

Animali da laboratorio. Convegno dell'IzSLER

Sofferenza animale, metodi alternativi: aspetti controversi della sperimentazione animale

Il recepimento della Direttiva 63/2010 in materia di sperimentazione animale sostituirà il Decreto legislativo 116/92, ma molti aspetti sono ancora da approfondire.

Siamo ormai agli sgoccioli per quel che riguarda il tempo concesso al nostro Paese per il recepimento della Direttiva comunitaria 63/2010 in materia di sperimentazione animale che andrà a sostituire il Decreto legislativo 116/92, precedentemente conosciuto come Direttiva comunitaria 609/86. Entro il mese di novembre di quest'anno, la Direttiva comunitaria sopra citata dovrà essere trasformata in legge, ma da quando è stata emanata ha sollevato numerosi dibattiti sia nelle sedi istituzionali preposte alla rielaborazione della stessa sia tra le parti interessate (associazioni animaliste ed enti di ricerca pubblici e privati). A Gargnano sul Garda (Bs), in un incontro* organizzato dall'IzS della Lombardia e dell'Emilia Romagna "B. Ubertini" in collaborazione con la Scuola di specializzazione in Scienza e medicina degli animali da laboratorio dell'Università degli Studi di Milano, si è parlato proprio di tali dibattiti ancora aperti e in continua evoluzione, con particolare attenzione agli aspetti pratici nell'applicazione della nuova normativa. Il centro dell'interesse del convegno sono stati alcuni punti caldi della "questione" sperimentazione animale quali i metodi alternativi, le 3R e il ruolo dei comitati etici nonché la sofferenza animale.

La giornata è stata aperta dai saluti del presidente IzSLER, Francesco Tirelli, del direttore generale, prof. Stefano Cinotti e da Giacomo Matteucci, libero professionista di Siena, moderatore della prima sessione.

La Direttiva 63/2010

L'Ue ha emanato la prima normativa riguardante l'uso di animali a fini scientifici nel 1986 con la Direttiva 86/609, recepita dallo Stato Italiano solamente nel febbraio 1992. Questa normativa è stata recentemente revisionata e ha portato, l'8 settembre 2010, all'approvazione da parte del Parlamento europeo, della nuova Direttiva 2010/63/EU che ha sostituito interamente la 86/609.

La Direttiva 2010/63 è stata pubblicata il 22 settembre dello stesso anno sull'*Official journal of the European union* ed è entrata in vigore il successivo 10 novembre. A partire da quella data sono stati concessi agli Stati membri 24 mesi per recepire la normativa, che pertanto dovrà essere trasformata in legge entro il 10 novembre del 2012 con applicazione defi-

nitiva a partire dal 1° gennaio 2013.

La nuova direttiva pone particolare attenzione alla questione dei primati non umani e degli animali d'affezione (cani e gatti), alla valutazione della gravità delle procedure sperimentali, all'adeguata formazione del personale coinvolto nella gestione degli animali e nell'esecuzione delle procedure sperimentali nonché alla possibilità di riutilizzo degli animali che non abbiano subito procedure dolorose (al fine di ridurre il numero degli stessi) e alla possibilità di reintroduzione/liberazione degli animali qualora questo sia possibile.

I principi direttivi per l'elaborazione della nuova legge sono numerosi, ma tra i principali ricordiamo la necessità di formare personale esperto in metodi sostitutivi, la presenza di tali esperti e di biostatistici all'interno degli organismi preposti alla protezione degli animali utilizzati a fini scientifici, il divieto di allevamento di cani, gatti e primati non umani destinati alla sperimentazione, il divieto di utilizzare animali a fini didattici e in esperimenti che comportino dolore senza l'uso dell'anestesia nonché la stesura di un piano sanzionatorio adeguato e dissuasivo.

Il ruolo dei Comitati etici

Il ruolo dei Comitati etici è stato discusso particolarmente dal prof. Angelo Peli dell'Università di Bologna e dalla dr.ssa Lucia Luperi dell'Rtc (*Research toxicology centre*) di Pomezia. Gli art. 26 e 27 della Direttiva 63/2010 prevedono la costituzione di un "Organismo preposto al benessere animale", cioè un Comitato etico, con compiti specifici. A questo punto si pone il problema se il Comitato in questione debba essere solamente "etico" o "etico-scientifico".

Partendo dal presupposto che condurre un esperimento scientificamente "debole" o non corretto non sia etico perché si incorre nel rischio di esporre inutilmente gli animali a esperimenti di dubbia necessità o di pubblicare dati poco significativi, è necessario che un eventuale Comitato etico, ormai presente nella maggior parte delle strutture che si occupano ad alto livello di sperimentazione animale, entri anche nella revisione della "scientificità" di un protocollo sperimentale valutandone la validità scientifica, la correttezza delle metodologie e la finalità che viene prefissata.

Quali dovrebbero essere i compiti di un Comitato etico? Tutto ha inizio dalla compilazione del protocollo sperimentale che dovrà, in ultima battuta, essere inviato al Ministero competente. Nella compilazione dell'allegato 4 previsto dal Dlgs 116/92, che verosimilmente troverà un analogo anche nel recepimento della nuova direttiva, è previsto, tra l'altro, di determinare sia il numero di animali che la specie da utilizzare, la metodologia dell'esperimento, il tipo di sofferenza cui saranno sottoposti gli animali, l'eventuale utilizzo di anestetico, il personale che attenderà alle procedure sperimentali e il destino degli animali post sperimentazione. Inoltre è necessario dichiarare l'impossibilità di ricorrere a sistemi alternativi nonché la bibliografia a corredo.

Il compito del Comitato etico dovrebbe essere, *in primis*, quello di verificare l'effettiva necessità di una data sperimentazione, l'adeguatezza delle metodologie e la reale impossibilità di ricorrere a metodi sostitutivi che non prevedano l'utilizzo o il sacrificio di animali.

La legge attuale stabilisce che in una sperimentazione, al fine di ridurre al minimo l'utilizzo degli animali, si debba scegliere quelli con il minor sviluppo neurologico ma che al contempo consentano di ottenere un dato attendibile in modo che siano ridotte le necessità di replica di quell'esperimento. Lo staff di esperti che compone il Comitato etico deve fungere anche da supporto scientifico nella determinazione di questi parametri, verificando anche la presenza di situazioni oltre le quali l'esperimento deve considerarsi concluso o essere interrotto, i cosiddetti "human end points". La pianificazione di un esperimento deve partire necessariamente da un'adeguata bibliografia a sostegno per evitare che si intraprenda una strada senza che ci sia una base sostanziale, evitando inoltre inutili ripetizioni che comporterebbero, come prima conseguenza, il sacrificio di vite animali e anche lo spreco di tempo e risorse.

Il Comitato etico dovrebbe vigilare anche sulla corretta formazione e informazione del personale coinvolto nelle pratiche sperimentali, imponendo un'attività di controllo sul benessere animale che parte dal rispetto delle condizioni di stabilizzazione fino al corretto svolgimento delle procedure legate alla sperimentazione vera e propria. Ogni Comitato etico dovrebbe essere composto da un gruppo di esperti, tra i quali è ●●●

... necessario prevedere il responsabile dello stabulario, un medico veterinario o un esperto sul benessere, un rappresentante del personale tecnico, un esperto in metodi alternativi, un biostatistico, un ricercatore e una persona esterna che non effettua ricerca. Alcune realtà prevedono anche la presenza di un rappresentante del mondo animalista.

In ogni caso è necessario che ci sia uno stretto contatto e dialogo tra chi propone la ricerca e l'organismo preposto alla sua revisione, quest'ultimo dovrebbe comunque vigilare, passo dopo passo, sia sulla corretta esecuzione delle procedure dichiarate in corso d'opera, sia sulla revisione dei risultati finali.

Alcune strutture più all'avanguardia e sensibili al problema, come ricordato dal prof. Pei, possiedono già un sistema informatizzato per la gestione dei protocolli sperimentali e del Comitato etico in modo da consentire ai suoi membri una più rapida revisione e una maggiore velocità sia di interrogazione che di risposta.

Il principio delle 3R

Come hanno ricordato Gianni Dal Negro, presidente dell'Aisal (Associazione italiana per le scienze degli animali da laboratorio), e Francesca Caloni dell'Università di Milano, l'importanza del principio delle 3R viene ripreso integralmente e ulteriormente sottolineato all'interno della Direttiva 63/2010.

Il "principio delle 3R" è stato presentato per la prima volta nel 1959 da Russell e Burch nel libro *"The principles of human experimental technique"* ed è attualmente alla base della legislazione vigente e futura in tema di sperimentazione animale. Il principio del *"Replacement"* suggerisce, ove possibile, la sostituzione degli animali con metodi alternativi o con altri organismi con una più bassa percezione del dolore; per *"Reduction"* si intende qualsiasi strategia utile a ridurre in modo significativo l'utilizzo degli animali, tale concetto passa anche attraverso la condivisione dei dati già ottenuti per evitare inutili repliche. Il concetto di *"Refinement"* invece spinge a modificare e raffinare tutte le procedure, a partire dall'allevamento fino all'utilizzazione finale dell'animale, per migliorarne il benessere e minimizzare le possibilità di dolore, stress e angoscia.

Questi principi rappresentano oggi il cardine nelle linee guida per l'utilizzo degli animali a fini sperimentali e sono incluse anche nella nuova Direttiva comunitaria. Come osservato dal dr. Dal Negro, nonostante i grandi sforzi e le risorse impiegate, l'uso degli animali nelle varie discipline scientifiche non è ancora completamente sostituibile con i metodi alternativi poiché è molto difficile riprodurre *in vitro* la complessità dell'essere vivente *in toto*. In determinati settori della ricerca i modelli animali sono ad oggi, purtroppo, insostituibili ma molti sforzi vengono fatti per ridurne e ottimizzarne l'uso (*refinement*).

Riconoscimento del dolore

Marino Campagnol, dell'Università degli Studi di Milano, citando una definizione dell'*International association for the study of pain (IASP)* ha sottolineato che *"il dolore è una spiacevole esperienza sensoriale ed emozionale associata ad un danno tessutale reale o potenziale e descritta in termini di tale danno"* e pertanto non si tratta di una semplice percezione ma di una complessa esperienza sensoriale che si concretizza in una "emozione". Per quanto non tutte le pratiche sperimentali comportino necessariamente dolore, ansia o stress agli animali utilizzati, è comunque doveroso mettere in pratica tutte gli accorgimenti necessari per ridurre questi stimoli al minimo. Innanzitutto è necessario, da parte degli operatori del settore, possedere un'adeguata conoscenza del dolore e delle sue manifestazioni esterne che sono peculiari da specie a specie e che si concretizzano in segni comportamentali, posturali e facciali alterati. Molti studi sono stati condotti negli anni su questi segnali tanto che ad oggi possediamo una letteratura, seppur ancora incompleta, che ci consente di individuarli e pertanto, ove possibile, prevenire o trattare la maggior parte delle situazioni algiche o patologiche nonché condizioni stressogene evidenti o presunte. Il dr. Campagnol ha ricordato che non esiste una ricetta universale per il trattamento del dolore ma che l'analgisia passa prima attraverso una profonda conoscenza dell'animale utilizzato caratterizzato da differenze di specie, razza, ceppo, ma anche dalle eventuali sperimentazioni o situazioni algiche e stressogene a cui viene sottoposto. Il punto fondamentale è comunque il mantenimento del benessere, per il quale è necessario porre in opera tutti i mezzi necessari e disponibili per trattare il dolore, acuto o cronico che sia, ove consentito dal tipo di sperimentazione.

Il Centro di riferimento per le metodiche alternative

Nella sua relazione, Maura Ferrari dell'Izs della Lombardia e dell'Emilia Romagna, sede di Brescia, ha presentato il nuovo Centro di riferimento per i metodi alternativi attivato presso la suddetta struttura. Il Centro si propone come punto di raccordo tra il Ministero della Salute e l'Ecvam (*European centre for the validation of alternative methods*) con il fine di raggiungere alcuni obiettivi fondamentali tra i quali l'eliminazione, ove possibile, della sperimentazione animale, la promozione di metodi alternativi, il coordinamento tra l'esecuzione di procedure *in vitro* e *in vivo* e la protezione degli animali utilizzati a scopo scientifico con particolare attenzione ai primati non umani e alle specie d'affezione, ma anche di tutte le altre specie.

Attualmente non esiste un valido coordinamento tra gli "addetti ai lavori" dei vari settori della sperimentazione animale e della ricerca scientifica così come non possiamo contare su un'adeguata interazione tra coloro che operano *in*

vivo e *in vitro*. Il nuovo Centro di riferimento si avvarrà di una *task force* di esperti che fungeranno da gruppo di coordinamento e di un elenco di esperti nei vari settori che verranno coinvolti e interpellati nelle varie fasi di studio.

Fra i tanti compiti proposti vi sarà quello di progettare e sviluppare sistemi alternativi, affiancati dalla stesura di sistemi di validazione oggettivi e dall'allestimento di standard di riferimento.

Inoltre la formazione assprbirà un'ampia parte delle risorse del Centro di riferimento attraverso la creazione di corsi e congressi *ad hoc*, insieme alla stesura di linee guida e alla divulgazione scientifica anche attraverso il Web.

Un altro importante sforzo, quello del Centro di riferimento per le metodiche alternative dell'IzsLER, che si aggiunge a quelli presenti, passati e futuri.

In conclusione

Le attuali innovazioni e le prospettive future nell'utilizzo dei metodi alternativi sono un punto chiave nell'evoluzione della ricerca del domani ma già oggi sono una realtà in molti campi di applicazione come ricordato dalle dr.sse Valentina Vasina (Università di Bologna), Maria Tollis (Istituto superiore di sanità) e Giovanna Lazzari (Avantea, Cremona), e dal prof. Augusto Pessina (Università di Milano) e proprio per la loro prerogativa di "continua evoluzione" ci lasciano ben sperare per un futuro, speriamo non troppo lontano, in cui la sperimentazione animale potrà essere sensibilmente ridotta o addirittura "estinta".

In sintesi dall'incontro è stato possibile evincere che, attualmente, non è ancora possibile prescindere completamente dal ruolo degli animali nella sperimentazione poiché gli attuali livelli di conoscenza e sviluppo tecnologico non consentono ancora di simulare la complessità dell'essere vivente, ma il desiderio comune alla comunità scientifica e alle autorità internazionali è quello di ridurne quanto più possibile l'utilizzo, in favore di metodi alternativi che sono attualmente allo studio, e in molti campi già una realtà.

Tale argomento è anche presente nelle priorità degli enti di ricerca molti tra i quali si stanno impegnando attivamente nel tentativo concreto di ridurre l'utilizzo degli animali da laboratorio. Fino a che non sarà possibile - e si spera presto - giungere a una completa sostituzione degli animali nelle ricerche scientifiche con sistemi alternativi è necessario comunque osservare quanto più possibile i principi universalmente accettati del *refinement*, del *reduction* e ove possibile del *replacement*.

■ Cristiano Papeschi, Linda Sartini

* Gargnano sul Garda (Bs), 14-16/5/2012: "I dibattiti aperti nella sperimentazione animale: aspetti pratici nell'applicazione della nuova normativa: metodi alternativi e 3R, ruolo dei comitati e sofferenza animale", organizzato dall'Izs della Lombardia ed Emilia Romagna.