

BREVE RELAZIONE CONVEGNO BRESCIA

(17 – 19 aprile Brescia)

“Metodi Alternativi: 3Rs ricerca e aspetti regolatori”

A Brescia l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, nelle giornate dal 17 al 19 Aprile 2013 ha organizzato un convegno sulle metodiche alternative alla sperimentazione animale.

Tale tematica riveste un ruolo di particolare interesse ed attualità nell'ambito della ricerca scientifica che prevede l'utilizzo di animali vivi in vista del recepimento della direttiva europea 63/2010 che richiama una specifica attenzione proprio nei confronti dei metodi alternativi. Le giornate sono state suddivise in sessioni che hanno trattato differenti argomenti, quali: 3Rs, reduction, refinement and replacement degli animali da laboratorio, tossicologia e sviluppo delle metodiche in vitro, studio dei dispositivi medici e loro impiego nell'ambito della medicina.

Questo breve resoconto si limita ai principi regolatori emersi nel Convegno.

LEGISLAZIONE

(Susanna Loubimies DG Environment, European Commission)

La relatrice nel suo intervento ha sottolineato la necessità (seppur con notevoli difficoltà) di passare dalla teoria alla pratica nell'applicazione della nuova Direttiva. Ha fatto una analisi delle 3R come quadro giuridico della direttiva 63/2010 sottolineando come già dall'art. 1 la direttiva stabilisce misure relative alla protezione degli animali utilizzati a fini scientifici o educativi e come il fine ultimo della norma sia quello di sostituire gli animali vivi nella ricerca con metodi alternativi.

Infatti, in linea con la Direttiva, a livello europeo si è sviluppata un'intensa attività di ricerca e di validazione (determinazione dell'affidabilità e riproducibilità di un metodo) volta sia a individuare nuovi metodi *in vitro* che possono essere utilizzati per l'attività regolatoria sia a modificare alcuni dei metodi *in vivo* esistenti per ridurre il numero degli animali impiegati e minimizzarne sofferenza e danni.

Pertanto, gli animali devono sempre essere trattati come creature senzienti e il loro utilizzo nelle procedure scientifiche deve essere limitato ai settori che fanno progredire la scienza e giovano in ultimo alla salute degli uomini, degli animali e all'ambiente.

La disponibilità di metodi alternativi dipende fortemente dal progresso della ricerca per lo sviluppo di alternative. I programmi quadro comunitari per la ricerca e lo sviluppo tecnologico hanno previsto stanziamenti crescenti per progetti volti a sostituire, ridurre e perfezionare l'uso di animali nelle procedure. L'Unione Europea da alcuni anni sta incrementando i fondi per la ricerca: il VII Programma Quadro (2007-2013) prevede finanziamenti per progetti diretti a mettere a punto alternative ai test su animali nella ricerca medica. La qualità della ricerca scientifica e l'attendibilità dei risultati sono strettamente legate a una buona pratica di laboratorio e al benessere degli animali. È principio noto che utilizzare nella ricerca un animale già in stato di sofferenza fisica o psichica può compromettere l'attendibilità e riproducibilità dei risultati sperimentali. La tutela dell'animale in laboratorio, così come è prevista dalle disposizioni legislative, è pertanto intimamente correlata agli interessi stessi della ricerca e, in linea di principio, non dovrebbe esservi contrasto tra questi interessi e l'esigenza, sempre più avvertita, di una qualificata *animal care*, e cioè di una scienza degli animali da laboratorio che comprenda lo studio della loro biologia, la

considerazione per le loro necessità di allevamento e ambientali, la prevenzione e il trattamento di eventuali malattie, l'ottimizzazione delle tecniche sperimentali e il miglioramento dell'anestesia, analgesia ed eutanasia.

La presente direttiva rappresenta un passo importante verso il conseguimento dell'obiettivo finale della completa sostituzione delle procedure su animali vivi a fini scientifici ed educativi non appena ciò sia scientificamente possibile. A tal fine, essa cerca di agevolare e di promuovere lo sviluppo di approcci alternativi. Essa cerca altresì di garantire un elevato livello di protezione degli animali il cui impiego nelle procedure continua ad essere necessario.

*Ed infatti la Direttiva già dal CAPO I **DISPOSIZIONI GENERALI***

Articolo 1

Oggetto e ambito di applicazione

1. La presente direttiva stabilisce misure relative alla protezione degli animali utilizzati a fini scientifici o educativi.

“A tal fine, essa fissa le norme relative ai seguenti aspetti:

*a) la **sostituzione** e la **riduzione** dell'uso di animali nelle procedure e il **perfezionamento** dell'allevamento, della sistemazione, della cura e dell'uso degli animali nelle procedure;”*

La relatrice ha poi sottolineato alcuni campi di applicazione della Direttiva:

la ricerca di base, il programma REACH, la valutazione delle Sostanze chimiche di sicurezza alimentare, i pesticidi, la Sicurezza dei prodotti, Biocidi, Ricerca Farmaceutica Applicata RTD programmi quadro Orizzonte 2020, Istruzione /formazione e come ancora oggi gli animali, compresi i primati non umani, siano ancora necessari per la ricerca e la sperimentazione, che gli animali hanno un valore intrinseco e che deve essere rispettato sempre il principio delle tre R che è la chiave per una scienza più umana.

Garantire che la Raffinatezza nella sperimentazione non sia limitata alla procedura scientifica, ma che sia anche rilevante in relazione alla cura, sistemazione e l'allevamento di animali. Lo sviluppo, la convalida e l'uso di approcci alternative più saldamente ancorate come un chiaro requisito legale

La possibilità di mantenere nella legislazione nazionale misure più rigorose ma che allo stesso tempo non devono limitare la circolazione di animali da Paesi che hanno recepito la Direttiva senza modifiche. L'Italia non ha ancora recepito la Direttiva che è in applicazione dal 1 gennaio 2013. Ha ribadito il fatto che il passaggio dalla teoria alla pratica nella legislazione ottiene buoni risultati solo se a fine giornata vi è stata una corretta applicazione.

Una implementazione delle tre R ed una buona applicazione deve prevedere:

Prima dell'inizio di un progetto

- una valutazione etica del Progetto - Allegato VI
- una Classificazione di gravità - Allegato VIII ..

Nel corso di un progetto

- la Conformità con la relativa autorizzazione, il responsabile del progetto, il Benessere animale
- Monitoraggio durante l'attuazione, valutazione degli effetti di gravità

Dopo un progetto

- Valutazione retrospettiva
- la sintesi non tecnica (comunicazione di massa) .

In sintesi la valutazione etica del Progetto (etico) deve prendere in considerazione:

Le finalità e gli obiettivi del progetto

La corretta Applicazione delle tre R - Allegato VI –

Il rispetto del dettato normativo

La classificazione della gravità delle procedure - Allegato VIII

La valutazione dei danni e dei benefici nell' analisi del progetto

In seno alla Commissione europea è stato costituito un Gruppo di esperti Expert Working Groupes (EWG) per esaminare alcune questioni relative a come:

- Raggiungere la comprensione comune delle questioni;
- Concordare un quadro comune e di approccio;
- Consigliare buone pratiche e ottimizzare i processi;
- Fornire pratici esempi dimostrativi per facilitare la comprensione.

Al termine il gruppo di esperti (EWGs) presenterà i risultati del lavoro e stilerà dei documenti di consenso, lo presenterà a tutti gli Stati membri per una loro pubblicazione e promozione dei documenti per una comune comprensione e una linea di orientamento.

Altre raccomandazioni per una serie di attori di follow up

Valutazione del progetto

Un Esempio è la valutazione retrospettiva

- un approccio graduale per garantire che tutti gli elementi siano affrontati sistematicamente ed a misura per il progetto in questione

La Diffusione di buone / migliori pratiche in Tre Rs derivante dalla valutazione retrospettiva

VALUTAZIONE DELLE GRAVITÀ DELLE PROCEDURE CHE DEVE ESSERE UN PROCESSO CONTINUO (fogli specifici di punteggio e valutazione)

INFORMAZIONI STATISTICHE

VALUTAZIONE RETROSPETTIVA

SCELTA, DESCRIZIONE E FREQUENZA DEI METODI DI MONITORAGGIO CON VALUTAZIONE FINALE (assegnare un punteggio)

COMUNICAZIONE TRA TUTTI I SOGGETTI COINVOLTI

FORMAZIONE DEL PERSONALE, COERENZA NELLE OSSERVAZIONI DEL PERSONALE QUALIFICATO SORVEGLIANZA FINO A PROVA DELLE COMPETENZE RICHIESTE

FACILITARE LA LIBERA CIRCOLAZIONE DEL PERSONALE

RACCOMANDAZIONI PER IL PERSONALE VETERINARIO

Esperienza con l'uso di animali vivi in E & T;

- Formazione dei valutatori del progetto;
- Formazione di veterinari designati;

- Ruolo dei veterinari in formazione, supervisione, valutazione;
- Ruolo della persona (e) responsabile per la formazione /competenza.

La relatrice inoltre ha informato la platea che **Vi è in preparazione un report presso la Commissione Europea e che la Commissione ha calendarizzato una serie di ISPEZIONI a DICEMBRE 2013.**

Ha sottolineato l'importanza fondamentale dei Comitati etici nazionali che hanno un ruolo chiave da svolgere nella buona comunicazione tra i ruoli, in particolare, ispettori e valutatori del progetto e che hanno un ruolo essenziale per i report in preparazione, segno evidente, questo, che la presenza di Comitati etici non viene sentita come una sorta di limitazione, ma come un valido ausilio per il perseguimento degli obiettivi indicati dalla normativa vigente in materia.

CREAZIONE DI DATABASE PER LO SCAMBIO DI INFORMAZIONI (Comitati nazionali)

CREAZIONI DI MOTORI DI RICERCA

LA DIRETTIVA STABILISCE L'OBBLIGO GIURIDICO DI APPLICARE LE 3R

LE 3RS NELLA LEGISLAZIONE VIGENTE

Giovanni Botta DVM Ministero della Salute

Il Dott. Botta ha messo in evidenza gli aspetti salienti della normativa in vigore.

Decreto legislativo 116/92 e le 3Rs: Articoli 4 e 5

L'articolo 4 del D.lgs 116/92 prevede che il responsabile del progetto di ricerca **deve dimostrare e documentare all'Autorità competente che:**

- ✓ non esistono metodi alternativi all'impiego degli animali;
- ✓ sarà impiegato il minor numero di animali;
saranno impiegate specie animali a minor sviluppo neurologico;
- ✓ saranno impiegate procedure sperimentali che causano meno dolore, sofferenza, angoscia o danni durevoli;
- ✓ saranno preferiti gli esperimenti che offrono le maggiori probabilità di risultati soddisfacenti

L'articolo 5 prevede tra l'altro che:

- ✓ gli animali siano tenuti in ambienti idonei, che consentano libertà di movimento, che fruiscono di alimentazione, acqua e cure adeguate alla loro salute e al loro benessere;
- ✓ ridotta al minimo qualsiasi limitazione alla possibilità di soddisfare ai bisogni fisiologici e comportamentali dell'animale;
- ✓ siano effettuati controlli quotidiani per verificare le condizioni fisiche in cui gli animali sono allevati, tenuti o utilizzati
- ✓ un medico veterinario controlli il benessere e le condizioni di salute degli animali
- ✓ siano adottate le misure dirette a correggere tempestivamente difetti o sofferenze

Azione del Ministero nell'applicazione dei principi delle 3Rs riportati agli articoli 4 e 5

L'attività di controllo viene esercitata dal competente ufficio del Ministero della Salute essenzialmente su due livelli:

- **esami dei progetti di ricerca;**

stabilimenti utilizzatori: verifica dell'idoneità strutturale e gestionale;

Modalità di sperimentazione

Una condizione essenziale per chiunque presenti un progetto di ricerca consiste nel dimostrare che non esistono **metodi alternativi** all'impiego di animali

Il D.lgs 116/92 introduce il **“regime di autocontrollo”** per cui il ricercatore è tenuto:

- al rispetto di precisi e complessi **requisiti oggettivi e soggettivi;**
- ad effettuare **dichiarazioni** che sono **vincolanti** sia per **l'esecuzione della sperimentazione** in quanto tale, sia per le **modalità di autorizzazione** dell'esecuzione della stessa

Modalità di sperimentazione

I progetti di ricerca, compilati secondo lo schema di cui all'allegato 4 della Circolare 8/94, corredati dai curricula dei responsabili e da un'ampia bibliografia, sono soggetti ad adempimenti quali l'invio al Ministero della Salute

Negli ultimi 10 anni è aumentato il livello di attenzione su due aspetti:

- ✓ anestesia
dichiarazioni riferite agli artt. 4 e 5
Anestesia

È necessario **descrivere dettagliatamente tutte le procedure sperimentali**, indicare in quali momenti è previsto il suo impiego in modo da poter garantire che l'animale non andrà incontro a dolore, sofferenza, ansia o stress e che comunque in tali casi sia possibile somministrare un anestetico o analgesico.

Se ciò non fosse possibile per tale progetto di ricerca deve essere presentata apposita **richiesta di autorizzazione in deroga**, ai sensi dell'articolo 9

L'articolo 4 prevede che il responsabile del progetto di ricerca **deve dimostrare e documentare all'Autorità competente che:**

- ✓ non esistono metodi alternativi all'impiego degli animali;
- ✓ sarà impiegato il minor numero di animali;
- ✓ saranno impiegate specie animali a minor sviluppo neurologico;
- ✓ saranno impiegate procedure sperimentali che causano meno dolore, sofferenza, ansia o danni durevoli;
- ✓ saranno preferiti gli esperimenti che offrono le maggiori probabilità di risultati soddisfacenti

Art. 5: Ispezioni stabilimenti utilizzatori

L'altro livello di controllo esercitato dal Ministero della Salute è quello effettuato sugli **stabilimenti utilizzatori** per la verifica di idoneità per la sussistenza di requisiti strutturali e gestionali.

Oltre ai parametri ambientali, strutturali, gestionali sono stati approfonditi i seguenti aspetti:

- Arricchimento ambientale;
- Stato sanitario

- Formazione del personale

VALUTAZIONE DEGLI ESPERIMENTI CON ANIMALI E TRASPARENZA NELLA NORMATIVA EUROPEA 63/2010.

Dott. G. Lombardi – Istituto Zooprofilattico della Lombardia ed Emilia Romagna

Il Relatore nell'introdurre il proprio lavoro ha fatto notare come vi sia un crescente interesse dell'opinione pubblica per le tematiche animali in generale ed in particolare per quelli utilizzati a fini sperimentali. Auspica delle misure più rigorose e trasparenti nel settore della sperimentazione animale per non alimentare l'impressione che la "Scienza" sia troppo libera e non rispettosa degli animali.

Per promuovere la trasparenza, facilitare l'autorizzazione dei progetti e fornire strumenti per il controllo della conformità, è opportuno introdurre una classificazione delle procedure in funzione della gravità basata sul livello stimato di dolore, sofferenza, angoscia o danno prolungato inflitto agli animali.

Per monitorare il rispetto della presente direttiva, gli Stati membri dovrebbero effettuare *ispezioni regolari* di allevatori, fornitori e utilizzatori sulla base del rischio. Per assicurare la fiducia dell'opinione pubblica e promuovere la trasparenza, una *quota appropriata di ispezioni dovrebbe essere effettuata senza preavviso*.

Per garantire l'informazione dell'opinione pubblica, è importante *pubblicare informazioni obiettive* in merito ai progetti che impiegano animali vivi, pertanto, gli utilizzatori dovrebbero fornire *sintesi non tecniche e anonime dei progetti che gli Stati membri dovrebbero pubblicare*. Utilizzare le sintesi non tecniche come strumento di comunicazione di una buona ricerca con animali, senza violare i diritti di proprietà né rilevare informazioni riservate. Gli elementi pubblicati non dovrebbero violare l'anonimato degli utilizzatori.

E' inoltre opportuno un progressivo appianamento delle differenze legislative tra gli Stati membri e rendere pubblici nell'interesse dell'Unione europea per quanto possibile la concordanza tra la presente direttiva e i provvedimenti di recepimento. Fondamentale stabilire criteri comuni per il riconoscimento delle qualifiche e gli Stati membri pubblicano in base agli elementi di cui all'allegato V, i requisiti minimi in materia di istruzione e formazione e i requisiti per ottenere, mantenere e dimostrare le competenze richieste per le funzioni di cui al paragrafo 2 della direttiva. Anche il Dott. Vitale sottolinea l'importanza della valutazione retrospettiva "art. 39 valutazione retrospettiva. 1 valuta i seguenti aspetti:

- a) se gli obiettivi del progetto sono stati raggiunti;
- b) il danno inflitto agli animali, compreso il numero e le specie di animali usati e la gravità delle procedure;
- e
- c) qualsiasi elemento che possa contribuire all'ulteriore applicazione dei requisiti di sostituzione, riduzione e perfezionamento.

2. *Tutti i progetti che fanno uso di primati non umani e i progetti che comportano procedure classificate come «gravi» compresi quelli di cui all'articolo 15, paragrafo 2, sono oggetto di valutazione retrospettiva.*

Gli elementi per la valutazione di un progetto sperimentale:

La valutazione del progetto è effettuata con l'accuratezza appropriata al tipo di progetto e verifica che il progetto soddisfi i seguenti criteri:

- a) il progetto è giustificato da un punto di vista scientifico o educativo o è previsto per legge;
- b) gli scopi del progetto giustificano l'uso degli animali; e
- c) il progetto è concepito in modo tale da consentire lo svolgimento delle procedure nelle condizioni più umanitarie e più rispettose dell'ambiente possibile

La valutazione del progetto comprende in particolare:

- a) una valutazione degli **obiettivi del progetto, dei benefici scientifici previsti** o del **valore educativo**;
- b) una valutazione della conformità del progetto ai **requisiti di sostituzione, riduzione e perfezionamento**;
- c) una valutazione ed assegnazione della **classificazione della gravità delle procedure**;
- d) un'analisi dei danni e dei benefici del progetto, per comprendere **se il danno arrecato agli animali in termini di sofferenza**, dolore o angoscia sia giustificato dal risultato atteso, tenuto conto di considerazioni etiche, **e possa, in definitiva, andare a beneficio degli esseri umani, degli animali e dell'ambiente**;
- e) una valutazione delle giustificazioni di cui agli articoli da 6 a 12, 14, 16 e 33; e
- f) la decisione sull'opportunità di **una valutazione retrospettiva del progetto**, stabilendo anche quando effettuarla.

L'autorità competente che esegue la valutazione del progetto prende in considerazione in particolare *competenze specialistiche nei seguenti settori*:

- a) *settori di applicazione scientifica* nei quali gli animali saranno utilizzati, ivi compresi sostituzione, riduzione e perfezionamento nei rispettivi settori;
- b) *progettazione sperimentale* e, se del caso, dati statistici;
- c) *pratica veterinaria* nelle scienze degli animali da laboratorio o, se del caso, pratica veterinaria applicata alla fauna selvatica;
- d) *allevamento e cura degli animali* in relazione alle specie che si intende utilizzare.

La direttiva 63/2010 utilizza la trasparenza e la circolazione delle informazioni sulle procedure come strumento di riduzione effettiva delle sperimentazioni e come garanzia presso i cittadini che le attività su animali sono parte di un processo globale della ricerca scientifica che comunque mira alla progressiva esclusione degli animali dall'utilizzo

Per le presentazioni degli altri relatori si rimanda al sito dell'Istituto Zooprofilattico sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna.