



“Sperimentazione animale: un problema multi-dimensionale”

Augusto Vitale

(Dip. Biologia cellulare e Neuroscienze– Istituto Sup. Sanità - Roma)

Perchè gli etologi dovrebbero occuparsi di sperimentazione animale?

- Perchè si sentono un sacco di stupidaggini in giro
- Perchè chi lavora con gli animali deve essere informato
- Perchè gli etologi possono dare un contributo determinante
- Perchè potrebbe riguardarvi direttamente

Scaletta

- Quanti animali?
- Aspetti scientifici
- Aspetti etici e Principio delle 3Rs
- Decreto legislativo 26/2014
- Primati non umani

Trends in the last years in EU

- In the EU, the total number of animals used for experimental and other scientific purposes in 2011 is just under 11,5 million. This is a reduction of over half a million animals used in the EU from the number reported in 2008.
- As found in previous reports, rodents and rabbits account for 80% of the total number of animals used in the EU.
- Mice are the most commonly used species with 61% of the total use, followed by rats with 14%.
- The second most used group of animals was, as in previous years, the cold-blooded animals which represent almost 12,5%.

What use?

- More than 60% of animals were used for research and development in the fields of human medicine, veterinary medicine, dentistry and in biological studies of fundamental nature.
- Production and quality control of products and devices in human medicine, veterinary medicine and dentistry required the use of 14% of the total number of animals.
- Toxicological and other safety evaluation represents 8,75% of the total number of animals used for experimental purposes.
- Other purposes of procedures represents 9% of the total number of animals and covers a wide range of experiments such as virology, immunology for production of monoclonal and polyclonal antibodies, physiology of foetal-maternal interaction in mouse gene transgenesis, oncological treatment, pharmaceutical research and development, combined drug testing and genetics.

The Top 5

- France (2.2 millions)
- Germany (2.073.000)
- United Kingdom (2.050.000)
- Spain (900.000)
- Italy (864.000)

Common trends and differences

- There has been a decrease in numbers in France, Germany and United Kingdom. No real change in Spain; general trend of decrease in Italy, but with an increase in mice and fish used.
- The use of rats seems to decrease everywhere, and this can be accompanied by the increase of mice, especially transgenic mice. Spain appears to be a country where transgenic mice are acquired mostly from outside Europe.
- Primates have decrease in all of the five top countries.
- France, Germany, United Kingdom have a drop in the use of animals for toxicological studies.

Cosa si intende per modello animale?

“a condition which permits to study the fundamental biological and behavioural processes, or a pathological process can be induced that resembles, at least under a certain aspect, the same pathological phenomenon observed in humans, or in other animal species”

**Il modello animale
è un concetto relativo**

Validità di un modello animale

- Face Validity
- Construct Validity
- Predictive Validity

Quale giustificazione scientifica
c'è all'uso di modelli animali?

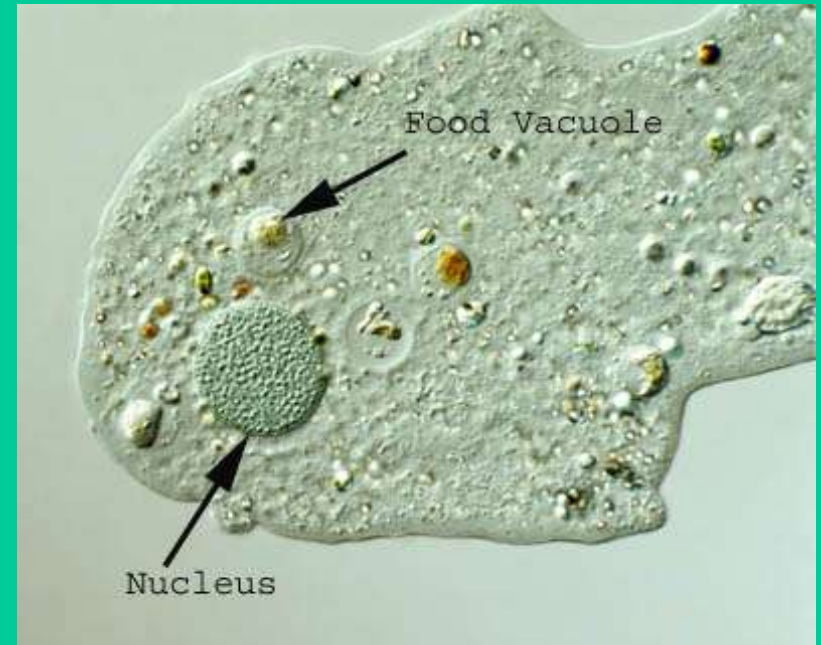
Gli uomini non sono topi!







Aplysia californica

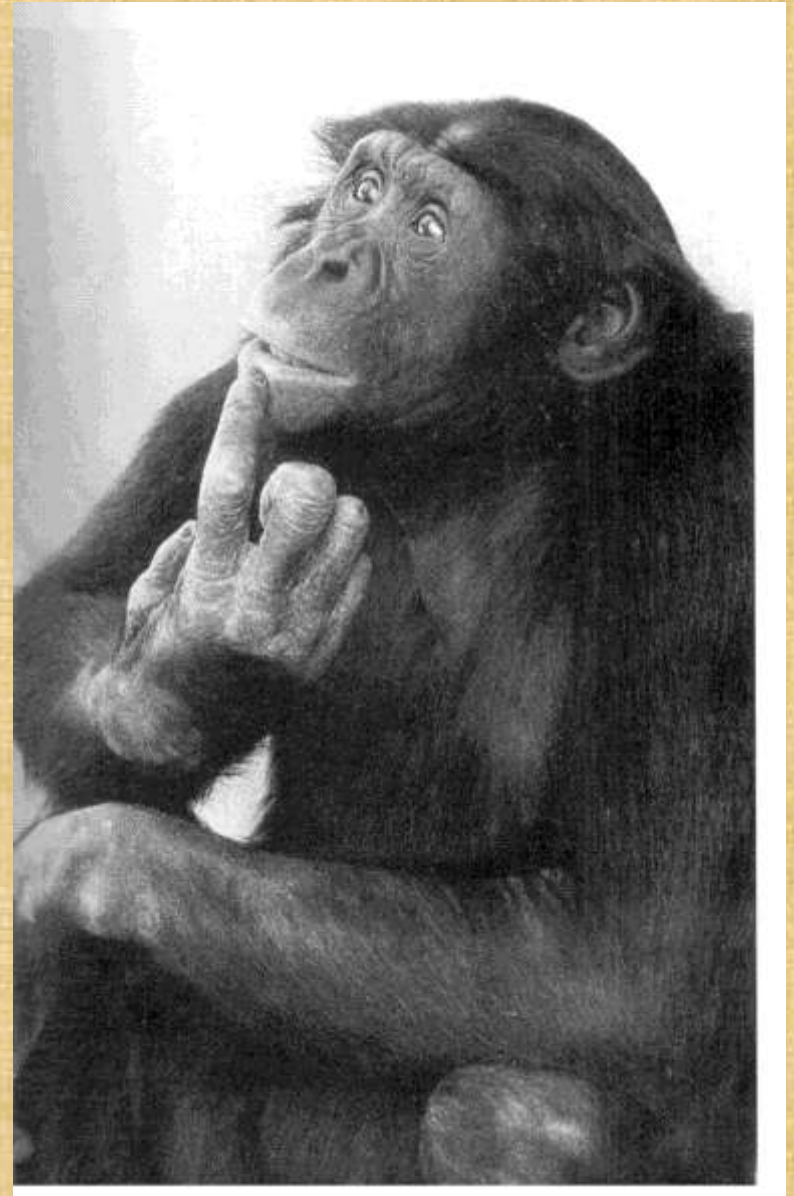


Amoeba



Aspetti etici

**E' moralmente
accettabile utilizzare gli
animali nella
sperimentazione
biomedica?**



Gli animali soffrono?

Applicare il beneficio del dubbio

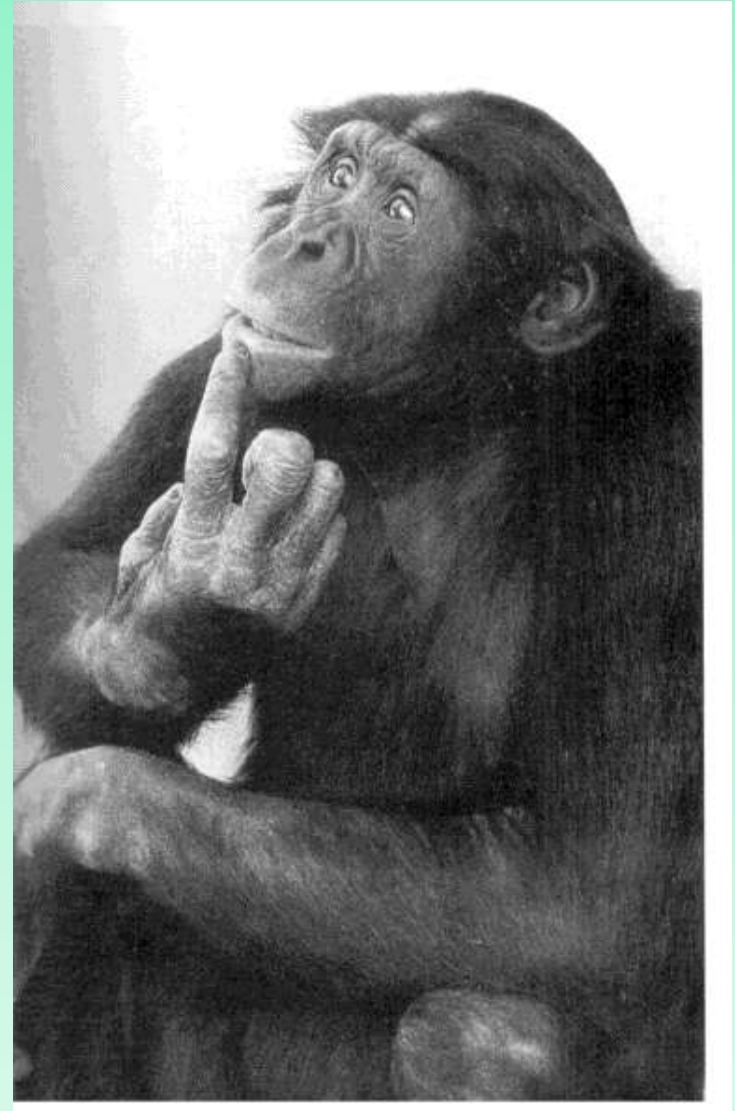
«If we behave towards animals thinking that they are able to feel pain and/or sufferance, and if we are wrong in this belief, we do not cause them sufferance; on the contrary, if we treat them thinking that they do not feel pain and /or sufferance, if we are wrong, we are likely to cause a great deal of discomfort»

(Jeremy Bentham, 1748-1832)

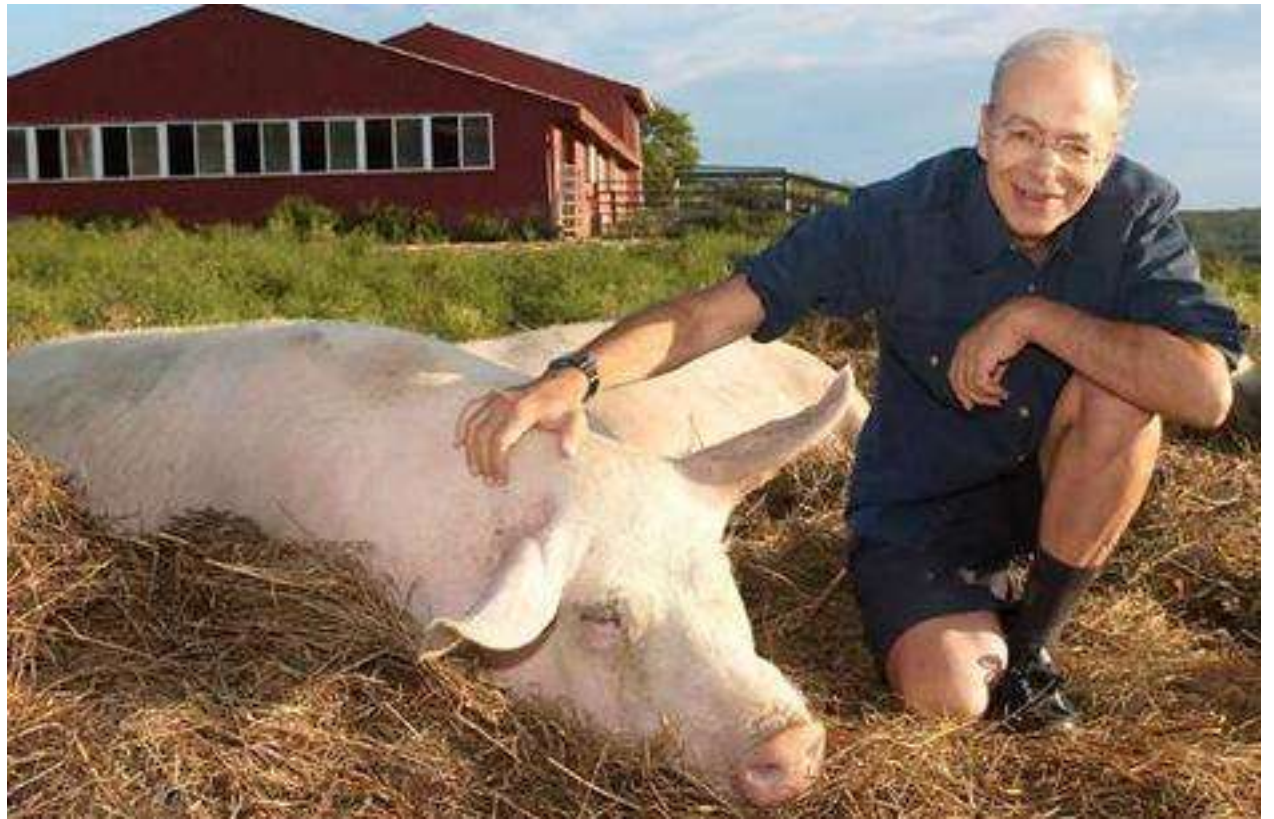
Etica animale

Analizzare criticamente le relazioni fra umani e altri animali dal punto di vista morale

- Specismo
- Status morale



Peter Singer



Utilitarismo: vengono enfatizzate
le conseguenze delle nostre azioni morali



Tom Regan

Deontologia: Etica basata su regole derivate in maniera razionale.

Le conseguenze delle nostre azioni non sono così importanti: ciò che conta sono principi generali di fondo



Nell Noddings

“I have not established, nor am I likely to ever establish, a relation with a rat I am not prepared to care for it. I feel no relation to it. I would not torture it, and I hesitate to use poisons on it for that reason, but I would shoot it cleanly if the opportunity arose”.

Che status morale hanno gli altri
animali?

“affinity for people”

(Tjard de Cock Buning)



Rimpiazzare e/o Rifinire gli
esperimenti sugli animali

THE PRINCIPLES OF
Humane Experimental Technique

W. M. S. RUSSELL

AND

R. L. BURCH

Special Edition

UNIVERSITIES
FEDERATION
FOR
ANIMAL
WELFARE

Principle of 3Rs (Russell e Burch, 1959)

- Replacement
- Reduction
- Refinement

Replacement

“any scientific method employing non-sentient material which may, in the history of experimentation, replace methods which use conscious living vertebrates”

(Russell and Burch, 1959)

Replacement

- Total Replacement
- Relative Replacement

Partial replacement (NC3Rs)

Replacement refers to methods that avoid or replace the use of animals defined as 'protected' under the Animals (Scientific Procedures) Act 1986 (amended 2012) (ASPA) in an area where they would otherwise have been used. 'Protected' animals are all living vertebrates (other than man), including some immature forms, and cephalopods (e.g. octopus, squid, cuttlefish). Relative replacements: those which avoid or replace the use of 'protected' animals.

Reduction

“reduction in the number of animals used to obtain information of a given amount and precision”

(Russell and Burch, 1959)

Refinement is defined as *"simply to reduce to an absolute minimum the amount of stress imposed on those animals that are still used"*

(Russell & Burch, 1959)

Aspetti legislativi

5th of November 2008: the European Commission applies the proposal for a revision of the European Directive 609/86, in order to:

minimise the number of animals used in scientific procedures; improve in a significant manner the treatment of animals still needed for toxicological tests and biomedical studies in the European Member States; improve the quality of research in European Member States; ensure an elevated standard of animal and human health, and protection of the environment.

Published on October the 20^o, 2010 on the Official Journal of the European Union.

«...animals should always treated as
sentient creatures» (Whereas, 12)

Legislazione italiana



Decreto legislativo 4 marzo 2014, n. 26. Attuazione della direttiva 2010/63/UE sulla protezione degli animali utilizzati a fini scientifici. (14G00036) (GU Serie Generale n.61 del 14-3-2014). note: Entrata in vigore del provvedimento: 29/03/2014.



Art. 3. Definizioni.

1. Ai fini del presente decreto si intende per: a) procedura, qualsiasi uso, invasivo o non invasivo, di un animale ai fini sperimentali o ad altri fini scientifici dal risultato noto o ignoto, o ai fini educativi, che possa causare all'animale un livello di dolore, sofferenza, distress danno prolungato equivalente o superiore a quello provocato dall'inserimento di un ago secondo le buone prassi veterinarie.

Art. 5. Finalita' delle procedure.

1. Le procedure possono essere eseguite unicamente per i seguenti fini: **a) la ricerca di base; b) la ricerca applicata o traslazionale che persegue uno dei seguenti scopi:** 1) la profilassi, la prevenzione, la diagnosi o la cura delle malattie, del cattivo stato di salute o di altre anomalie o dei loro effetti sugli esseri umani, sugli animali o sulle piante; 2) la valutazione, la rilevazione, il controllo o le modificazioni delle condizioni fisiologiche negli esseri umani, negli animali o nelle piante; 3) il benessere degli animali ed il miglioramento delle condizioni di produzione per gli animali allevati a fini zootecnici; c) per realizzare uno degli scopi di cui alla lettera b) nell'ambito dello sviluppo, della produzione o delle prove di qualità, di efficacia e di innocuità dei farmaci, dei prodotti alimentari, dei mangimi e di altre sostanze o prodotti; d) la protezione dell'ambiente naturale, nell'interesse della salute o del benessere degli esseri umani o degli animali; e) la ricerca finalizzata alla conservazione delle specie; f) l'insegnamento superiore o la formazione ai fini dell'acquisizione, del mantenimento o del miglioramento di competenze professionali; g) le indagini medico-legali.

2. Non possono essere autorizzate le procedure: a) per la produzione e il controllo di materiale bellico; b) per i test tossicologici con i protocolli della Lethal Dose -LD50 e della Lethal Concentration - LC50, tranne i casi in cui risulti obbligatorio da legislazioni o farmacopee nazionali o internazionali; c) per la produzione di anticorpi monoclonali tramite l'induzione dell'ascite, qualora esistano corrispondenti altri metodi di produzione e non risulti obbligatorio da legislazioni o farmacopee nazionali o internazionali; d) **per le ricerche sugli xenotrapianti di cui all'articolo 3, comma 1, lettera q); e) per le ricerche sulle sostanze d'abuso;** f) nel corso delle esercitazioni didattiche svolte nelle scuole primarie, secondarie e nei corsi universitari, ad eccezione della formazione universitaria in medicina veterinaria nonché dell'alta formazione universitaria dei medici e dei medici veterinari.



Art. 13. Scelta dei metodi.

1. Non sono autorizzabili le procedure che prevedono l'impiego di animali vivi per le quali esistono altri metodi o strategie di sperimentazione, riconosciute dalla legislazione dell'Unione europea, ovvero prevedono metodi vietati dalla normativa vigente nazionale.

2. Qualora il ricorso all'impiego di animali e' inevitabile sono seguite, a parità di risultati, le procedure che: a) richiedono il minor numero di animali; b) utilizzano animali con la minore capacità di provare dolore, sofferenza, distress o danno prolungato; c) sono in grado di minimizzare dolore, sofferenza, distress o danno prolungato; d) offrono le maggiori probabilità di risultati soddisfacenti; e) hanno il più favorevole rapporto tra danno e beneficio. 3. Nelle procedure di cui al comma 2, va evitata la morte come punto finale, preferendo punti finali più precoci e umanitari. Qualora la morte come punto finale e' inevitabile, la procedura soddisfa le seguenti condizioni: a) comportare la morte del minor numero possibile di animali; b) ridurre al minimo la durata e l'intensità della sofferenza dell'animale, garantendo per quanto possibile una morte senza dolore.

Art. 15. Classificazione della gravità delle procedure.



1. Le procedure sono classificate, caso per caso, secondo i criteri di assegnazione di cui all'allegato VII del presente decreto, come: a) non risveglio; b) lievi; c) moderate; d) gravi. 2. Non sono autorizzabili procedure sugli animali che comportano dolori, sofferenze o distress intensi che possono protrarsi e non possono essere alleviati.

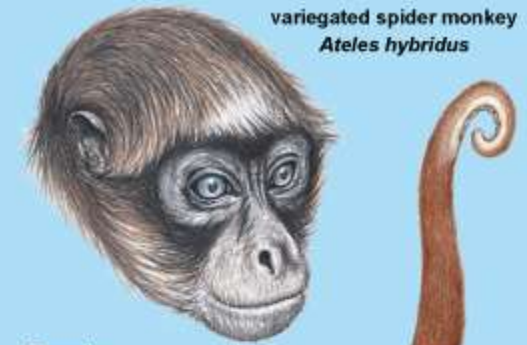


Uso dei primati non-umani in sperimentazione



Trends in the last years in EU

- There is a clear decrease in the use of non-human primates. The most notable proportional reduction is in the use of prosimians which represents a decrease of 94%. The total number of new world monkeys is down from 904 in 2008 to 700 in 2011 (22,5%), and use of old world monkeys has also decreased from 7 404 to 5 312 (28%). No use of great apes. In Italy, 450 individuals were used in 2011.



variegated spider monkey
Ateles hybridus

Peruvian
yellow-tailed
woolly
monkey
*Oreonax
flavicauda*



tonkin snub-nosed monkey
Rhinopithecus avunculus



pagai pig-tailed snub-nosed monkey
or simakobu
Simias concolor

Siau Island
tarsier
*Tarsius
tumpara*



Horton Plains
slender loris
or
Ceylon Mountain
slender loris
*Loris tardigradus
nycticeboides*



cross river gorilla
Gorilla gorilla diehli



Macachi (spp)



Cebo dai cornetti
(*Cebus apella*)



Marmoset (*Callithrix jacchus*)

Uso dei primati non-umani in sperimentazione

- Produzione di medicinali
- Produzione di vaccini
- Studi su malattie neurodegenerative

Primati non umani nella Direttiva 2010/63/EU

- I primati non umani citati nel testo 39+4 volte, piu' spesso del termine «sofferenza» (33).
- I primati non umani sono citati in 11 articoli della Direttiva (8, 10, 28, 31, 32, 34, 39, 42, 54, 55, 58) e nell'Annex II.



Decreto leg.vo n.26/2014 - Art.7

Utilizzo animali minacciati di estinzione

E' vietato l'impiego di animali, ivi compresi i primati non umani, delle specie in via di estinzione elencate nell'allegato A del regolamento (UE) n. 750/2013 della Commissione UE del 29 luglio 2013 e successive modificazioni, relativo alla protezione di specie della flora e della fauna selvatiche mediante il controllo del loro commercio che non rientrano nell'ambito di applicazione dell'articolo 7, comma 1, del regolamento (CE) n. 338/97 del Consiglio del 9 dicembre 1996. 2. Il Ministero puo' autorizzare, in via eccezionale, l'impiego di animali di cui al comma 1, ad esclusione dei primati non umani, nell'ambito delle procedure che soddisfano le seguenti condizioni: a) la procedura persegue uno degli scopi di cui all'articolo 5, comma 1, lettera b), numero 1), relativamente alla profilassi, alla prevenzione, alla diagnosi o alla cura delle malattie, del cattivo stato di salute o di altre anomalie o dei loro effetti sugli esseri umani, e lettere c) o lettera e). **3. L'impiego dei primati non umani minacciati di estinzione di cui al comma 1, ad esclusione delle scimmie antropomorfe, e' autorizzato, in via eccezionale, quando e' scientificamente provato che e' impossibile raggiungere lo scopo della procedura utilizzando specie diverse dai primati non umani e specie non elencate nell'allegato A del citato regolamento e nell'ambito delle procedure che perseguono uno degli scopi di cui all'articolo 5, comma 1), lettera b), numero 1), relativamente alla profilassi, alla prevenzione, alla diagnosi o alla cura delle malattie, del cattivo stato di salute o di altre anomalie o dei loro effetti sugli esseri umani, o lettera c) quando condotte allo scopo di evitare, prevenire, diagnosticare o curare affezioni umane debilitanti o potenzialmente letali o lettera e).**



Decreto leg.vo n.26/2014 - Art.8

Utilizzo primati non umani



1. Il Ministero puo' autorizzare, in via eccezionale, l'impiego di primati non umani di cui all'allegato I, quando e' scientificamente provato che e' impossibile raggiungere lo scopo della procedura utilizzando specie diverse dai primati non umani e nell'ambito delle procedure che perseguono uno degli scopi di cui all'articolo 5, comma 1, lettera a), quando condotta nell'interesse della salute dell'uomo o delle specie animali di cui al presente articolo ovvero lettera b), numero 1), relativamente alla profilassi, alla prevenzione, alla diagnosi o alla cura delle malattie, del cattivo stato di salute o di altre anomalie o dei loro effetti sugli esseri umani, ovvero lettera c) quando e' condotta allo scopo di evitare, prevenire, diagnosticare o curare affezioni umane debilitanti o potenzialmente letali ovvero lettera e).

Uso delle grandi scimmie

(Direttiva 2010/63/EU)

Article 8, paragraph 3:

“Notwithstanding paragraphs 1 and 2, great apes shall not be used in procedures, subject to the use of the safeguard clause in Article 55, paragraph 2: “Where a Member State has justifiable grounds for believing that action is essential for the preservation of the species or in relation to an unexpected outbreak of a life-threatening or debilitating clinical condition in human beings, it may adopt a provisional measure allowing the use of great apes in procedures having one of the purposes referred to in points (b) (i), (c) or (e) of Article 5; provided that the purpose of the procedure cannot be achieved by the use of species other than great apes or by the use of alternative methods...”



Decreto leg.vo n.26/2014 - Art.7

Utilizzo animali minacciati di estinzione

E' vietato l'impiego di animali, ivi compresi i primati non umani, delle specie in via di estinzione elencate nell'allegato A del regolamento (UE) n. 750/2013 della Commissione UE del 29 luglio 2013 e successive modificazioni, relativo alla protezione di specie della flora e della fauna selvatiche mediante il controllo del loro commercio che non rientrano nell'ambito di applicazione dell'articolo 7, comma 1, del regolamento (CE) n. 338/97 del Consiglio del 9 dicembre 1996. 2. Il Ministero puo' autorizzare, in via eccezionale, l'impiego di animali di cui al comma 1, ad esclusione dei primati non umani, nell'ambito delle procedure che soddisfano le seguenti condizioni: a) la procedura persegue uno degli scopi di cui all'articolo 5, comma 1, lettera b), numero 1), relativamente alla profilassi, alla prevenzione, alla diagnosi o alla cura delle malattie, del cattivo stato di salute o di altre anomalie o dei loro effetti sugli esseri umani, e lettere c) o lettera e). **3. L'impiego dei primati non umani minacciati di estinzione di cui al comma 1, ad esclusione delle scimmie antropomorfe, e' autorizzato, in via eccezionale, quando e' scientificamente provato che e' impossibile raggiungere lo scopo della procedura utilizzando specie diverse dai primati non umani e specie non elencate nell'allegato A del citato regolamento e nell'ambito delle procedure che perseguono uno degli scopi di cui all'articolo 5, comma 1), lettera b), numero 1), relativamente alla profilassi, alla prevenzione, alla diagnosi o alla cura delle malattie, del cattivo stato di salute o di altre anomalie o dei loro effetti sugli esseri umani, o lettera c) quando condotte allo scopo di evitare, prevenire, diagnosticare o curare affezioni umane debilitanti o potenzialmente letali o lettera e).**



Decreto Leg.vo 26/2014

- L'art. 10 parla della provenienza degli animali utilizzati nelle procedure, e al punto 2 afferma che a decorrere dalle date riportate nell'allegato II, del presente decreto i primati non umani possono essere utilizzati nelle procedure solo se discendono da soggetti nati in cattività o se provenienti da colonie autosufficienti. E l'allegato II specifica le date a decorrere dalle quali bisognerà utilizzare primati esclusivamente nati in cattività, per diverse specie.
- Art. 10. Animali utilizzati nelle procedure. 1. Salvo quanto disposto dall'articolo 9, comma 2, gli animali appartenenti alle specie elencate all'allegato I, del presente decreto possono essere utilizzati nelle procedure solo se provengono da allevamenti o fornitori autorizzati ai sensi dell'articolo 20. 5. E' vietato l'allevamento di cani, gatti e primati non umani per le finalità di cui al presente decreto.

Decreto Leg.vo 26/2014

- Art. 31. Autorizzazione dei progetti. 1. E' vietata l'esecuzione di progetti di ricerca che prevedono l'utilizzo di animali secondo le finalita' di cui all'articolo 5, comma 1, senza la preventiva autorizzazione del Ministero o in modo non conforme alla autorizzazione medesima e ad ogni altra determinazione eventualmente adottata dal Ministero. 3. Nel procedimento per il rilascio dell'autorizzazione di cui al comma 1, il Ministero richiede una valutazione tecnico-scientifica all'Istituto Superiore di Sanita' o ad altri enti tecnico-scientifici tenuto conto delle materie di pertinenza del progetto ovvero al Consiglio Superiore di Sanita' in caso di utilizzo di primati non umani, cani, gatti ed esemplari di specie in via di estinzione.
- Art. 32. Valutazione retrospettiva. 1. Il Ministero effettua la valutazione retrospettiva del progetto, se prevista dall'autorizzazione di cui all'articolo 31, richiedendo, ove ritenuto necessario, una valutazione tecnico-scientifica agli enti di cui all'articolo 31, comma 3. 2. La valutazione retrospettiva viene effettuata sulla base della documentazione presentata dal responsabile di cui all'articolo 3, comma 1, lettera g), e verte sui seguenti aspetti: a) il raggiungimento degli obiettivi del progetto; b) le specie e il numero di animali utilizzati, il danno inflitto e la gravita' delle procedure impiegate; c) gli elementi che possono contribuire a potenziare l'applicazione dei requisiti di sostituzione, riduzione e perfezionamento. 3. Per i progetti che fanno uso di primati non umani ed i progetti che comportano procedure classificate come «gravi».

Annex III

(b) Arricchimento: “Tutti gli animali dispongono di spazio sufficientemente complesso che consenta loro di esprimere un ampio repertorio di comportamenti normali. Essi dispongono di un certo grado di controllo e di scelta rispetto al proprio ambiente per ridurre comportamenti indotti da stress. Gli stabilimenti mettono in atto tecniche adeguate di arricchimento per ampliare la gamma di attività a disposizione degli animali e aumentare la loro capacità di risposta tra cui l’esercizio fisico, il foraggiamento e le attività di manipolazione e cognitive adeguate alle specie interessate. L’arricchimento ambientale offerto negli alloggiamenti è adattato alle specie e alle esigenze individuali degli animali. Le strategie di arricchimento negli stabilimenti sono riviste e aggiornate periodicamente”.





Arricchimenti ambientali



Arricchimenti ambientali







Positive Training

**Ma è valida la
sperimentazione animale?**

Ma se è valida...perché in tutta
una serie di casi il suo valore
traslazionale è perlomeno
discutibile?

“many studies found lack of randomization of animals in groups (88% did not report it) and blinding of the experimenters to the treatment (86% did not report it), as well as lack of quality and transparency of statistical analysis in 60% of the studies. These shortcomings threaten the validity of research and increase the risk of false positive conclusions.”



**Abbiamo bisogno di una
sperimentazione
qualitativamente migliore!**