

BIOETICA

SPERIMENTAZIONE ANIMALE E PRIMATI NON UMANI: IL RUOLO DEL VETERINARIO

Antonella Comini

Medico veterinario, già collaboratore ISS

Il tema della sperimentazione animale è tuttora molto dibattuto sia dal punto di vista bioetico (è ancora giusto?) sia dal punto di vista scientifico (è ancora veramente utile?).

Senza entrare nel merito di questa annosa diatriba cercheremo di dare una visione oggettiva delle problematiche che possa risultare utile per chi opera nel campo della sperimentazione sui primati non umani.

In Italia la prima normativa sull'utilizzo degli animali a fini sperimentali, risale alla L. n. 924/31⁽¹⁾ in seguito modificata dalla L. n. 615/41⁽²⁾. La legge del '31, definita anche "Legge per il controllo della vivisezione sugli animali a sangue caldo (mammiferi e uccelli)", consisteva in pochi articoli, il primo dei quali vietava "la vivisezione se non a scopo di promuovere il progresso della biologia e della medicina". Nonostante ciò nella legge del '31 così come nella successiva modifica del '41 viene usato comunemente il termine "vivisezione" e non è presente il concetto di "benessere animale". In base alla circolare n.15 del 18/2/74, veniva precisato che si doveva intendere con il termine "vivisezione" un esperimento che comportava la sezione del corpo su animali vivi. Quindi, di fatto, la più grande divergenza tra i ricercatori e gli animalisti si basa ancora sull'equivoco che identifica la sperimentazione animale con la vivisezione e nel corso degli anni tali divergenze si sono inasprite mantenendo sempre scottante il problema bioetico. Alla fine degli anni '50 due studiosi, Russel e Burch, scrivono un libro sui metodi alternativi alla sperimentazione animale mettendo in discussione la validità stessa del modello animale e formulando la "regola delle 3R: *Replace, Reduce, Refine*, che intende promuovere qualunque metodo sostituisca o riduca il numero di animali necessario per eseguire un determinato studio o che comunque, se proprio non se ne può fare a meno, ne riduca perlomeno la sofferenza.

Negli anni successivi il termine vivisezione comincia ad assumere il significato di una attività sperimentale nociva su degli animali senzienti ai quali viene quindi riconosciuta la facoltà di sentire dolore, sofferenza ansia e angoscia. Negli anni '70 la protesta contro la pratica della vivisezione diventa una vera e propria ideologia, nascono movimenti anti-vivisezione e vengono scritti libri che faranno epoca, come il famoso "Imperatrice nuda" di

Hans Ruesch (1976) che denuncia con veemenza le atrocità che in nome della scienza vengono compiute sugli animali. Tutto ciò accadeva anche perché la mancanza di un sistema normativo appropriato e quindi di una vigilanza efficace, consentiva agli sperimentatori senza scrupoli di operare in assoluta libertà. La progressiva sensibilizzazione dell'opinione pubblica alla sofferenza degli animali impiegati nella sperimentazione ha determinato, nei paesi occidentali, l'adozione di un insieme di provvedimenti legislativi nel tentativo di garantirne la protezione ed il benessere. Tali provvedimenti hanno come matrice comune la "Dichiarazione universale dei diritti degli animali" proclamata solennemente nel 1978 a Parigi nella sede dell'UNESCO.

In Europa tale evento viene seguito dalla creazione di provvedimenti riguardanti il benessere degli animali da laboratorio tra cui il più importante è la "Convenzione Europea sulla protezione degli animali vertebrati usati a fini sperimentali o ad altri fini scientifici" ratificata a Strasburgo il 18 marzo del 1986 dalla maggior parte dei paesi europei. Nello stesso anno è stata adottata dai paesi membri dell'Unione europea la Direttiva CEE 86/609 recepita in Italia con il Decreto Legislativo 116 del 27 gennaio 1992⁽³⁾ che ha sostituito a tutti gli effetti la legge del '31.

Questo provvedimento ha portato sostanziali modifiche al concetto di sperimentazione animale introducendo l'*obbligo* della cura estrema dell'animale sperimentale e investendo il medico veterinario del ruolo di responsabile del benessere animale.

Permangono comunque alcune differenze tra il testo originale della Direttiva ed il suo recepimento che in seguito esporremo.

I primati come modello animale (Tabella 1)

Nel DLvo 116/92 le sorti dei primati non umani vengono accomunate a quelle di cani, gatti e di animali appartenenti a specie in via di estinzione, difatti al capo II (Disposizioni Derogatorie) l'art.8 riporta che "il Ministero della Salute può autorizzare esperimenti su primati soltanto per verifiche medico-

Tabella 1 - CLASSIFICAZIONE dei PRIMATI VIVENTI (R. D. Martin)

SOTTORDINE	INFRAORDINE	SUPERFAMIGLIA	FAMIGLIA	SOTTOFAMIGLIA
			Cheirogaleidae	
PROSIMII	LEMURIFORMES (Madagascar)	LEMUROIDEA	Lemuridae	Lemuridae <i>Lemur</i>
				Lepilemurinae <i>Lepilemur</i>
			Indridae	
			Daubentoniidae	
	LORISIFORMES (Asia e Africa)	LORISOIDEA	Lorisidae	Lorisinae Galaginae
TARSIFORMES (Asia)	TARSIOIDEA	Tarsiidae		
ANTHROPOIDEA	PLATYRRHINI (Nuovo Mondo)	CEBOIDEA	Cebidae	Cebidae <i>Cebus</i> <i>Saimiri</i>
				Aotinae
				Atelinae
				Alouattinae
				Phiteciinae
			Callimiconinae	
	Callitrichidae	<i>Callithrix</i>		
	CATARRHINI (Vecchio Mondo)	CERCOPITHECOIDEA	Cercopithecidae	Cercopithecidae <i>Cercopithecus</i> <i>Macaca</i> <i>Erythrocebus</i> <i>Cercocebus</i> <i>Papio</i> <i>Theropithecus</i>
				Colobinae <i>Colobus</i> <i>Nasalis</i> <i>Presbytis</i> <i>Procolobus</i> <i>Pygathrix</i>
		OMINOIDEA	Hylobatidae	Hylobatinae <i>Hylobate</i>
			Pongidae	Ponginae <i>Pongo</i> <i>Pan (troglodytes, paniscus)</i> <i>Gorilla</i>
Hominidae			Homininae <i>Australopithecus</i> <i>Homo</i>	

Le più comuni specie di primati usati nella sperimentazione in Europa sono:

Macaca fascicularis Cynomolgus monkey; *Macaca mulatta* Rhesus monkey; *Cercopithecus aetiops* African Green monkey o vervet o *Chlorocebus aetiops*
Papio spp Babbuino; *Saimiri sciureus* Squirrel monkey; *Callithrix jacchus* Marmoset

biologiche essenziali purché la specie considerata si riveli, eccezionalmente, l'unica adatta allo scopo".

Questo concetto viene ribadito nella Circolare n. 8 del 22/4/94, emanata dal Ministero della Salute, che prevede inoltre che la deroga sia concessa solo dopo che gli organismi preposti abbiano valutato accuratamente procedura e tecniche che si intendono utilizzare nonché il fine. Pertanto le relative richieste di autorizzazione devono essere supportate da idonea documentazione tecnico-scientifica e validate dal Ministero della Salute.

Secondo alcuni la sperimentazione su animali avrebbe consentito di acquisire molte delle attuali conoscenze in campo biomedico e di ottenere risultati difficilmente raggiungibili in altro modo. La gran parte dei ricercatori concorda che i metodi alternativi all'uso di animali vengano impiegati quando è possibile, ma che tuttavia abbiano un effetto ancora limitato in quanto possono solo in parte sostituire la completezza di un organismo vivente e sostiene inoltre che allo stato attuale esistano pochi metodi alternativi che possano sostituire totalmente in maniera efficace un esperimento sugli animali.

Durante il ventesimo secolo, tutte le più importanti scoperte nel campo della medicina e della farmacologia, derivano da ricerche effettuate su animali.

Dal 1901, due su tre dei Premi Nobel per la Medicina, sono stati assegnati per scoperte rese possibili dal sacrificio di animali.

In America, dati U.S.D.A⁽⁴⁾, il 90% degli animali da laboratorio sono: topi, ratti, cavie, conigli e altri piccoli roditori allevati per questo scopo. Nel restante 10% ci sono cani, gatti, maiali, pecore ed altri animali usati occasionalmente e solo lo 0,5% circa è rappresentato da primati non umani.

In Italia la percentuale dei primati non umani utilizzati nella ricerca nell'anno 2003 è stata dello 0,06% (Tabella 2).

Nonostante la percentuale di primati non umani usata nella ricerca sia così esigua, sembra che proprio questa specie abbia permesso i maggiori progressi nella prevenzione e nella cura di malattie come la polio-mielite e l'epatite B (tabella 3).

I sostenitori del modello animale rappresentato da primati non umani affermano che la scelta deriva da similitudini filogenetiche e comportamentali.

I primati, soprattutto gli antropomorfi, sono geneticamente molto più vicini all'uomo di qualsiasi altra specie animale e ciò permetterebbe indagini accurate delle complesse caratteristiche fisiologiche che l'uomo condivide solo con tali animali. Lo studio sui primati non umani consentirebbe la caratterizzazione di malattie che essi contraggono naturalmente, rendendoli modelli animali ideali. Tra queste ci sono malattie croniche degenerative senili quali l'aterosclerosi e l'osteoporosi.

Questi animali sono usati come modelli sperimentali per studiare *in vivo* i meccanismi di:

- malattie contagiose quali l'AIDS, l'epatite B e la malaria;
- malattie autoimmuni, immuni e neurologiche quali l'artrite reumatoide, il morbo di Alzheimer, la sclerosi a placche e il morbo di Parkinson;

e per provare l'efficacia di:

- nuovi studi terapeutici basati su sostanze ad attività biologica naturalmente prodotti dall'organismo quali le citochine dei linfociti;

- nuove generazioni di vaccini;

- nuovi studi terapeutici basati sull'ingegneria genetica, attendibile solo se studiata su animali geneticamente così simili agli esseri umani, per la limitata reattività specie-specifica.

Inoltre, la possibilità di studiare le dinamiche sociali di gruppi di animali permetterebbe di verificare anche specifiche ipotesi genetiche che non sarebbe possibile indagare altrimenti su una popolazione umana. Infatti oltre alla sperimentazione prettamente di interesse biomedico, primati non umani vengono utilizzati anche per studi comportamentali di interesse sociologico e psicologico.

Queste sorprendenti somiglianze renderebbero i primati non umani modelli particolarmente idonei per alcuni campi della ricerca, ma allo stesso tempo pongono rilevanti interrogativi bioetici.

Ruolo del medico veterinario

Nella sperimentazione animale, un ruolo di rilievo spetta al veterinario. Questa figura professionale necessita innanzi tutto di accettare in coscienza la realtà della sperimentazione condotta

Tabella 2. Primati non umani utilizzati nella sperimentazione in Italia dal 1992 al 2003
(GU n. 194 del 21/08/1995, GU n. 32 del 12/09/98, GU n. 279 del 30/11/01 e GU n. 2 del 4/01/05)

	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003
PRIMATI NON UMANI	561	398	290	896	776	583	277	512	578	470	420	496
TOTALE ANIMALI SPERIMENTALI	1.199.352	1.189.049	1.094.556	956.998	1.079.705	1.146.968	1.099.491	974.692	900.673	923.594	924.889	886.559
% PRIMATI NON UMANI USATI ANNUALMENTE	0,05	0,03	0,03	0,09	0,07	0,05	0,02	0,05	0,06	0,05	0,04	0,06

Tabella 3 - Da: 1999 Report of Progress, p.42 (Southwest Foundation for Biomedical Research)

Primo'900	<ul style="list-style-type: none"> - Scoperta dei componenti del sangue e del plasma - Trattamento della pellagra
Anni'20	<ul style="list-style-type: none"> - Capacità di diagnosi e trattamento della febbre tifoide
Anni'30	<ul style="list-style-type: none"> - Metodi di anestesia moderna e farmaci miorilassanti - Scoperta del virus della parotite infettiva (orecchioni)
Anni'40	<ul style="list-style-type: none"> - Trattamento dell'artrite reumatoide - Scoperta dei fattori Rh del sangue
Anni'50	<ul style="list-style-type: none"> - Sviluppo del vaccino anti-polio-mielite - Scoperta della clorpromazina ed altri tranquillanti derivati - Chemioterapia come trattamento dei tumori - Sviluppo del vaccino contro la febbre gialla
Anni'60	<ul style="list-style-type: none"> - Mappatura completa delle connessioni tra cuore e arterie - Sviluppo del vaccino del morbillo - Uso terapeutico del cortisone - Trapianti corneali
Anni'70	<ul style="list-style-type: none"> - Trattamento della lebbra - Procedure per il ripristino della circolazione ematica nelle ischemie encefaliche - Interazioni tra virus oncogeni e genoma dell'ospite - Comprensione del meccanismo di azione dei virus lenti
Anni'80	<ul style="list-style-type: none"> - Sviluppo delle ciclosporine e di altri farmaci anti-rigetto - Elaborazione dell'informazione visiva da parte del cervello - Identificazione dei co-fattori psico-fisiologici negli stati di depressione, ansietà e fobia - Trattamento della malnutrizione nella anoressia successiva alla chemioterapia - Trattamento della cataratta congenita e dell'occhio pigro nel bambino - Primo modello animale nella ricerca sul morbo di Parkinson - Trapianto di cuore e polmoni per il trattamento dell'ipertensione cardio-polmonare - Primo vaccino anti epatite B - Modello basato sul Rhesus per lo studio sull'efficacia di somministrazioni precoci di AZT in caso di AIDS conclamato - Integrazione di taurina alle diete per neonati per il normale sviluppo della retina
Anni'90	<ul style="list-style-type: none"> - Scoperta del ruolo degli estrogeni nella produzione di serotonina - Studi sulla tossicità del piombo - Ulteriori sviluppi per farmaci antirigetto monodose - Primi studi controllo sugli effetti dell'alcool in gravidanza - Comprensione dei meccanismi ormonali e dei disordini nella pubertà - Migliore comprensione di meccanismi della riproduzione e dei disordini genetici - Controllo dell'iperplasia dell'intima - Studio dei danni cerebrali a lungo termine causati dall'ectasia vascolare - Trapianto polmonare intraparentale nella la fibrosi cistica - Progressi nella cura nei diabeti - Nuove ricerche verso la cura dell'Alzheimer attraverso la scoperta di meccanismi rigenerativi naturali nel cervello di alcuni primati - Caratterizzazione di malattie infettive emergenti - Sviluppo di colture cellulari di origine renale nella diagnosi dell'influenza - Sviluppo del vaccino anti carbonchio
2000	<ul style="list-style-type: none"> - Studio del gene che codifica per la produzione della dopamina nello studio sul morbo di Parkinson - Comprensione degli effetti della malaria nella gravidanza e nel neonato - Caratterizzazione della ciclospora - Sviluppo nei Rhesus del principale modello per il trattamento e lo studio di potenziali vaccini contro l'HIV

mediante animali e deve naturalmente provvedere alla salute ed al benessere degli animali affidati al suo controllo così come previsto dal DLvo116/92 e nel rispetto del Codice deontologico (art. 28).

Il veterinario si trova nella difficile condizione di dover contribuire a conciliare le esigenze dei protocolli sperimentali con le basilari necessità di salute, di igiene e di natura etologica degli animali. Appare superfluo sottolineare quanto tali necessità siano ulteriormente esaltate quando si tratta di primati non umani. Il veterinario è pertanto una figura certamente non estranea al dibattito bioetico, ma nella pratica professionale, questo aspetto deve essere sospeso sul piano dell'azione sanitaria nella continua ricerca di quell'equilibrio, non facile, che permette le attività sperimentali, pur nella tutela degli animali.

Il D.Lvo 116/92 detta norme vincolanti anche per il "veterinario responsabile del benessere"; questa disposizione normativa rende dunque un *obbligo* e non una facoltà, il rispetto delle condizioni di benessere degli animali usati in sperimentazione, proprio attraverso l'opera professionale del veterinario incaricato di tale servizio.

Infatti nel dettaglio il Decreto dispone sulla materia secondo le seguenti linee:

- art. 5 Chi alleva, fornisce o utilizza animali da esperimento deve provvedere a che

d) un medico veterinario controlli il benessere e le condizioni di salute degli animali allo scopo di evitare danni durevoli, dolore, inutili sofferenze o angoscia;

- art. 6 punto 4 Un medico veterinario controlla la buona esecuzione delle procedure di esperimento, al termine decide se l'animale debba essere mantenuto in vita o sottoposto ad eutanasia, procede comunque alla sua soppressione quando nell'animale permangono condizioni di sofferenza o angoscia oppure quando sia impossibile mantenere l'animale nelle condizioni di benessere di cui all'art.5;

- art. 12 L'autorizzazione alla sperimentazione è concessa dal Ministero della Salute solo se sono anche assicurate da parte di un medico veterinario la consulenza e l'assistenza veterinaria nonché la consulenza sul benessere degli animali.

Inoltre il medico veterinario viene nominato nel capitolo delle sanzioni:

- art. 14 punto 2 Il medico veterinario che omette la consulenza e l'assistenza al buon mantenimento degli animali ed alla buona esecuzione degli esperimenti o che le effettua con negligenza o imperizia gravi viene deferito all'ordine dei medici veterinari a cui è iscritto.

Le difficoltà applicative, legate anche alla natura innovativa del DLvo 116/92, hanno reso necessaria l'emanazione di alcune circolari esplicative: n.32 del 26/8/92, n.17 del 5/5/93, n.18 del 5/5/93, n.8 del 22/4/94; in particolare quest'ultima torna a parlare del medico veterinario e precisa, oltre a ribadire quanto già previsto nel Decreto che:

- il controllo delle condizioni di salute degli animali e l'assistenza sanitaria devono essere assicurate da un medico veterinario che svolge, inoltre, funzioni di consulenza sul benessere degli animali nelle diverse fasi, ivi compresa quella dell'impiego;

- il medico veterinario può essere un dipendente della struttura (stabilimento produttore o utilizzatore) ovvero un medico veterinario libero professionista con rapporto di consulenza e tale controllo si esercita nell'ambito della verifica generale del protocollo di sperimentazione quando ricorrano, nel corso delle singole prove, le circostanze predette (possibilità di danni durevoli, dolore, inutili sofferenze o angoscia).

- nel caso di prove di tipo routinario e sistematico non implicanti tecniche sperimentali a rischio per la tutela del benessere animale, la cui esecuzione è realizzata secondo prassi consolidate di laboratorio, non è necessaria la presenza del medico veterinario. Tale valutazione di rischio è comunque a discrezione del medico veterinario.

Il DLvo 116/92 assegna al medico veterinario un ruolo e dei compiti ben precisi nel controllo del benessere e delle condizioni di salute degli animali, mentre la Direttiva CEE, riguardo questi compiti è meno specifica; infatti l'art. 19 si riferisce a "un veterinario o altra persona competente" come consulente sul benessere animale, mentre l'art. 9 attribuisce la responsabilità riguardo l'eventuale decisione di sacrificio a "persona competente, di preferenza un veterinario".

Comunque anche se il DLvo indica come responsabile unico il medico veterinario, questo non significa che poi nella realtà ciò sia così scontato. L'inquadramento professionale, citato nella circolare n. 8, spesso mette il veterinario di fronte alla necessità di prendere decisioni sulla sorte degli animali che non fanno gli interessi della struttura o della Ditta per cui presta la sua consulenza e questo lo mette automaticamente in una situazione conflittuale e purtroppo può subire pressioni dal datore di lavoro per una risoluzione che può penalizzare l'animale. D'altro canto il veterinario rischia, a seguito di provvedimento disciplinare intentato dall'Ordine di appartenenza, fino alla radiazione dall'Albo professionale (art. 14). Ma se si mette contro i suoi datori di lavoro con le sue decisioni, rischia la perdita del contratto di lavoro. Come si tutela, in questo caso, lo svolgimento della professione veterinaria?

Valutazione del benessere

La riflessione da fare come premessa fondamentale per affrontare questo complesso argomento, ricordando che si parla di primati non umani, è capire se lo stato di benessere dell'animale non sia solo lo stato ideale per l'animale stesso, ma se il suo stato mentale abbia anche potenzialmente la capacità di influenzare i risultati scientifici. Come dire che per assicurare una "buona scienza", basata sull'uso dei primati, essi devono avere una normale fisiologia ed un normale comportamento. È evidente e confermato da più fonti scientifiche che animali il cui benessere è compromesso mostrano anche alterazioni della fisiologia del sistema endocrino e di quello immunitario, di conseguenza gli esperimenti basati su questi animali potrebbero portare a conclusioni inattendibili. Quindi il benessere degli animali da laboratorio è fondamentale non solo in campo bioetico ma anche per le esigenze scientifiche e coinvolge sia i veterinari che i ricercatori e tutti coloro che si occupano di sperimentazione

animale. Numerosi sono stati i tentativi di definire il benessere e la possibilità di misurarlo da parte degli studiosi. Non esiste perciò una definizione unica di benessere animale, ma piuttosto una serie di definizioni che rispecchiano il punto di vista e la formazione di chi le propone. Tra le più note, per esempio, secondo Broom, il benessere è “la situazione di un organismo in relazione ai suoi tentativi di adattarsi all’ambiente”. Secondo Hughes “il benessere animale è uno stato di salute mentale e fisica completa per cui l’animale è in armonia con il suo ambiente”. Le reazioni all’ambiente, intese come percezione degli stimoli ambientali e risposta a tali stimoli, sono collegate alle relazioni esistenti tra sistema nervoso, sistema endocrino e sistema immunitario del soggetto. L’analisi congiunta di diversi indicatori di benessere è necessaria per verificare il corretto funzionamento dell’organismo nel suo insieme. Mentre lo stress è definito come la risposta adattativa dell’organismo ai fattori stressanti, il concetto di *distress* è ben più grave perché è definito come lo stato in cui l’animale è incapace di adattarsi ad alterazioni ambientali o a stimoli interni all’organismo.

Da un punto di vista scientifico e pratico, oltre alle definizioni, è importante delineare metodi e parametri il più possibile oggettivi, necessari per una corretta valutazione del benessere animale. Una visione completa può essere ottenuta solamente da un approccio multidisciplinare al problema, in grado di valutare contemporaneamente, attribuendo a ciascuno il giusto peso, i principali indicatori di benessere. La fisiologia e le scienze comportamentali ci indicano i parametri di riferimento per come valutare il benessere. La bioetica, nella misura in cui accorda rilevanza morale a determinati caratteri, individuando correttamente lo stato di paziente morale all’animale, dà una forte motivazione sul perché.

INDICATORI ETOLOGICI

Il modo più semplice per valutare il benessere degli animali da esperimento è osservarne il comportamento.

Si può dire che un animale sta bene, quando è vigile ed intento alle sue occupazioni, mostra un vasto repertorio di azioni, è sicuro di sé, mangia e beve normalmente, rimane tranquillo verso semplici stimoli esterni (che possono essere di routine tipo l’operatore che pulisce la stanza, ecc.) e non manifesta comportamenti anomali. Per dare questo tipo di giudizi naturalmente è importante avere familiarità con gli animali, conoscerne il carattere singolarmente perché, come in tutti gli animali più evoluti, alcuni individui sono estroversi ed attivi mentre altri sono tranquilli e quasi letargici. Ciò richiede da parte del veterinario un ampliamento delle proprie conoscenze in campo etologico, per essere in grado di riconoscere e distinguere situazioni di sofferenza imputabili a patologie ad eziologia organica da disturbi comportamentali veri e propri. L’etogramma, che definisce il repertorio comportamentale di ogni specie animale, risulta quindi fondamentale per la comprensione delle caratteristiche dell’animale e dei bisogni eto-fisiologici di specie. Gli indicatori comportamentali più significativi in caso di malessere sono:

- attività (assenza o eccesso di *grooming*);
- consumo di cibo ed acqua (scarso);
- postura e locomozione (testa reclinata con braccia incrociate sul corpo, tendenza ad accovacciarsi, tremori, posture bizzarre);
- aggressività (verso i compagni o verso se stessi, automutilazioni);
- vocalizzazioni (urla, gemiti, lamenti);
- stereotipie (dondolamento, ondeggiamento, girare su se stessi, aerofagia);
- aspetto sofferente con “espressione facciale triste”;
- paura.

INDICATORI BIOCHIMICI

Esiste la possibilità di valutare il benessere attraverso specifici parametri metabolici, immunitari ed endocrini riconosciuti come indicatori di benessere, inteso come adattamento all’ambiente. Tali parametri sono rilevabili con il monitoraggio dei livelli ematici di:

- cortisolo;
- catecolamine;
- insulina;
- glucagone;
- % di leucociti e caratterizzazione fenotipica delle sottopopolazioni linfocitarie in particolare CD4 e CD8 che subiscono variazioni significative in caso di stress;
- livelli urinari di cataboliti di amine.

Le condizioni di stress acuto e cronico determinano alterazioni di tutti questi parametri, tuttavia tali indagini comportano procedure troppo invasive (prelievi di sangue e di urina) per essere usate solo per la valutazione del benessere però potrebbero essere facilmente pianificate insieme con i prelievi già previsti dal protocollo sperimentale.

INDICATORI FISIOLGICI

Sono indicatori nella valutazione del benessere anche parametri fisiologici quali:

- la temperatura corporea;
- la frequenza cardio-respiratoria;
- le variazioni di peso corporeo;
- altri sintomi clinici significativi (ad esempio la diarrea frequente).

Per questi parametri ci si trova di fronte alla difficoltà di dare un’interpretazione obiettiva ma anche in questo caso si potrebbe tentare di schematizzare questi dati, presi soprattutto dalla clinica, in modo da renderli utilizzabili anche in funzione della valutazione del benessere.

FATTORI CHE POSSONO CAUSARE SOFFERENZA PSICHICA NEI PRIMATI NON UMANI

Ci sono molte potenziali cause di stress nei primati non umani usati nella sperimentazione.

Cause sociali

Il sovraffollamento o più spesso l'isolamento: le tensioni gerarchiche in animali stabulati in gruppo possono causare stress o scatenare aggressività.

Gli animali a stabulazione singola, procedura spesso richiesta in regime di sperimentazione, possono arrivare a forme di grave autolesionismo fino alla automutilazione. Appare evidente che i primati in cattività, soprattutto quelli a stabulazione singola, se il loro ambiente non è sufficientemente interessante, possono essere annoiati e manifestare comportamenti anomali, stereotipie e arrivare addirittura all'autoaggressività, ultimo gradino del *distress*. In questi casi per minimizzare la sofferenza emotiva basterebbe semplicemente adottare sistemi di arricchimento alimentare ed ambientale. I primati non umani sono caratterizzati da una plasticità e potenzialità del repertorio comportamentale tale che l'introduzione di elementi innaturali nell'ambiente di cattività può corrispondere ad un aumento del benessere psicologico (Morris, 1962).

Il distacco precoce dalla madre può provocare spesso gravi disturbi comportamentali.

Cause legate alla gestione degli animali

Uno dei più importanti aspetti della vita dei primati non umani usati nella sperimentazione è la relazione con gli operatori che si occupano della loro pulizia, cura e delle manualità sperimentali, dai quali sono totalmente dipendenti.

Gli operatori che si occupano della cura degli animali, se non sono sempre gli stessi o se producono rumori forti e improvvisi durante le operazioni di pulizia, possono provocare agitazione e paura. Proprio riguardo al rumore l'Allegato 2 del DLvo 116/92 dice al punto 2.5 "...Rumori improvvisi possono determinare importanti modifiche delle funzioni organiche ma, essendo taluni rumori sovente inevitabili, può essere opportuno, in determinate circostanze, fornire nei locali di permanenza e nelle sale da esperimento un fondo sonoro continuo di intensità moderata, quale la musica dolce."

Altro evento stressante per gli animali è cambiare il loro ambiente abituale.

Quando un animale viene spostato da una gabbia in cui era alloggiato da tempo ad un'altra è buona pratica permettere all'animale di acclimatarsi alla nuova situazione prima di sottoporlo ad un esperimento e questo non solo riguardo al benessere ma anche perché il risultato potrebbe essere influenzato. Altro aspetto importante da considerare è il modo in cui gli animali vengono maneggiati o contenuti. Il contenimento di certe gabbie per diverse manualità procura all'animale motivo di stress. Le scimmie, come la maggior parte dei mammiferi, possono essere facilmente addestrate a collaborare in alcune procedure sperimentali. Per esempio, le scimmie rhesus addestrate a porgere la zampa per un'iniezione mostrano una minore incidenza di diarrea rispetto ad animali che per la stessa semplice procedura vengono risretti fisicamente (Reinhardt 1990, 1992). Quando una procedura sperimentale deve essere eseguita è preferibile che gli operatori siano persone conosciute dagli animali, e con i quali hanno confidenza. Un

operatore sconosciuto indubbiamente provocherà paura e stress. L'approccio amichevole e la manualità "gentile" fa la differenza per l'animale. Attuare buone manualità e addestrare l'animale alla collaborazione non solo migliora la qualità del rapporto operatore-animale, ma permette anche all'animale di esercitare la sua intelligenza. Se l'animale sperimentale è stato abituato a collaborare, avrà più confidenza e fiducia nell'operatore e sarà meno stressato, anche l'esperimento verrà migliorato con l'eliminazione di quelle variabili legate allo stress. Mettendo in pratica queste procedure da parte dello staff che si occupa degli animali, non solo si migliora il benessere degli animali ma si ottengono animali meno paurosi, più tranquilli e collaborativi, più facilmente maneggiabili, insomma soggetti migliori anche per la ricerca scientifica.

Cause sperimentali

Il più ovvio caso di "mancato benessere" è quando un animale è malato o ferito. I sintomi clinici possono variare da meno gravi a molto seri, spesso questa condizione è causata all'animale proprio dalle procedure sperimentali e qui si apre un capitolo diverso che non riguarda più la valutazione del benessere ma introduce la questione dell'"end-point" della sperimentazione. "End-point" che letteralmente significa punto finale è il sacrificio dell'animale che segna la fine dell'esperimento. Può succedere che l'end-point, previsto in ogni caso dal protocollo sperimentale, abbia luogo con il sacrificio degli animali che arrivano comunque alla fine della sperimentazione in buone condizioni di salute. Ma più spesso può accadere che durante lo svolgimento del protocollo sperimentale un animale si ammali e le sue condizioni diventino critiche in breve tempo. E qui spesso nasce il conflitto tra l'esigenza dello sperimentatore di tenere l'animale in vita anche in condizioni precarie di salute e la necessità di sacrificare l'animale per motivi etici. In questo caso la decisione *deve spettare* al veterinario che *deve decidere* per il sacrificio basandosi sulle condizioni di salute dell'animale e non sulle esigenze dello sperimentatore, come prevede il DLvo 116/92 (art. 6, punto 4). Non sempre questo accade in completa autonomia.

Benessere e legislazione

Nel decreto Legislativo 116/92 il concetto di benessere fa riferimento a specifiche esigenze dell'animale, l'art. 5 e l'allegato II danno le linee di indirizzo riguardo la stabulazione degli animali, le dimensioni delle gabbie, i parametri di temperatura e umidità dell'ambiente di stabulazione e nel comma 1. dell'art. 5 ci sono delle indicazioni più generali ma sicuramente basilari: a) gli animali siano tenuti in un ambiente che consente una certa libertà di movimento e fruiscano di alimentazione, acqua e cure adeguate alla loro salute e al loro benessere; b) sia ridotta al minimo qualsiasi limitazione alla possibilità di soddisfare ai bisogni fisiologici e comportamentali dell'animale. Sempre nell'art. 5 si identifica nella figura del medico veterinario il responsabile del benessere animale riconoscendo che il benessere è un aspetto strettamente correlato alle condizioni di salute dell'animale.

Per quanto riguarda le dimensioni delle gabbie l'Allegato II del Decreto recita: "Data l'enorme varietà delle misure e delle caratteristiche dei primati, è particolarmente importante far concordare la struttura, le attrezzature interne e le dimensioni delle gabbie ai bisogni specifici dei primati. Per questi ultimi, il volume complessivo della gabbia è tanto importante quanto la superficie minima del pavimento. Come norma generale, l'altezza della gabbia, almeno per le scimmie antropoidi ed altre scimmie, dovrebbe essere la dimensione più grande. L'altezza minima della gabbia, per i primati dovrebbe consentire agli animali di tenersi eretti e di potersi dondolare in estensione totale a partire dal soffitto, senza che i piedi tocchino il pavimento della gabbia. Se necessario, si dovrebbero installare dei posatoi per permettere agli animali di utilizzare la parte superiore della gabbia". Queste indicazioni sono sicuramente troppo generali, non dicono quasi niente su come lo spazio deve essere articolato e su eventuali arricchimenti ambientali che possano servire ad alleviare la cattività. Per quanto riguarda i bisogni sociali dei primati da laboratorio l'Allegato aggiunge: "È possibile alloggiare in una gabbia due primati che vanno d'accordo. Quando i primati non possono essere alloggiati a due, le gabbie dovrebbero essere disposte in modo che i primati possano vedersi ma, anche, se necessario, non vedersi". Anche queste indicazioni sono insufficienti a delineare specifici bisogni sociali e non sottolineano nemmeno l'unico concetto fondamentale, che tutte le scimmie sono animali sociali, quindi una condizione di isolamento è da evitare. È certo che una scimmia non dovrebbe essere alloggiata da sola per un tempo superiore a quello strettamente necessario.

È interessante ora riportare una piccola differenza tra la Direttiva 86/609 e il suo recepimento nel DLvo 116/92 sulla cura degli animali.

Infatti al punto 5 dell'allegato II del DLvo si definisce: la parola "tutela", riferita agli animali da esperimento e a tutti gli aspetti della relazione tra l'animale e l'uomo, come "la somma di risorse materiali utilizzate dall'uomo".

Nell'allegato II della Direttiva allo stesso punto e con lo stesso termine si intende invece "la somma delle risorse materiali e non materiali utilizzate dall'uomo". Le risorse non materiali che l'uomo può impiegare per la tutela dell'animale rappresentano il significato più puramente bioetico della tutela, sarebbe a dire la dedizione, l'affezione che sono altrettanto necessarie a questi animali come le risorse materiali. Viene da chiedersi perché nel recepimento del DL116/92 ciò sia stato ritenuto superfluo considerando anche il vantaggio economico: le risorse non materiali non costano niente!

Ci sembra importante anche riportare il punto 3.10. dell'Allegato II della Direttiva (integrato dal Dlvo solo ventidue mesi dopo il recepimento con la rettifica della GU n.294 del 18/11/93) "Moto e maneggiamento degli animali" di cui il punto 3.10.2 fornisce indicazioni che danno una ulteriore conferma di ciò che si è sostenuto fino ad ora sul trattamento dei primati non umani. Esso recita infatti: "Il comportamento dell'animale durante un esperimento dipende enormemente dalla fiducia che esso ripone nell'uomo, fiducia che occorre coltivare. L'animale selvatico,

o randagio, non sarà probabilmente mai l'animale ideale per gli esperimenti. Diverso è il caso dell'animale domestico, nato ed allevato a contatto dell'uomo. La fiducia, una volta creata, va mantenuta. Si raccomanda quindi di intrattenere frequenti contatti, in modo che gli animali si abituino alla presenza e all'attività dell'uomo. Se necessario, occorrerà dedicare un certo tempo a prendere confidenza con gli animali, ad occuparsene ed a pulirli. Nel trattare con gli animali il personale dovrà dimostrare benevolenza, dolcezza e fermezza". È un riferimento a quelle risorse umane non materiali omesse dal DLvo 116/92 che non tiene conto delle loro vantaggiose potenzialità.

È molto difficile schematizzare e risolvere in una legge le problematiche del benessere dei primati non umani nella sperimentazione che è già di per sé un paradosso.

In previsione di ciò la Commissione Europea ha adottato il 17 dicembre 2002 una aggiornatissima linea guida su "Il benessere dei primati non umani nella ricerca biomedica" rapporto della Commissione Scientifica sulla Salute e il Benessere Animale. Per la prima volta viene introdotta la figura dell'Etologo tra il personale coinvolto nella cura e nell'uso di questi animali in collaborazione con quella del Veterinario.

Valutazione clinica

Il regolare controllo e il conseguente rapporto sullo stato di salute sono requisiti basilari per la caratterizzazione degli animali usati nella ricerca biomedica, in tutte le fasi della sperimentazione dalla fase preliminare fino all'eutanasia. Con i primati non umani inoltre il vantaggio sta nella possibilità di seguire gli animali singolarmente e di avere un riscontro immediato e facilmente comparabile degli effetti della sperimentazione su ogni singolo individuo. Questo non è facilmente constatabile se si usano animali come ratti o topi in cui per ovvi motivi (di numero ed anche per le dimensioni) non è possibile avere un approccio clinico individuale.

I primati usati nella sperimentazione biomedica, vengono stabulati in gabbie singole o in coppia, oppure possono essere tenuti in gabbioni sociali durante la fase pre-sperimentale per diminuire il periodo di isolamento che per questi animali sociali è sicuramente causa di stress. L'esame clinico si divide in due principali procedure: la parte esclusivamente visiva che comprende l'ispezione giornaliera e la visita clinica vera e propria. Quest'ultima si esegue sui singoli animali quando per prelievi o altre attività sperimentali si ricorre all'anestesia generale.

ESAME ISPETTIVO

Anche se nati in cattività, questi animali rimangono pur sempre animali selvatici e come tali tendono a nascondere un eventuale stato patologico e questo evidenzia la difficoltà dell'esame ispettivo. Nonostante ciò, è importante controllare giornalmente gli animali sperimentali e annotare anche le caratteristiche comportamentali soggettive che sono molto significative per

avere un quadro generale della normalità per ogni animale. Naturalmente l'esame ispettivo si basa sugli indicatori etologici della valutazione del benessere. Nell'esame ispettivo si prende in considerazione infatti:

- stato del sensorio (agitato, depresso, ecc.);
- aspetto generale (peso, mantello, stato di idratazione);
- grandi funzioni organiche (defecazione, minzione, alimentazione, respiro, ecc.);
- eventuali atteggiamenti particolari (alterazione della postura, della locomozione, ecc.);
- attività (*grooming*);
- ferite e lesioni (anche autoprovocate);

VISITA ACCURATA

Quando l'animale è in anestesia generale si può procedere alla visita accurata e si annotano i dati su cartelle cliniche individuali che danno la possibilità di seguire l'andamento clinico di ogni soggetto, fatto di estrema importanza per la valutazione del risultato sperimentale.

La visita comprende:

Esame Obiettivo Generale (considerando che l'animale è in anestesia generale non si considera lo stato del sensorio)

- Stato di Nutrizione, peso;
- Stato di idratazione;
- Sviluppo scheletrico;
- Tonicità muscolare;
- Temperatura.

Esame Obiettivo Particolare

- Linfonodi: nei primati non umani sono esplorabili il pacchetto ascellare e quello inguinale;
- Mucose esplorabili: soprattutto quella orale, poi la oculocongiuntivale;
- Esame della bocca e dei denti;
- Cute e Apparato Tegumentario, presenza di ferite o altre lesioni;
- Mantello, mancanza di pelo diffusa o circoscritta, alopecia, ecc;
- Torace: apparato respiratorio, cuore, auscultazione;
- Addome: apparato digerente, palpazione e auscultazione.

Il prelievo di sangue completerà il quadro clinico dell'animale con i valori dell'ematocrito e dell'ematochimica.

Considerando che questa procedura si svolge in anestesia generale, alcuni parametri non si possono valutare con assoluta veridicità:

- temperatura: subisce un abbassamento durante l'anestesia, quindi andrebbe presa subito appena l'animale cade addormentato;
- tonicità muscolare: spesso durante l'anestesia ci sono episodi di iperestesia e ipertonos muscolare o al contrario di rilassamento e flaccidità, anche ciò è facilmente attribuibile sempre allo stesso animale e si può così descrivere nell'anamnesi remota della sua scheda clinica come caratteristica di base;
- riflessi neurologici: anche se l'anestesia praticata per un semplice prelievo ematico è solo dissociativa e di solito molto ridotta (pochi minuti di sedazione e analgesia), qualche volta è

difficile valutare questo parametro in anestesia perché la reazione al farmaco è molto soggettiva e spesso l'animale non risponde neanche ai riflessi più superficiali pur non trattandosi di anestesia profonda.

Terapie

Può succedere che per un animale si ponga la necessità di un trattamento farmaceutico.

In questo caso, bisognerebbe cercare di usare farmaci che non creino interferenze con i dati sperimentali.

Quindi è auspicabile l'uso di farmaci ad uso topico, mirato e possibilmente non sistemico. Anche le modalità di somministrazione sono da prendere in considerazione perché bisogna scegliere quelle più semplici da eseguire e meno stressanti e invasive per gli animali, meglio quindi somministrare un farmaco in compresse dentro una gustosa caramella alla frutta piuttosto che eseguire un'iniezione intramuscolare con restringimento dell'animale nella gabbia contenitiva. Se l'animale viene abituato a bere succhi di frutta si possono somministrare facilmente anche gli sciroppi usando una siringa senza ago con il farmaco miscelato al succo. Naturalmente la somministrazione di una qualsiasi terapia diventa un'operazione difficile e stressante se l'animale non collabora.

Anche in questo caso si rileva l'importanza dell'addestramento e della familiarità.

Nella Tabella 4 sono riportati i principali agenti patogeni virali, batterici e parassitari e le correlazioni con l'uomo.

Monitoraggio sanitario su primati non umani

Il DLvo 116/92 nell'art. 2 comma 1. dà la definizione degli animali da allevamento e dei vari stabilimenti:

- c) "animali da allevamento": animali allevati appositamente per essere impiegati in esperimenti in stabilimenti approvati dalla autorità competente registrati presso quest'ultima;
- h) "stabilimento di allevamento": qualsiasi stabilimento in cui gli animali vengono allevati allo scopo di essere successivamente utilizzati in esperimenti;
- i) "stabilimento fornitore": qualsiasi stabilimento diverso da quello di allevamento, che fornisce animali destinati ad essere utilizzati in esperimenti;
- j) "stabilimento utilizzatore": qualsiasi stabilimento in cui gli animali vengono utilizzati in esperimenti.

L'art.3 comma 2. stabilisce che "Gli esperimenti su animali possono avere luogo soltanto su animali d'allevamento e negli stabilimenti utilizzatori autorizzati"

Inoltre al capo III (Stabilimenti) l'art. 10 comma 3 recita " ...uno stabilimento fornitore può ricevere animali solo da uno stabilimento di allevamento o da altri stabilimenti fornitori oppure animali legalmente importati, a condizione che non si tratti di animali selvatici o randagi".

Gli istituti di ricerca biomedica hanno bisogno di animali

appositamente allevati allo scopo e quindi con una storia conosciuta dalla nascita e un background di notizie necessarie e utili per un'obiettiva interpretazione dei dati sperimentali.

La difficoltà di creare colonie con animali allevati per la sperimentazione sta soprattutto negli alti costi di gestione.

Gli stabilimenti di allevamento devono infatti essere in grado di controllare e documentare lo stato di salute dei loro animali attraverso l'esame clinico accurato di ogni singolo animale e questo comporta l'utilizzo di strutture adeguate (laboratorio analisi, test di laboratorio adatti agli animali) e personale qualificato.

Inoltre bisogna considerare che i primati non umani sono spesso suscettibili agli stessi agenti patogeni umani che non sono presenti nel loro ambiente naturale ma che lo stretto contatto con gli operatori potrebbe trasmettere loro.

Quindi parallelamente il monitoraggio sanitario dello staff che si occupa delle cure degli animali è fondamentale sia per la protezione degli operatori stessi sia per evitare l'introduzione di agenti patogeni pericolosi per gli animali (per es. tubercolosi, varicella, ecc.).

Naturalmente la gestione sanitaria di un gruppo chiuso di animali è più facile. Il gruppo è una entità microbiologicamente auto-controllata.

È per questo motivo che l'introduzione di nuovi gruppi di animali necessita di rigide regole sanitarie. Gli animali che vengono da fuori devono essere tenuti in quarantena, anche se un affidabile programma di controllo sanitario effettuato nello stabilimento fornitore permette di accorciare le procedure di quarantena prescritte dalle autorità competenti del paese di destinazione. Un certificato sanitario deve accompagnare il carico di primati dallo stabilimento fornitore a quello utilizzatore, descrivendo la provenienza degli animali ed eventuali contatti con altre colonie. Ogni animale che arriva in uno stabilimento utilizzatore deve poter essere riconosciuto tramite tatuaggio e documento individuale che ne attesta lo stato di salute, l'anamnesi remota, le analisi routinarie, le vaccinazioni, eventuali terapie o interventi chirurgici e tutto ciò che riguarda la storia dell'animale che può interessare per evitare interferenze con i dati sperimentali.

È noto che i primati non umani possono albergare svariati microrganismi o parassiti potenzialmente patogeni per l'uomo. Alcune specie possono albergare microrganismi per esse endemici, senza manifestare nessuna sintomatologia ma che possono comunque interferire con i dati sperimentali.

I test clinici considerati obbligatori sono basati sul pericolo di contagio per l'uomo e sulla frequenza e la facilità di contagio per gli animali (vedi box).

Procedure di campionamento per il monitoraggio

I test diagnostici più usati dai laboratori e più spesso riportati in letteratura sono sintetizzati nella Tabella 5. Generalmente anche se vengono utilizzati i più appropriati per ogni specifica esigenza, per quanto tutti possano risultare validi, ci sono sempre delle differenze tra i risultati dei diversi metodi usati dai diversi laboratori. Sarebbe

auspicabile pianificare la diagnostica almeno di quegli agenti patogeni i cui test sono obbligatori, per rendere uniforme l'interpretazione dei dati e più facile la comparazione tra i laboratori. Naturalmente è auspicabile anche il miglioramento dell'affidabilità dei test. Le modalità del prelievo dei campioni da analizzare (feci, sangue, siero, ecc.) vanno stabilite secondo le necessità; se si tratta di controlli di routine si possono raccogliere campioni solo di un certo numero degli animali del gruppo (almeno il 30% di loro scelti a caso), se si tratta di controlli più accurati si raccolgono i campioni di ogni singolo animale. I campioni vanno analizzati uno per uno. Nel caso del campionamento random, un'incidenza di positività del $25\pm 30\%$, in teoria significa la probabilità del 95% di positività degli animali del gruppo.

Il risultato negativo dei singoli test può anche significare che quell'animale non ha ancora sviluppato anticorpi o che al momento del prelievo del campione non aveva ancora liberato parassiti o batteri. I test quindi andrebbero ripetuti per confermare il risultato

Macachi

Herpes B virus (Cercopithecinae herpesvirus 1);
SRV-D (retrovirus della scimmia tipo D);
Pseudomonas pseudomallei (solo per gli animali che provengono da aree endemiche).

Babbuini e Vervets

Herpesvirus papio 2
(Cercopithecinae herpesvirus 12, HPV-2) nei babbuini;
Herpesvirus cercopithecinus
(Cercopithecinae herpesvirus 2, SA 8) nei vervets;
Poxvirus (virus della febbre gialla, solo per le zone endemiche).

Macachi, Babbuini e Vervets

Virus epatite A;
SIV (virus immunodeficienza della scimmia);
STLV-1 (virus del linfosarcoma delle cellule T della scimmia);
Mycobacteria spp.;
Salmonella spp.;
Shigella spp.;
Leptospira spp.;
Entamoeba histolytica;
Toxoplasma gondii;
Elminti intestinali;
Ectoparassiti;
Dermatophytosis.
Saimiri sciureus e Callithrix jacchus
Salmonella spp.;
Shigella spp.;
Leptospira spp.;
Entamoeba histolytica;
Elminti intestinali;
Ectoparassiti;
Dermatophytosis.

(Tabella 5). Anche i test che danno un risultato equivoco o inaspettato andrebbero ripetuti per maggiore sicurezza.

Nell'investigazione periodica random si dovrebbero utilizzare campioni di animali ogni volta diversi. L'identificazione di un qualsiasi agente patogeno nel campione anche di un solo animale è la prova della presenza di quel patogeno all'interno della colonia. In questo caso vanno prese appropriate precauzioni (l'isolamento dell'animale, il trattamento farmacologico, ecc.).

Un'adeguata prevenzione andrebbe approntata per evitare che si verificano casi di malattia, con procedure standard di sanitizzazione e pulizia, rispettando i periodi di quarantena per gli animali in arrivo ed evitando che si possano introdurre insetti, piccoli roditori o altri possibili vettori di contagio, nelle stanze di stabulazione e mettendo a punto, quando possibile, piani di profilassi vaccinale.

Molti grandi centri di allevamento di primati non umani per la sperimentazione hanno portato avanti progetti di gestione con l'intento di creare animali *pathogen-free* ma questo resta ancora un traguardo difficile da raggiungere anche per gli alti costi.

Nella Tabella 4 sono riassunte le modalità di indagine, eventuale trattamento e tentativi di eradicazione delle principali eziologie dei primati non umani.

Note legislative comparative

Negli Stati Uniti d'America la normativa riguardo gli animali da esperimento deriva principalmente dagli *Animal Welfare Act*, una raccolta di decreti nati per regolamentare la cura e l'uso di animali nei laboratori, divenuti legge federale nel 1966 ed applicati dall' U.S.D.A. (*United States Department of Agriculture*). L'assistenza veterinaria è una parte essenziale nella cura degli animali da laboratorio. Il medico veterinario deve essere accreditato dall'*American Veterinary Medical Association's Council on Education* (AVMACE) e deve avere un'adeguata preparazione ed esperienza sulla cura e la gestione delle specie animali su cui dovrà lavorare a maggior ragione se si tratta di primati non umani. Ogni struttura di ricerca deve avere un veterinario responsabile. Oltre alle proprie responsabilità sanitarie verso gli animali (diagnosi, trattamento, controllo delle malattie e delle zoonosi, alimentazione, valutazione del benessere, sedazione, analgesia e anestesia, eutanasia) il veterinario collabora al programma di sicurezza e sanità sul lavoro per il personale coinvolto nelle cure degli animali valutando: la protezione e la preparazione del personale, l'appropriata manualità, l'adeguata immobilizzazione dell'animale ecc.

Deve stabilire un'efficace comunicazione diretta e frequente delle informazioni riguardo problemi di salute, di comportamento e benessere degli animali con il personale specializzato. Il veterinario deve conoscere e prevedere le eventuali patologie, disabilità o altre conseguenze derivanti agli animali dal protocollo sperimentale per evitare inutili sofferenze, deve provvedere alla supervisione di eventuali interventi chirurgici e del successivo post-operatorio nel rispetto del benessere dell'animale.

I protocolli sperimentali che prevedono molteplici ed imponenti interventi chirurgici sull'animale sono fortemente scoraggiati. Comunque in certe circostanze, quando sono scientificamente

giustificati da un progetto di ricerca in cui sono giudicati essenziali, possono essere permessi con l'approvazione dello IACUC (*Institutional Animal Care and Use Committee*).

I.A.C.U.C. è il comitato etico americano istituzionale che vaglia e approva i protocolli sperimentali che prevedono l'utilizzo di animali. Tutte le decisioni sulla categorizzazione dell'uso degli animali per la ricerca deve essere basata sugli obiettivi scientifici di cui lo IACUC valuta la validità anche in funzione del benessere animale. Negli Stati Uniti, paese molto attento ai diritti degli animali ed alle questioni etiche, ci sono iniziative per il miglioramento delle condizioni degli animali che partono dal privato. Ad esempio l'AAALAC (*Association for Assessment of Laboratory Animal Care*) è una organizzazione privata *non profit* che promuove il trattamento umanitario di animali da laboratorio con l'accREDITAMENTO volontario degli addetti ai lavori. In pratica quando in un qualsiasi istituto di ricerca si utilizzano animali, AAALAC lavora con le istituzioni ed i ricercatori e fa da ponte tra il progresso scientifico ed il benessere animale. Per chi fa ricerca sugli animali negli Stati Uniti è tramite il volontario processo di accREDITAMENTO all'AAALAC che si dimostra che i programmi di ricerca non solo rispettano tutti i requisiti di legge ma raggiungono il massimo impegno nella cura degli animali.

Sperimentazione su primati non umani in Italia⁽⁵⁾

In Italia vengono usati primati non umani nella ricerca scientifica, non esistono veri e propri "primate center" ma solo stabilimenti utilizzatori. In tutto sono 18:

- 1- Istituto di Ricerche Biomediche "A. Marxer" RBMspa-Colleretto - Giocosa (Torino)
- 2- Università degli Studi di Milano
- 3- H.R.S. ospedale S. Raffaele - Milano
- 4- Pharmacia Spa sede di Nerviano - Milano
- 5- Università degli Studi di Trieste
- 6- Università degli Studi di Verona
- 7- Ditta Glaxo Spa - Verona
- 8- Università degli Studi di Parma
- 9- Università degli Studi di Modena
- 10- Università degli Studi di Bologna
- 11- Ditta Biocine Sclavo Spa - Siena
- 12- Istituto Superiore Di Sanità - Roma
- 13- ENEA Casaccia Roma
- 14- Ditta I.R.B.M. "P. Angeletti" Spa Pomezia - Roma
- 15- Università degli Studi La Sapienza di Roma
- 16- CNR- Istituto di Biologia Celulare Monterotondo - Roma
- 17- Università degli Studi dell'Aquila
- 18 - Università degli Studi di Bari

Alcuni primate center nel mondo⁽⁵⁾

EUROPA

- 1- Deutsches Primatenzentrum DPR, Germania, Goettingen

Tabella 4.1. - Agenti virali e batterici e parassiti di maggiore frequenza e gravità nei primati

Agente virale	Specie portatrici	Sintomi clinici nei primati	Modalità di trasmissione
Herpes B, Herpesvirus simiae, Cercopithecinae herpesvirus 1	Macachi	Spesso asintomatico Occasionali lesioni della mucosa orale	Saliva e fluidi corporei, morsi e graffi contaminazione dalle mucose lese
Herpesvirus Cercopithecus, Cercopithecinae herpesvirus 2	Babbuini Vervets	Spesso asintomatico Lesioni erpetiche ricorrenti	Saliva
Herpesvirus Papio 2, Cercopithecinae herpesvirus 12	babbuini	Spesso asintomatico	Saliva, per via sessuale
Herpes T, Herpesvirus platyrrhinae, saimiriine herpesvirus 1	Scimmie del Sud America	Spesso asintomatico in Saimiris Gravi ulcerazioni sulle labbra e mortalità in Callithryx	Saliva ed escreti
Herpesvirus saimiri, Saimiriinae herpesvirus 2	Saimiri sciureus	Spesso asintomatico in Saimiris o con occasionali lesioni della mucosa orale Linfoma maligno in Marmoset	Il ciclo naturale dell'infezione è sconosciuto Trasmissione solo sperimentale
Virus Epatite A	Tutte le specie	Asintomatico, rara l'epatite	Contatti con tutti gli escreti
Virus Epatite B	Gibboni e grandi scimmie	Asintomatico	Contatto con sangue infetto Lesioni cutanee
SV 40	Macachi, trasmissibili ad altre specie	Asintomatico	Contatti con secreti ed urine
Virus della febbre emorragica della scimmia	Patas e forse altre specie africane Macachi solo ad infezione terminale	Nei macachi malattia emorragica con alta mortalità in patas asintomatico	Contatti con escreti e secreti e sangue (aghi)
Marburg virus	Vervets	Esantema, diarrea emorragica riportata nei macachi	Contatto con sangue e tessuti di animali infetti
Ebola-Reston virus	Macaca fascicularis	Da asintomatico a una grave malattia emorragica	Contatti con escreti, non esclusa la via aerea
SIV Simian immuno-deficiency virus	Endemico in alcune scimmie africane poi trasmesso alle specie asiatiche	Asintomatico nelle specie africane, malattia AIDS simile nelle specie asiatiche	Contatto con sangue e lesioni cutanee
STLV-1 Simian T-cell lymphotropic virus-1	Tutte le specie del vecchio mondo	Asintomatico ma occasionalmente associato con linfoproliferazione	Forse morsi e graffi
SRD/V Simian retrovirus, tipo D	Specie asiatiche	AIDS simile	Forse morsi e graffi contaminati da saliva
Foamy virus	Specie africane e asiatiche	Generalmente asintomatico	Contatto con con escreti
Monkeypox virus	Varie specie dell'Africa centrale (Zaire)	Spesso asintomatico; Febbre, esantema nelle specie suscettibili	Contatto con gli escreti, via aerea
Lyssa virus	Varie specie	rabbia	Saliva su ferite
Virus della febbre gialla	Specie africane e del nuovo mondo	Sintomi vari dalla disappetenza alla morte nelle specie del Sud America	Zanzare

Primates non umani

	Zoonosi sintomi clinici nell'uomo	Osservazioni (categoria di rischio in accordo con EU)
Effetti	letale per l'uomo	(P3)
	Potenzialmente zoonotico Sintomi non documentati	
	Potenzialmente zoonotico Sintomi non documentati	
	Potenzialmente zoonotico Sintomi non documentati	Callithrix può diventare portatore sano
	Non classificata	
	Zoonosi Epatite	Vaccino disponibile (P2)
	Zoonosi Epatite	Ritrovati anticorpi in Macachi (ELISA) Non confermati dalla siero neutralizzazione (P3)
	Potenzialmente cancerogeno	Interferenze con la ricerca sul cancro e le produzioni vaccinali (P2 per Papovavirus)
	Non classificato	Epidemia nei macachi attribuita a contatti accidentali (non classificato)
	Zoonosi Diarrea emorragica letale	(P4)
	Zoonosi letale per l'uomo	(P3)
Importanza	Non si è mai riscontrata la malattia nell'uomo ma è riportata la siero-conversione	Importante per la correlazione con l'HIV e per gli studi sui trapianti (P3 per HIV e SHIV)
	Somiglianza con HTLV-1 che può causare leucemia	Importante negli studi per i trapianti e per le ricerche correlate con l'AIDS (P3 per HTLV-1)
Saliva	Riscontrati anticorpi nell'uomo ma sconosciuta la patogenicità	Importante negli studi per i trapianti e per le ricerche correlate con l'AIDS
	Riscontrati anticorpi nell'uomo ma sconosciuta la patogenicità	Importante negli studi per i trapianti e per le ricerche correlate con l'AIDS
	Lesioni di tipo vaioloso	Raccomandato il test per i primati africani. Possibilità di vaccinazione (P3)
	Rabbia	Rischio di contagio in aree endemiche, lungo periodo di incubazione. Possibilità di vaccinazione (P3)
	Febbre gialla	Possibilità di vaccinazione (P3)

2- Biomedical Primate Research Centre **BPRC**, Olanda, Rijkskijk
 3- Apenheul Bongo group, Olanda, Apeldoorn
 4- Centre of Applied Microbiology and Research **CAMR**,
 Inghilterra, Salisbury
 5- National Institute for Biological Standards and Control
NIBSC, Inghilterra, Herts, Hertfordshire
 6- Swedish Institute for Infections Disease Control **SIIDC**,
 Svezia, Stockolm
 7- Direction des Sciences du Vivant **CEA**, Francia
 8- Centre de primatologie Universite' Louis Pasteur **ULP**,
 Francia, Strasburgo
AMERICA del NORD
 1- Washington Regional Primate Research Center, Seattle
 2- Oregon Regional Primate Research Center
 3- Georgia Regional Primate Research Center (primate behavior),
 Yerkes

4- Massachusetts Regional Primate Center
 5- Wisconsin Regional Primate Research Center, Madison
 6 - Louisiana Regional Primate Center
 7- California Regional Primate Research Center, Davis
 8- Southwest Regional Primate Center
 9- Tulane Regional Primate Research Center
 10- Miami Perrine Primate Center, Florida
 11- Duke University Primate Center, North Carolina
 12- New England Regional Primate Center
AMERICA del SUD
 1- Centro de Primatologia 1998, Colombia
 2- Caribbean Primate Research Centre CRPRC, University of
 Puerto Rico, Porto Rico
 3- Brasilia Primate Center, Brasile
 4- Barbados Primate Center, Barbados
ASIA

Tabella 4.2. - Agenti virali e batterici e parassiti di maggiore frequenza e gravità nei primati non umani

Agente batterico	Specie portatrici	Sintomi clinici nei primati	Modalità di trasmissione	Zoonosi sintomi clinici nell'uomo	Osservazioni (categoria di rischio in accordo con EU)
<i>Campylobacter</i> - jejuni - fetus	Varie specie inclusi i primati	Spesso asintomatico, disappetenza, diarrea, possibile aborto	Diretto contatto con gli escreti	Sintomi gastrointestinali	Possibile terapia antibiotica (P2)
<i>Leptospira</i> - vari sierotipi	Roditori, varie specie di primati	Spesso asintomatico, Occasionalmente febbre, aborti	Cibo ed acqua contaminati da urine infette, ingestione di topi	Febbre sintomi gastrointestinali, ittero, complicazioni neurologiche	Possibile terapia antibiotica. Vaccinazione disponibile per l'uomo (P2)
<i>Mycobacterium</i> - africanum - bovis - tuberculosis	Bestiame primati varie altre specie, del vecchio mondo, uomini	Progressiva, generalizzata e mortale tubercolosi. Le specie del nuovo mondo sono le più suscettibili	Escreti, enterale, attraverso lesioni cutanee, via aerea	Sintomi generalmente respiratori	Non sono possibili cure. La vaccinazione ha solo una efficacia transitoria (P3)
<i>Salmonella</i> - typhimurium - enteritidis	Varie specie inclusi i primati non umani	Negli adulti spesso asintomatica, nei giovani sintomi gastrointestinali	Ingestione di escreti	Sintomi gastrointestinali	Possibile terapia antibiotica (P2 o P3 secondo il tipo)
<i>Shigella</i> - flexneri	Varie specie inclusi i primati non umani	Spesso senza sintomi eccetto nei giovani animali	Ingestione di escreti	Sintomi gastrointestinali	Possibile terapia antibiotica (P2)
<i>Yersinia pseudo-tuberculosis</i>	Roditori, uccelli, trasmissione ai primati non umani	Forma acuta letale, forma cronica con diarrea o semplice perdita di peso	Ingestione di cibo contaminato	Spesso sintomi aspecifici, forma subclinica	Possibile terapia antibiotica (P2)
<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	Principalmente specie del sud-est asiatico	Spesso senza sintomi, occasionalmente broncopolmonite, enterite spesso occulta, ascessi multipli	Orale, mucosale o per via aerea	Affezioni polmonari indotte da stress, ascessi, spesso permangono a lungo dopo l'infezione	Possibile terapia antibiotica ma non raccomandata (P3)

1- Tsukuba Primate Center TPC, fondato nell'aprile del 1978 a Tsukuba Giappone
2- National Primate Centre Nobuo Masataka, Tokio Giappone

⁽³⁾GURI n. 40 del 18/02/92

⁽⁴⁾U.S.D.A. United States Department of Agriculture

⁽⁵⁾Fino al 2003

⁽¹⁾GURI n. 180 del 6/06/31

⁽²⁾GURI n. 163 del 12/7/41

La bibliografia è disponibile presso l'Autore.

Tabella 4.3. - Agenti virali e batterici e parassiti di maggiore frequenza e gravità nei primati non umani

Parassiti	Specie portatrici	Sintomi clinici nei primati	Modalità di trasmissione	Zoonosi sintomi clinici nell'uomo	Osservazioni (categoria di rischio in accordo con EU)
<i>Entamoeba histolytica</i>	Tutte le specie di primati	Normalmente asintomatica, le specie arboree possono essere più suscettibili per la diarrea	Ingestione dopo contatto con feci	Generalmente non patogeno	La terapia per l'eradicazione permanente non è efficace (P2, se patogena)
<i>Toxoplasma gondii</i>	Varie speci. Il gatto è l'unica specie che può eliminare oocisti trasmissibili	Di solito non ci sono sintomi clinici evidenti	Ingestione dopo contatto con feci di gatto o carni crude contaminate	Raramente febbre ed apatia, occasionalmente aborto e anomalie fetali. Improbabile contaminazione dell'uomo dai primati	Interferenze nella ricerca sui trapianti e sull'immunodeficienza (P2)
<i>Giardia</i> spp.	Scimmie del vecchio mondo	A volte nei macachi si manifesta enterite mucoide ricorrente	Ingestione dopo contaminazione con feci	Problemi gastrointestinali nei bambini	La terapia non è efficace per una eradicazione permanente (P2)
<i>Plasmodia -cynomolgi -brasiliensis -malariae, vivax</i>	Visto in macachi, saimiri e ateline, trasmesso dall'uomo	Spesso asintomatico, a volte febbre, anemia, occasionalmente letale	Zanzare	Non ci sono prove della trasmissione dai primati all'uomo	Interferenze con i test ematologici. Possibile terapia (P2 o P3 per il tipo umano)
<i>Strogiloides stercoralis</i>	Tutte le specie di primati	Normalmente asintomatico	Contatto con feci contaminate, le larve possono penetrare anche attraverso la pelle	Possibili problemi gastrointestinali	Possibile terapia (P2)
<i>Trichuris</i>	Tutte le specie di primati, l'uomo può essere ospite occasionale	Di solito asintomatico, diarrea nelle infestioni massive	Ingestione dopo contatto con feci contaminate	Diarrea	Possibile terapia (P2)
<i>Prosthenorchis elegans</i>	Specie del Sud America	Di solito asintomatico, occasionalmente anemia	Blatte	Non conosciuto nell'uomo	Possibile la terapia Ma non del tutto affidabile
Ectoparassiti -acari -pidocchi	Specie del vecchio e del nuovo mondo	Prurito, lesioni cutanee	Contatto diretto o con materiali contaminati	Dermatiti	Possibile terapia
<i>Pneumonyssus simicola</i>	Macachi, babbuini	Di solito asintomatica	Non chiara, possibile il contagio con gli sputi	Controverso	Interferenze con ricerche sul sistema respiratorio. Possibile terapia
Dermatomicosi - <i>trichophyton</i>	Osservata in macachi	Alopecia circoscritta	Per contatto diretto o tramite utensili contaminati	Alopecia circoscritta	Possibile terapia (P2)

Tabella 5.1. -Metodi diagnostici più usati dai laboratori specializzati, intervalli, prove di assenza e possibilità di eradicazione

Agente virale	Diagnosi di laboratorio (i più usati dai laboratori specializzati e riferiti nelle pubblicazioni)	Intervallo di tempo tra i vari test
Herpes B, Herpesvirus simiae, Cercopithecinae herpesvirus 1	ELISA CFR NeutralizzazioneT RIA PCR	Inizialmente 3mesi, poi annualmente e per ogni uscita o entrata di animali
Herpesvirus Cercopithecus, Cercopithecinae herpesvirus 2	ELISA IFA	Inizialmente 3mesi, poi annualmente e per ogni uscita o entrata di animali
Herpesvirus Papio 2, Cercopithecinae herpesvirus 12	IFA ELISA immunoblot	Inizialmente 3mesi, poi annualmente e per ogni uscita o entrata di animali
Herpes T, Herpesvirus platyrrhinae, saimiriine herpesvirus 1	NeutralizzazioneT	Inizialmente 3 mesi, poi annualmente e per ogni uscita o entrata di animali
Herpesvirus saimiri, Saimiriinae herpesvirus 2	IFA	Inizialmente 1 mese, poi annualmente e per ogni uscita o entrata di animali
Virus Epatite A	ELISA	Inizialmente 1 mese, poi annualmente e per ogni uscita o entrata di animali
Virus Epatite B	ELISA NeutralizzazioneT	Inizialmente 1 mese, poi annualmente e per ogni uscita o entrata di animali
SV 40	IFA	Inizialmente 1 mese, poi annualmente e per ogni uscita o entrata di animali
Virus della febbre emorragica della scimmia	IFA	Inizialmente 3 mesi, poi annualmente e per ogni uscita o entrata di animali
FILOVIRUS Reston Ebola Marburg	ELISA Rilevamento Ag PCR	Inizialmente 3 mesi, poi annualmente e per ogni uscita o entrata di animali
SIV Simian immuno-deficiency virus	IFA	Inizialmente 3mesi, poi annualmente e per ogni uscita o entrata di animali
STLV-1 Simian T-cell lymphotropic virus-1	ELISA IFA WB	Inizialmente 3mesi, poi annualmente e per ogni uscita o entrata di animali
SRV/D Simian retrovirus, tipo D	IFA WB Isolamento linfonodi periferici	Inizialmente 3mesi, poi annualmente e per ogni uscita o entrata di animali
Foamy virus	IFA CFR	Inizialmente 3mesi, poi annualmente e per ogni uscita o entrata di animali
Monkey pox virus	ELISA Neutralizzazione T	Inizialmente 1 mese, poi annualmente e per ogni uscita o entrata di animali
Virus della febbre gialla	Neutralizzazione T ELISA CFR	Inizialmente 14 giorni, più tardi 6 mesi (nelle zone endemiche) e per ogni uscita o entrata di animali

Prove dell'assenza dopo un programma di eradicazione o all'inizio di un programma di monitoraggio	Possibilità di eradicazione
Quattro tests negativi consecutivi	Separazione degli animali positivi dalla colonia. Separazione allo svezzamento da potenziali contaminazioni
Quattro tests negativi consecutivi	Nessun metodo conosciuto
Quattro tests negativi consecutivi	Nessun metodo conosciuto
Quattro tests negativi consecutivi	Nessun metodo conosciuto se non la rigida separazione tra le varie specie
Quattro tests negativi consecutivi	Nessun metodo conosciuto se non la rigida separazione tra le varie specie
Quattro tests negativi consecutivi	Separazione degli animali positivi dalla colonia.
Quattro tests negativi consecutivi	Separazione degli animali positivi dalla colonia.
Quattro tests negativi consecutivi	Separazione degli animali positivi dalla colonia.
Quattro tests negativi consecutivi	Formazione di unità con animali sieronegativi
Quattro tests negativi consecutivi	Formazione di unità con animali sieronegativi
Quattro tests negativi consecutivi	Formazione di unità con animali sieronegativi
Quattro tests negativi consecutivi	Formazione di unità con animali sieronegativi
Quattro tests negativi consecutivi	Formazione di unità con animali sieronegativi
Quattro tests negativi consecutivi	Formazione di unità con animali sieronegativi
Quattro tests negativi consecutivi	Formazione di unità con animali sieronegativi
Quattro tests negativi consecutivi	Formazione di unità con animali sieronegativi provenienti da aree non endemiche In alternativa è possibile la vaccinazione
Quattro tests negativi consecutivi	Formazione di unità con animali sieronegativi dove i vettori di trasmissione del contagio sono esclusi

Tabella 5.2. - Metodi diagnostici più usati dai laboratori specializzati, intervalli, prove di

Agente batterico	Diagnosi di laboratorio (i più usati dai laboratori specializzati e riferiti nelle pubblicazioni)	Intervallo di tempo tra i vari test
<i>Campylobacter</i> -jejuni -fetus	CFR Colture da campioni di feci fresche	Inizialmente 2 settimane, poi 6 mesi dopo 3 test negativi
<i>Leptospira</i> -interrogans -vari sierotipi	CFR ELISA Agglutinolisi Ag Colture di campioni di sangue o urina	Inizialmente 4 settimane, poi 6 mesi
<i>Mycobacterium</i> -africanum -bovis -tuberculosis	Test tubercolina	Inizialmente da 2 a 4 settimane, poi ogni 6 mesi dopo 12 settimane con 3 test negativi
Salmonella -typhimurium -enteritidis	Colture da campioni di feci fresche e sierotipizzazione	Inizialmente test giornalieri per 3 giorni da ripetere dopo 2 settimane. Successivamente ogni 6 mesi (test di 3 giorni)
<i>Shigella</i> -flexneri	Colture da campioni di feci fresche	Inizialmente test giornalieri per 3 giorni da ripetere dopo 2 settimane. Successivamente ogni 6 mesi (test di 3 giorni)
<i>Yersinia</i> <i>pseudotuberculosis</i>	HA	Inizialmente 2 settimane
<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	ELISA	Inizialmente 2 settimane, poi 6 mesi

Tabella 5.3. - Metodi diagnostici più usati dai laboratori specializzati, intervalli, prove di

Parassiti	Diagnosi di laboratorio (i più usati dai laboratori specializzati e riferiti nelle pubblicazioni)	Intervallo di tempo tra i vari test
<i>Toxoplasma gondii</i>	Sabin-Feldman IFA ELISA PCR	Inizialmente 2 settimane, poi annualmente
<i>Giardia</i> spp.	Analisi microscopica di campioni di feci fresche	Inizialmente 2 settimane, poi annualmente
<i>Plasmodia</i> -cynomolgi -brasiliensis -malariae, vivax	Striscio di sangue fresco colorato con Giemsa	Inizialmente 2 settimane, poi annualmente
<i>Strogylodes stercoralis</i>	Analisi microscopica di campioni di feci fresche	Inizialmente 2 settimane, poi annualmente
ALTRI ENDOPARASSITI - <i>Trichyuris</i>	Analisi microscopica di campioni di feci fresche	Inizialmente 2 settimane, poi annualmente
<i>Prosthenorchis elegans</i>	sedimentazione di campioni di feci fresche	Inizialmente 2 settimane, poi annualmente
<i>Pneumonyssus simicola</i>	Attraverso l'autopsia esaminando i polmoni di animali adulti	Continua
Ectoparassiti -acari -pidocchi	Diagnosi clinica e microscopica di raschiato cutaneo	Ispezioni cliniche continue
Dermatomicosi - <i>trichophyton</i>	Diagnosi clinica e microscopica di raschiato cutaneo o tramite lampada di Wood	Ispezioni cliniche continue

CFR: complement fixation reaction; ELISA: enzyme linked immuno-sorbent assay; HA: haemo-agglutination test; IFA: immuno fluoescence antibody assay
PCR: polimerase chain reaction; RIA: radio immune assay; WB: Western blot

assenza e possibilità di eradicazione

Prove dell'assenza dopo un programma di eradicazione o all'inizio di un programma di monitoraggio	Possibilità di eradicazione
Dopo tre test negativi consecutivi	Trattamento di tutti gli animali di una stassa unità
Dopo 12 settimane con 3 test negativi	Trattamento di tutti gli animali di una stassa unità
Dopo 12 settimane con 3 test negativi	Immediato abbattimento di tutti gli animali infetti e quarantena per i possibili contaminati
Dopo due serie (3 giorni) di test negativi	Trattamento di tutti gli animali di una stassa unità
Dopo due serie (3 giorni) di test negativi	Trattamento di tutti gli animali di una stassa unità
Dopo tre test negativi consecutivi	Trattamento di tutti gli animali di una stassa unità
Tre test negativi consecutivi	Eradicazione degli animali malati e trattamento di tutta l'unità

assenza e possibilità di eradicazione

Prove dell'assenza dopo un programma di eradicazione o all'inizio di un programma di monitoraggio	Possibilità di eradicazione
Dopo tre test negativi consecutivi	Eliminazione degli animali positivi. Prevenzione di possibili contatti con roditori e gatti
Dopo tre test negativi consecutivi	Trattamento di tutti gli animali di una stassa unità
Dopo tre test negativi consecutivi	Trattamento di tutti gli animali infestati. Programma antizanzare
Quattro tests negativi consecutivi	Trattamento di tutti gli animali di una stassa unità
Quattro tests negativi consecutivi	Trattamento di tutti gli animali di una stassa unità
Quattro tests negativi consecutivi	Separazione degli animali positivi, trattamento di tutti gli animali duna unità. Controllo degli insetti trasmettitori del contagio
Se non si riscontra per un anno, esami random sulla colonia	Trattamento di tutti gli animali di una stassa unità
Un anno di negatività, poi esami random sulla colonia	Trattamento di tutti gli animali di una stassa unità
Un anno di negatività, poi esami random sulla colonia	Separazione e trattamento degli animali infetti