



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DI TRIESTE



DIPARTIMENTO DI
SCIENZE DELLA VITA



FORMAZIONE DEL PERSONALE COINVOLTO NELL'ATTIVITA' DI SPERIMENTAZIONE ANIMALE

**Allevamento e
organizzazione dello
stabulario**

Alba Fasolo, Ph.D.



6-27 maggio 2020

Charles River Laboratories



Società americana con sede nel Massachusetts specializzata in una varietà di **servizi preclinici** e **clinici di laboratorio** per l'industria farmaceutica, di **dispositivi medici** e delle biotecnologie ad essi associate. Fornisce inoltre **servizi di ricerca e sviluppo in outsourcing** da utilizzare nell'industria farmaceutica.



NUOVO SERVIZIO DI STABULAZIONE DELL'



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DI TRIESTE

AREA
SCIENCE PARK




Inquadramento normativo in materia di impiego di animali a fini scientifici

- DL 26/2014
- 63/2010/UE
- DL 116/1992
- 86/609/Cee

SERIE GENERALE

*Spedito: abb. post. - art. 1, comma 1
Legge 27-02-2004, n. 46 - Filiale di Roma*

Anno 155^o - Numero 61



GAZZETTA UFFICIALE

DELLA REPUBBLICA ITALIANA

PARTE PRIMA Roma - Venerdì, 14 marzo 2014 SI PUBBLICA TUTTI I GIORNI NON FESTIVI

DIREZIONE E REDAZIONE PRESSO IL MINISTERO DELLA GIUSTIZIA - UFFICIO PUBBLICAZIONE LEGGI E DECRETI - VIA ARENULA, 70 - 00186 ROMA
AMMINISTRAZIONE PRESSO L'ISTITUTO POLIGRAFICO E ZECCA DELLO STATO - VIA SALARIA, 1027 - 00138 ROMA - CENTRALINO 06-45881 - LIBRERIA DELLO STATO
PIAZZA G. VERDI, 1 - 00188 ROMA

La Gazzetta Ufficiale, Parte Prima, oltre alla Serie Generale, pubblica cinque Serie speciali, ciascuna contraddistinta da autonoma numerazione:

- 1^a Serie speciale: Corte costituzionale (pubblicata il mercoledì)
- 2^a Serie speciale: Comunità europee (pubblicata il lunedì e il giovedì)
- 3^a Serie speciale: Regioni (pubblicata il sabato)
- 4^a Serie speciale: Concorsi ed esami (pubblicata il martedì e il venerdì)
- 5^a Serie speciale: Contratti pubblici (pubblicata il lunedì, il mercoledì e il venerdì)

La Gazzetta Ufficiale, Parte Seconda, "Foglio delle inserzioni", è pubblicata il martedì, il giovedì e il sabato

DECRETO LEGISLATIVO 4 marzo 2014, n. 26

Attuazione della direttiva 2010/63/UE sulla protezione degli animali utilizzati a fini scientifici.

Il DL 26/2014 nasce dall'esigenza di perfezionare la legislazione relativa agli animali utilizzati nelle procedure sperimentali, ribadendo il **PRINCIPIO DELLE TRE R**:

Sostituire – *Replace*

Ridurre – *Reduce*

Perfezionare - *Refine*



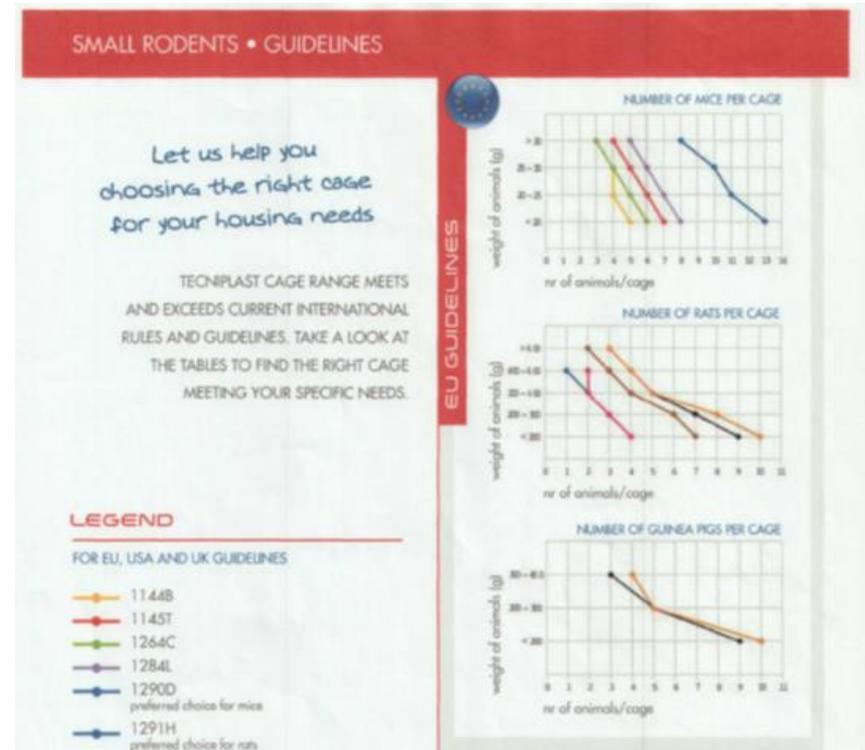
ALLEGATI TECNICI DL 26/2014

- ① Allegato I : elenco delle specie che possono essere utilizzate nelle procedure solo se provenienti da allevatori o fornitori autorizzati
- ② Allegato II : scadenze utilizzo primati non umani
- ③ Allegato III: requisiti per gli stabilimenti e per la cura e la sistemazione degli animali (art. 22)
- ④ Allegato IV : metodi di eutanasia
- ⑤ Allegato V : disciplina del personale abilitato
- ⑥ Allegato VI: Schema progetto di ricerca
- ⑦ Allegato VII : Classificazione gravità procedure
- ⑧ Allegato VIII : Richiesta autorizzazione nuovo stabilimento

Nell'allegato III del DL 26/2014 vengono definiti i requisiti che un'ambiente di stabulazione deve possedere per garantire il benessere degli animali stabulati

Tabella 1.1. Topi

Peso corporeo (g)	Dimensione minima dell'alloggiamento (cm ²)	Spazio al suolo per animale (cm ²)	Altezza minima dell'alloggiamento (cm)	Data di cui all'articolo 22, comma 1
fino a 20	330	60	12	1° gennaio 2017
> 20 fino a 25	330	70	12	



NUOVO SERVIZIO DI STABULAZIONE DELL'



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DI TRIESTE



Edificio Q2 Area Science Park Basovizza



Mantenimento di un elevato profilo sanitario

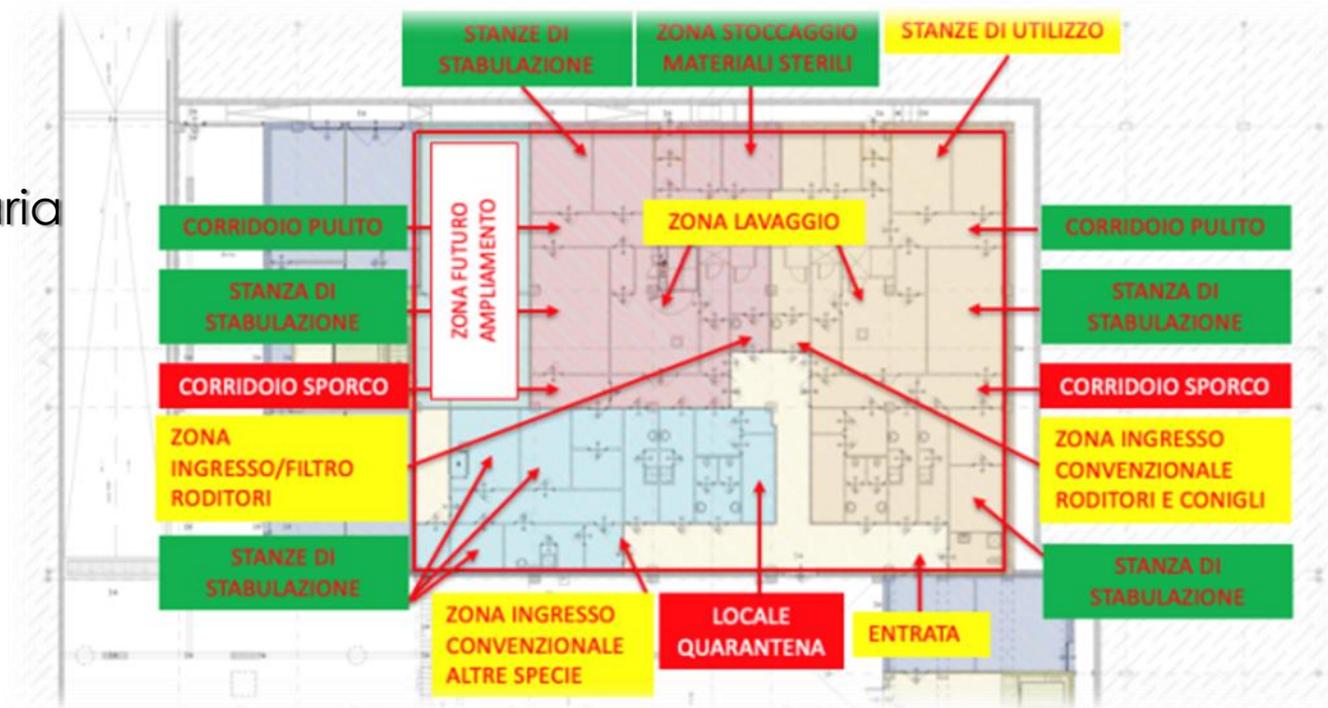


Gli ospiti dello stabulario



SISTEMA BARRIERA

Flusso d'aria



Procedure d'accesso alla barriera

Personale tecnico

- Doccia d'acqua
- Indumenti tecnici sterili
- Doccia d'aria



Animali SPF

- Doppio involucro
- PASS BOX



Materiali

- Doppia scatola
- PASS BOX

Sistema di sterilizzazione all'interno della barriera



TUTTI I MATERIALI CHE VENGO A CONATTO CON LA ZONA
SPORCA DELLA BARRIERA,
DEVONO ESSERE STERILIZZATI TRAMITE **AUTOCLAVE** PER RIENTARE
NELLA ZONA PULITA

HOUSING SYSTEM – sistema di stabulazione

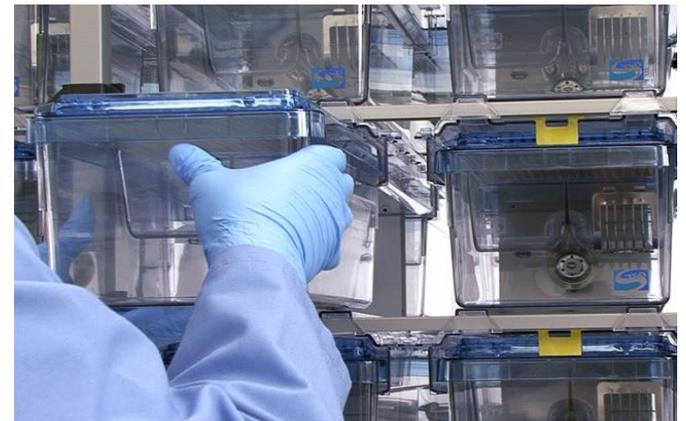
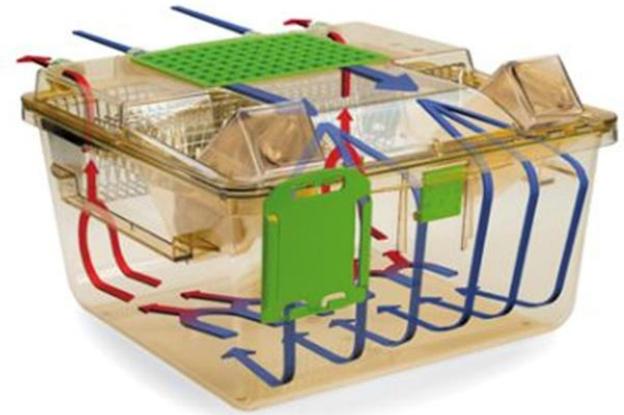
Le cassette ventilate individualmente (IVC) sono **unità microbiologiche** e garantiscono di:

1) **Mantenere determinate condizioni ambientali** di

- Temperatura
- Umidità
- Illuminazione

2) **Ridurre al minimo la probabilità di contaminazione** da parte di

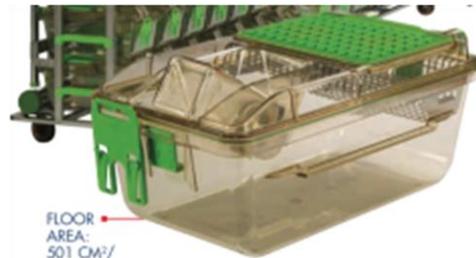
- microrganismi patogeni
- parassiti
- insetti
- altre possibili fonti di contaminazione



IVC – sistema di cassette ventilate individualmente



FLOOR AREA:
435 CM²/
67.42 IN²



FLOOR
AREA:
501 CM²/
77.66 IN²

Contenimento dell'unità microbiologica durante la manipolazione degli animali



Altri sistemi di stabulazione

Stabulazione convenzionale



AVP – armadio ventilato



FILTER TOP CAGE
Stabulazione con
sistema filtrante

Cura degli animali

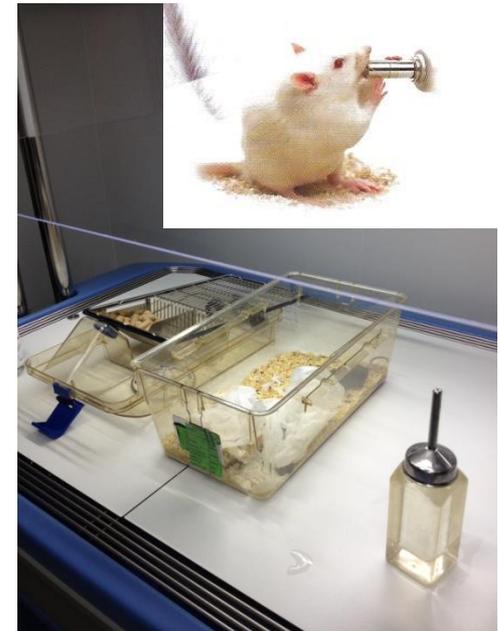


Le cassette sono complete di lettiera e di cibo pellettato e acqua somministrati *ad libitum*



Ratto/giorno:
cibo 15-20 g
acqua 22-33 ml

Topo/giorno:
cibo 3-5 g
acqua 5-8 ml



Mais, frumento, farina di soia, avena, farina di erba medica, ingredienti di origine animale (farina di pesce, carne, ossa) e vitamine, minerali e grassi (olio vegetale o grasso animale) per completare la dieta.

Cura degli animali - arricchimento

Inoltre all'interno delle cassette vengono offerti materiali e oggetti (arricchimento ambientale) per stimolare le attività di manipolazione e cognitive.



I topi e i ratti sono stati i primi animali ad essere allevati e selezionati geneticamente per scopi scientifici

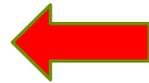


Miss Abbie Lathrop (1868-1918), Mouse Farm, Granby, Massachusetts; >11.000 mice, e.g. C57BL

Perché sono specie che:

- si allevano facilmente (dimensioni corporee)
- sono adattabili
- sono resistenti
- sono fertili e fecondi (6 parti/anno, 8-12 cuccioli/parto)
- sono largamente disponibili e non eccessivamente costosi

Nel nostro stabulario sono presenti



Ceppi INBRED di topi
C57BL

Ceppo INBRED di ratti
WISTAR



Un animale INBRED è ottenuto con un sistema di accoppiamento standardizzato e ripetuto per almeno 20 generazioni:
fratello x sorella

Topi geneticamente modificati:

- ❖ **topo knockout** in cui è soppressa l'espressione di un determinato gene
- ❖ **topo knock-in** in cui la copia di un gene normale è sostituita con un gene modificato

Nel nostro stabulario sono presenti:



vari ceppi INBRED di topi geneticamente modificati e portatori di target mutations:

(e.g. P53ko – tumor prone)

(e.g. P53ki – mutant p53 found in human cancer)

P53: gene che codifica per la proteina che sopprime la crescita dei tumori



Un ceppo INBRED di ratti (GUNN) con mutazione spontanea

La pianificazione di incroci strettamente controllati volti al mantenimento dei ceppi inbred mutanti è uno dei principali compiti del personale tecnico laureato dello Stabulario



Table 3.2 Categories of genetic crosses

Designation	Types of matings	Offspring genotypes
Backcross	(1) $A/a \times A/A$	(1) $A/a, A/A$
	(2) $A/a \times a/a$	(2) $A/a, a/a$
Incross	(1) $A/A \times A/A$	(1) A/A
	(2) $a/a \times a/a$	(2) a/a
Intercross	$A/a \times A/a$	$A/a, A/A, a/a$
Outcross	(1) $A/A \times a/a$	(1) A/a
	(2) $a^1/a^2 \times a^3/a^4$	(2) $[a^1/a^3, a^1/a^4, a^2/a^3, a^2/a^4]$

Successivamente l'animale viene **identificato**

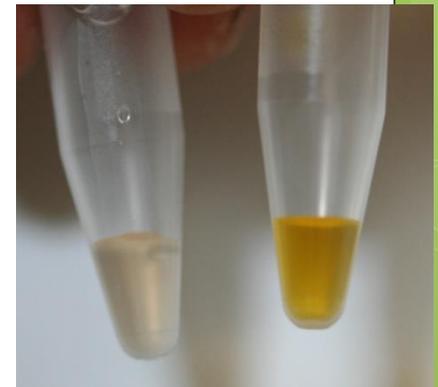


gli animali possono essere identificati con tatuaggi, microchip, foratura del lobo dell'orecchio, targhette auricolari

E, se necessario, si controlla il suo genotipo o fenotipo:

biopsia da tessuto (coda, orecchio, falange) + **PCR** (eseguita dal ricercatore)

valutazione della variazione di parametri fisiologici, e.g. la bilirubina nel plasma dei ratti Gunn



Stabulazione e allevamento di conigli



Stabulazione e allevamento di pulcini



Pollo domestico



Stabulazione e allevamento di opossum

Husbandry procedures	
PC conventional cages with top-filter	425 x 266 x 245 mm
Type of housing ¹	singly-housed
Cage and bottle changing	once a week
Bedding	wood shavings
Water	tap water
Food <i>ad libitum</i>	fresh once a day
Enrichment material	cardboard tubes
Nest material	paper towelling
Breeding system ²	male-female pair



Stabulazione e allevamento degli opossum



Stabulazione e allevamento di Zebrafish



Working Party Report

Zebrafish: Housing and husbandry recommendations

Peter Aleström¹ , Livia D'Angelo², Paul J Midtlyng¹,
Daniel F Schorderet³, Stefan Schulte-Merker^{4,5} ,
Frederic Sohm⁶ and Susan Warner⁷



Laboratory Animals
001 1-12

© The Author(s) 2019



Article reuse guidelines:

sagepub.com/journals-permissions

DOI:

10.1177/0023677219869037

journals.sagepub.com/home/lan



Grazie per la vostra attenzione!

stabulario@units.it – 040/375.6513



Luciano



Paola



Salvatore



Mario



Alba



Alberto



Daniele