemente, le dimensioni delle gabbie sono a norma, gli animali hanno spazio per muoversi allungando gli arti, saltare e arrampicarsi.

Gli arricchimenti ambientali vengono alternati nelle diverse gabbie, e sono quelli già osservati in precedenza. Come già notato precedentemente, anche il nuovo tecnico di laboratorio che si occupa di questo aspetto è una persona di grande esperienza, motivazione e creatività. Gli arricchimenti includono: i) scatole 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 plastiche 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 pomeriggio alla sera. Per il riposo notturno i due macachi ritornano nella loro gabbia.

In generale, ribadisco che non ho notato evidenti segni di malessere o la presenza di comportamenti anomali.

Al momento continuano le loro sessioni di registrazioni relative ai movimenti oculari, e training a usare il joystick. In particolare, Larry preferisce lavorare con il joystick, mentre Alan preferisce lavorare con le immagini.

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 il nuovo tecnico che si occupa del mantenimento dei macachi, la ricercatrice responsabile delle procedure di training, registrazione e calibrazione dell'oculometro, e il veterinario designato.

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.

In particolare, il nuovo membro del team è stata formata dal precedente responsabile della cura degli animali per più di un mese e sono giornalmente in contatto (oltre ad avere già avuto formazione precedentemente sulla cura e gestione di primati non umani in laboratorio). Ho notato una disposizione ad apprendere e provvedere nel miglior modo possibile al benessere degli animali sperimentali. Questa nuova persona si è perfettamente integrata nel gruppo e ne condivide lo spirito e l'atteggiamento generale verso la ricerca e gli animali sperimentali.

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.
- 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.
- La ricercatrice intervistata ha mostrato sia una chiara passione per la raccolta del dato fisiologico, così come una attenzione ammirevole perché le procedure possano essere efficaci il più possibile, in modo da giustificare l'utilizzo dei macachi, e che questo uso sia ottimale in termini di qualità del dato sperimentale ottenuto.

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, 28/03//2024

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