

LA SPERIMENTAZIONE SUI PESCI: QUADRO NORMATIVO

Franco Mutinelli
IZS delle Venezie, Legnaro (PD)

Orvieto, 28 Maggio 2010
CORSO ECM
“Benessere e sperimentazione animale in acquacoltura”
organizzato da
IZS dell’Umbria e delle Marche

D.lgs. 27 gennaio 1992, n. 116

In Italia la protezione degli animali utilizzati a fini sperimentali o ad altri fini scientifici è disciplinata dal **Decreto Legislativo 27 gennaio 1992, n. 116** che rappresenta il recepimento italiano della Direttiva europea **86/609/CEE**

E' diviso in tre parti:

un **articolato**, che consta di 20 articoli;

un **allegato** dove sono riportate le **specie animali** da esperimento che devono provenire da allevamenti autorizzati;

un **allegato** che riporta le linee guida per una **corretta stabulazione e cura** degli animali

D.lgs. 27 gennaio 1992, n. 116

Ambito di applicazione

Articolo 2, comma 1,

“animale” (lett. a) <<vertebrati vivi>>

“**esperimento**” (lett. d) <<l'impiego di un animale a fini sperimentali o ad altri fini scientifici che può causare **dolore, sofferenza, angoscia o danni temporanei durevoli**, compresa qualsiasi azione che intenda o possa determinare la nascita di un animale in queste condizioni>> anche se non c'è dolore grazie alla corretta applicazione di un anestetico.

Sono **escluse le pratiche agricole o cliniche veterinarie non sperimentali**>> e ancora <<i metodi meno dolorosi di **uccisione o di marcatura**>>

D.lgs. 27 gennaio 1992, n. 116

Animali impiegati nella sperimentazione

Le specie animali riportate all'**Allegato I** devono provenire da stabilimenti allevatori e/o fornitori autorizzati dalle Autorità locali ai sensi dell'**art. 10**.

Allegato I

Topo

Porcellino d'India

Coniglio

Cane

Quaglia

Ratto

Criceto

Primati non umani

Gatto

D.lgs. 27 gennaio 1992, n. 116

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

D.lgs. 27 gennaio 1992, n. 116

Modalità di sperimentazione

I progetti di ricerca, compilati secondo lo schema di cui all'allegato 4 della Circolare 8 del 22/4/94, corredati dai curricula dei responsabili e da un'ampia bibliografia, sono soggetti ad adempimenti quali:

- la semplice **comunicazione (ex art. 7)**
- la richiesta di **autorizzazione in deroga (ex artt. 8 e 9)**
- **La comunicazione (art. 7, comma 1)** abilita ad esercitare la sperimentazione per un massimo di tre anni senza alcun atto da parte del Ministero della Salute.

D.lgs. 27 gennaio 1992, n. 116

Tali progetti sono attentamente esaminati dal competente Ufficio del Ministero della Salute che può chiedere ove ne ravvisi la necessità, ulteriori informazioni o integrazioni, impartire specifiche prescrizioni, richiedere la presentazione di domanda di autorizzazione in deroga.

D.lgs. 27 gennaio 1992, n. 116

Sono oggetto di autorizzazione in deroga ai sensi
dell'articolo 8

le ricerche sperimentali che prevedono l'impiego di:

Comma 1, lett. a) Specie animali in via di estinzione

Comma 1, lett. b) Cani, gatti e primati non umani

Comma 3 (Didattico, ATLS, Endoscopia)

D.lgs. 27 gennaio 1992, n. 116

Sono oggetto di autorizzazione in deroga ai sensi dell'articolo 9 le ricerche sperimentali che non prevedono l'impiego di anestesia in quanto:

- ❖ **l'anestesia è più traumatica per l'animale che l'esperimento stesso**
- ❖ **l'anestesia è incompatibile con il fine degli esperimenti**

D.lgs. 27 gennaio 1992, n. 116

ALLEGATO 4

Schema per la presentazione di un progetto di ricerca ai sensi del D.lgs 116/92*

RESPONSABILE DEL PROGETTO DI RICERCA

COGNOME:

NOME:

CODICE FISCALE:

RESIDENZA:

DIPARTIMENTO O ISTITUTO DI APPARTENENZA:

RESPONSABILE DELL'ESECUZIONE DEGLI ESPERIMENTI

COGNOME:

NOME:

CODICE FISCALE

RESIDENZA:

DIPARTIMENTO O ISTITUTO DI APPARTENENZA:

RESPONSABILE DELLO STABULARIO

COGNOME:

NOME:

CODICE FISCALE:

RESIDENZA:

UBICAZIONE DELLO STABULARIO:

* Se gli esperimenti implicano deroga in base all'articolo 8 e all'articolo 9, il presente schema deve essere allegato alla specifica domanda.

D.lgs. 27 gennaio 1992, n. 116

**MEDICO VETERINARIO RESPONSABILE DEI CONTROLLI DI CUI
ALL'ARTICOLO 6 (comma 4) DEL D.lgs 116/92
DOTT.**

SI PREVEDE DI UTILIZZARE N.

TIPO DI ANIMALE

GLI ANIMALI SARANNO STABULATI NEI LOCALI

GLI ANIMALI SARANNO UTILIZZATI NEI LOCALI

FORNITORE

TITOLO ED OBIETTIVO DEL PROGETTO DI RICERCA

DURATA DELLA SPERIMENTAZIONE (MASSIMO TRENTASEI MESI)

PERSONALE CHE ATTENDE ALLA ESECUZIONE DEGLI ESPERIMENTI E/O AL

CONTROLLO DEGLI ANIMALI (COMPRESO IL RESPONSABILE DEGLI ESPERIMENTI)

COGNOME E NOME TITOLO DI STUDIO QUALIFICA DIP.TO/ISTITUTO DI AFFERENZA

D.lgs. 27 gennaio 1992, n. 116

DESCRIZIONE DEI FINI DELL'ESPERIMENTO (ARTICOLO 3 D. LVO 116/92) METODOLOGIA E TECNICA DELL'ESPERIMENTO

1) CHE TIPO DI SOFFERENZA SI RITIENE DI INFLIGGERE AGLI ANIMALI?

- POCA O NESSUNA SOFFERENZA
- ALCUNE SOFFERENZE (DI BREVE DURATA)
- ESTREME E INTOLLERABILI SOFFERENZE IN ANIMALI COSCIENTI
- FORTI PRIVAZIONI, MUTILAZIONI O ALTRI TRAUMI

2) ANESTESIA

SI ()

NO ()

3) TIPO DI ANESTESIA

4) GLI ANIMALI SONO SOPPRESSI TRAMITE

**AL TERMINE DELLE PROCEDURE SPERIMENTALI GLI ANIMALI SONO
RIUTILIZZATI**

SI ()

NO ()

DICHIARAZIONE RIFERITA ALLE PRESCRIZIONI DI CUI ALL'ARTICOLO 4

(INEVITABILITA' DEL RICORSO AD ESPERIMENTI SU ANIMALI E NECESSITA' DEL RICORSO AD UNA SPECIE DETERMINATA ED AL TIPO DI ESPERIMENTO) **E DI CUI ALL'ARTICOLO 5 (RISPETTO DELLE CONDIZIONI)**

D.lgs. 27 gennaio 1992, n. 116

DOCUMENTAZIONE A CORREDO (BIBLIOGRAFIA, PUBBLICAZIONI, ECC.)

RESPONSABILE DELL'ESECUZIONE DELL'ESPERIMENTO

DATA

FIRMA

D.lgs. 27 gennaio 1992, n. 116

ALLEGATO 4

Schema per la presentazione di un progetto di ricerca ai sensi del D.lgs 116/92

METODOLOGIA E TECNICA DELL'ESPERIMENTO

E' necessario descrivere dettagliatamente le procedure operative, le manipolazioni sugli animali, i tempi, l'impiego di anestesia, suddivisione in gruppi, ecc.,

1) CHE TIPO DI SOFFERENZA SI RITIENE DI INFLIGGERE AGLI ANIMALI?

- POCA O NESSUNA SOFFERENZA
- ALCUNE SOFFERENZE (DI BREVE DURATA)
- ESTREME E INTOLLERABILI SOFFERENZE IN ANIMALI COSCIENTI
- FORTI PRIVAZIONI, MUTILAZIONI O ALTRI TRAUMI

D.lgs. 27 gennaio 1992, n. 116

ALLEGATO 4

Schema per la presentazione di un progetto di ricerca ai sensi del D.lgs 116/92

2) ANESTESIA

SI ()

NO ()

L'articolo 4, comma 3 del D.lgs 116/92, prevede che: *“Tutti gli esperimenti devono essere effettuati sotto anestesia generale o locale”*

La legge 20 luglio 2004, n. 189 *“Disposizioni concernenti il divieto di maltrattamenti degli animali”* modifica il comma 8 dell'articolo 4 del D.lgs 116/92: *“Le violazioni di cui al comma 3, sono punite con la reclusione da tre mesi ad un anno o con la multa da 3.000 a 15.000 euro....”*

Quindi è previsto un inasprimento delle pene per chi effettua esperimenti su animali in assenza di anestesia.

D.lgs. 27 gennaio 1992, n. 116

ALLEGATO 4

Schema per la presentazione di un progetto di ricerca ai sensi del D.lgs 116/92

Una parte dei progetti di ricerca presentati al Ministero della Salute in regime di comunicazione, pur prevedendo l'impiego dell'anestesia, rientrano tuttavia nel disposto dell'autorizzazione in deroga, ai sensi dell'articolo 9, in quanto l'anestesia è praticata "soltanto" in alcune fasi delle procedure sperimentali (ad esempio: somministrazioni sostanze, interventi chirurgici, prima dell'eutanasia). E' possibile che durante l'intera durata della sperimentazione vi siano dei periodi di tempo (alcune ore, giorni o mesi) nei quali l'animale può andare incontro a dolore, sofferenza, angoscia o stress.

Impiegare l'anestesia o l'analgesia per controllare il dolore per l'intera durata della sperimentazione non è praticabile!!!

D.lgs. 27 gennaio 1992, n. 116

ALLEGATO 4

Schema per la presentazione di un progetto di ricerca ai sensi del D.lgs 116/92

2) ANESTESIA

SI ()

NO ()

Irregolarità: Comunicazione ai sensi dell'articolo 7 in assenza di anestesia

Comunicazione ai sensi dell'articolo 7 in presenza di anestesia che però è limitata solo ad una fase del progetto sperimentale (prove del dolore, test comportamentali con l'impiego di sostanze che agiscono sul SNC)

!!! E' necessario chiedere l'autorizzazione in deroga ai sensi dell'articolo 9 del D.lgs 116/92

D.lgs. 27 gennaio 1992, n. 116

ALLEGATO 4

Schema per la presentazione di un progetto di ricerca ai sensi del D.lgs 116/92

2) ANESTESIA

SI ()

NO ()

Per procedure sperimentali “semplici”, non dolorose, è opportuno prevedere l’impiego di anestesia locale (Es.: inoculo di antigeni, prelievi ematici)

3) TIPO DI ANESTESIA

Va indicato:

locale o generale

Principi attivi / dosaggi

Vie di somministrazione

4) GLI ANIMALI SARANNO SOPPRESSI TRAMITE

Devono essere impiegati metodi idonei “umanitari”

(Cfr. i metodi conformi ai principi fissati nella Raccomandazione della Commissione UE del 1995)

L’impiego del Tanax[©] è previsto solo su animali anestetizzati

D.lgs. 27 gennaio 1992, n. 116

ALLEGATO 4

Schema per la presentazione di un progetto di ricerca ai sensi del D.lgs 116/92

5. AL TERMINE DELLE PROCEDURE SPERIMENTALI GLI ANIMALI

SONO RIUTILIZZATI

SI () NO ()

L'articolo 4, comma 4 del D.lgs 116/92, prevede: “Un animale non può essere utilizzato più di una volta in esperimenti che comportano forti dolori, angoscia o sofferenze equivalenti”.

Il Ministero della Salute si è sempre espresso per una rigida applicazione della legge.

Da ricordare che il Ministero della Salute con la Circolare ministeriale del 14 maggio 2001, n. 6 ha ribadito la necessità di ricorrere, là dove possibile, all'istituto dell'affidamento in adozione per gli animali a fine sperimentazione.

Il reinserimento degli animali a fine sperimentazione rappresenta uno dei punti qualificanti del DL revisione.

D.lgs. 27 gennaio 1992, n. 116

ALLEGATO 4

Schema per la presentazione di un progetto di ricerca ai sensi del D.lgs 116/92

DICHIARAZIONE RIFERITA ALLE PRESCRIZIONI DI CUI ALL'ARTICOLO 4 E DI CUI ALL'ARTICOLO 5

Si 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
-
- ✓ Gli animali saranno correttamente stabulati nel rispetto delle linee di indirizzo previste dall'Allegato I

D.lgs. 27 gennaio 1992, n. 116

ALLEGATO 4

Schema per la presentazione di un progetto di ricerca ai sensi del D.lgs 116/92

DICHIARAZIONE RIFERITA ALLE PRESCRIZIONI DI CUI ALL'ARTICOLO 4 E DI CUI ALL'ARTICOLO 5

Irregolarità:

- **Dichiarazione assente**
- **Dichiarazione carente:**
 - non è giustificato il numero di animali da impiegare,**
 - modello sperimentale non è adeguato**

D.lgs. 27 gennaio 1992, n. 116

ALLEGATO 4

Schema per la presentazione di un progetto di ricerca ai sensi del D.lgs 116/92

DOCUMENTAZIONE A CORREDO (BIBLIOGRAFIA, PUBBLICAZIONI, ECC.)

Parere del Comitato Etico

**Irregolarità: Assenza dei curricula dei responsabili
Assenza di pubblicazioni e di bibliografia
inerenti il progetto di ricerca**

DATA

- Importante per determinare l'inizio della sperimentazione;
- Assenza del disposto "Silenzio / Assenso"
(comunicazione del Ministero per i progetti "*irregolari*")

FIRMA

D.lgs. 27 gennaio 1992, n. 116

Stabilimenti utilizzatori

Ai sensi dell'articolo 12 gli animali possono essere utilizzati in strutture autorizzate dal Ministero della Salute.

Tali strutture devono essere in possesso di requisiti strutturali e gestionali conformi alle linee guida riportate nell'Allegato II

D.lgs. 27 gennaio 1992, n. 116

Raccomandazione 2007/526/CE

La Commissione UE dispone che gli Stati Membri dovrebbero attenersi alle linee guida istituite nell'Allegato alla Raccomandazione 2007/526/CE pubblicata il 30/07/2007

Si segnalano alcuni aspetti

“Tutela”: ... *la somma delle risorse materiali e non materiali che l'uomo fornisce per ottenere e mantenere un animale nello stato fisico e mentale che provoca la sofferenza minore al fine di promuovere una buona ricerca scientifica”*

Arricchimento ambientale: ... *“un ambiente non adatto può produrre anomalie comportamentali e fisiologiche e incidere sulla validità dei dati scientifici”*

Monitoraggio sanitario: *“programma di sorveglianza microbiologica” “piani per affrontare eventuali malattie” “procedure operative sanitarie per l'introduzione di nuovi animali”*

Raccomandazione della Commissione, del
18 giugno 2007, relativa a linee guida per la
sistemazione e la tutela degli animali
impiegati a fini sperimentali o ad altri fini
scientifici

(2007/526/CE)

Gazzetta ufficiale n. L 197 del 30/07/2007 pag. 0001 - 0089

K. LINEE GUIDA SPECIE-SPECIFICHE PER I PESCI

1. Introduzione

- Negli ultimi dieci anni si è notevolmente esteso l'impiego dei pesci nelle sperimentazioni; alla base di questa tendenza vi sono vari fattori, tra i quali il forte aumento dell'acquicoltura, che ha portato a tutta una serie di studi di base in settori come la nutrizione, le patologie, la fisiologia e la genetica, l'ecotossicologia e altre ricerche tossicologiche, oltre a studi fondamentali nei campi della genetica e dell'immunologia che hanno ottenuto risultati interessanti per gruppi di vertebrati superiori come i mammiferi. Negli esperimenti vengono utilizzate molte varietà di pesci caratterizzati da habitat, comportamenti ed esigenze ambientali e di manutenzione diversi tra loro.
- I pesci sono animali ectotermici, che dunque si adattano molto bene all'ambiente acquatico in cui vivono. Reagiscono rapidamente allo stress con conseguenze fisiologiche immediate che possono durare anche relativamente a lungo; tali cambiamenti, avendo evidenti implicazioni sul loro benessere, incidono anche sui risultati delle sperimentazioni.
- I ricercatori e il personale che si occupa degli animali dovrebbero conoscere le caratteristiche delle specie ittiche proposte per l'uso a fini sperimentali, in modo che già prima dell'arrivo degli animali siano predisposte le strutture e le procedure di manutenzione più adatte. Nel documento informativo di riferimento preparato dal gruppo di esperti sono contenute le linee guida specie-specifiche relative alla trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*), al salmone dell'Atlantico (*Salmo salar*), alle tilapie, al pesce zebra (*Danio rerio*), al branzino (*Dicentrarchus labrax*), all'ippoglossso dell'Atlantico (*Hippoglossus hippoglossus*), al merluzzo bianco (*Gadus morhua*), al rombo (*Scophthalmus maximus*) e al pesce gatto africano (*Clarias gariepinus*). Per ulteriori consulenze sui requisiti di queste e altre specie è opportuno rivolgersi a specialisti e al personale che si prende cura degli animali per garantire che le esigenze di tutte le specie interessate siano soddisfatte adeguatamente.
- Nel corso delle ricerche nel campo dell'acquicoltura, dove la finalità della ricerca prevede che pesci debbano vivere in condizioni analoghe a quelle esistenti negli allevamenti commerciali, è necessario soddisfare almeno le disposizioni indicate nella direttiva 98/58/CE del Consiglio.

2. Ambiente e relativo controllo

2.1. Fornitura d'acqua

- È necessario fornire continuamente acqua a sufficienza e di qualità adeguata. Il flusso d'acqua nei sistemi di ricircolo o la presenza di un sistema di filtraggio all'interno dello stabulario dovrebbero essere sufficienti ad eliminare solidi e rifiuti in sospensione e a mantenere i parametri di qualità dell'acqua a livelli soddisfacenti. Occorre prevedere sistemi di monitoraggio per garantire che i pesci ricevano una quantità sufficiente di acqua di buona qualità. Il flusso dell'acqua dovrebbe inoltre permettere ai pesci di nuotare correttamente e di mantenere un comportamento normale. Nella maggior parte degli stabulari che ospitano pesci nella fase post-larvale è opportuno alimentare l'acqua dirigendola in senso obliquo verso la superficie dell'acqua.

2.2. Qualità dell'acqua

- La qualità dell'acqua è il fattore principale per garantire il benessere dei pesci e ridurre lo stress e dunque il rischio di malattie. I parametri di qualità dell'acqua devono rimanere sempre entro intervalli accettabili che permettano lo svolgimento dell'attività normale e sostengano la fisiologia di una determinata specie. La definizione di "intervallo accettabile" dei parametri è complessa, anche perché per molte specie le condizioni ottimali non risultano ben definite e i requisiti per le singole specie possono variare nelle varie fasi di sviluppo (ad esempio larve, novellame, individui adulti) o in base allo stato fisiologico (metamorfosi, riproduzione, alimentazione, episodi precedenti di esposizione).
- I pesci presentano vari gradi di adattabilità ai cambiamenti nella qualità dell'acqua. Può pertanto essere necessaria una certa acclimatazione, che deve durare il tempo necessario alla specie ittica interessata.
- Gran parte delle specie non esplica le sue funzioni correttamente in acque contenenti livelli elevati di solidi in sospensione, che devono pertanto mantenersi entro intervalli accettabili. Se necessario, l'acqua alimentata alle strutture di alloggiamento deve essere filtrata per eliminare le sostanze che possano nuocere ai pesci e per mantenere i parametri fisico-chimici dell'acqua entro i limiti richiesti.

2.2.1. Ossigeno

- La concentrazione di ossigeno dovrebbe essere compatibile con le specie interessate e il contesto nel quale vivono. La concentrazione di ossigeno richiesta varierà in funzione della temperatura, della concentrazione di anidride carbonica, della salinità, dei livelli di nutrimento e della necessità di maneggiare gli animali. Se necessario è opportuno prevedere un'aerazione supplementare dell'acqua.

2.2.2. Composti azotati

- L'ammoniaca è il principale prodotto di escrezione dei pesci. L'urea disciolta, il mangime e le feci sono convertiti in composti inorganici come l'ammoniaca e il fosfato; l'ammoniaca viene ulteriormente convertita in nitrito e nitrato. L'ammoniaca e il nitrato sono estremamente tossici per i pesci e occorre pertanto evitare che si accumulino aumentando la portata dell'acqua, riducendo la densità o la temperatura o mediante biofiltrazione.
- La sensibilità all'ammoniaca varia da specie a specie, ma in generale i pesci marini e quelli più giovani sono i più vulnerabili. La forma più tossica di ammoniaca è l'ammoniaca non ionizzata, la cui concentrazione non dipende solo dalla concentrazione totale di ammoniaca, ma anche dal pH, dalla salinità e dalla temperatura dell'acqua.

2.2.3. Anidride carbonica (CO₂)

- I pesci producono anidride carbonica durante la respirazione; questa si dissolve in acqua e forma acido carbonico che riduce il pH. L'accumulo di anidride carbonica può diventare un problema in presenza di un'elevata densità di popolazione se si utilizza ossigeno puro al posto dell'aria per mantenere il tenore di ossigeno dell'acqua. Concentrazioni elevate di anidride carbonica libera possono risultare letali per i pesci, ma in condizioni normali è improbabile che si presenti questo problema. È comunque necessario accertarsi che i sistemi di alimentazione dell'acqua, in particolare se utilizzano acque freatiche, non immettano quantitativi eccessivi di anidride carbonica negli stabulari.

2.2.4. pH

- Il mantenimento di livelli adeguati del pH dipende da molti fattori connessi alla qualità dell'acqua, tra i quali il tenore di anidride carbonica e di calcio. Il pH deve mantenersi il più possibile stabile, perché ogni cambiamento influirà su altri parametri di qualità dell'acqua. In generale, il pH può essere più basso nelle acque dolci rispetto a quelle salate. Se necessario, l'acqua può essere tamponata.

2.2.5. Salinità

- La salinità richiesta dai pesci varia in funzione del fatto che i pesci siano originariamente di acqua dolce o salmastra o si siano adattati a questi ambienti. Alcune specie possono tollerare gradi di salinità molto diversi, mentre in altre il grado di tolleranza può variare in base alla fase di sviluppo. Eventuali modifiche alla salinità devono essere introdotte gradualmente.

2.3. Temperatura

- La temperatura va mantenuta entro l'intervallo ottimale per ciascuna specie interessata e le eventuali modifiche devono essere introdotte gradualmente. In caso di temperature elevate può essere necessario prevedere un'aerazione supplementare dell'acqua dello stabulario.

2.4. Illuminazione

- Molti pesci hanno bisogno di luce per nutrirsi e per altre attività comportamentali. Occorre prevedere un fotoperiodo adeguato ai pesci perché il ciclo giorno/notte incide sulla loro fisiologia e sul loro comportamento.
- Molte specie ittiche non vanno normalmente sottoposte a luce intensa, anche se per natura alcune specie tropicali vivono in condizioni di luce molto viva. In base alle esigenze delle varie specie la luce va attenuata; in alternativa è opportuno coprire le vasche e prevedere opportuni nascondigli. Vanno per quanto possibile evitati i cambiamenti improvvisi di luce.

2.5. Rumore

- I pesci possono essere estremamente sensibili ai suoni, anche se molto bassi. Nelle strutture adibite agli esperimenti il livello del rumore deve essere mantenuto al minimo. Le apparecchiature che possono causare rumore o vibrazioni, come i generatori o i sistemi di filtraggio dovrebbero, se possibile, essere separate dalle strutture che accolgono i pesci. I pesci allevati in un determinato ambiente si adattano agli stimoli presenti e possono risultare stressati se spostati in ambienti estranei.

2.6. Impianto di allarme

(Si veda il paragrafo 2.6 della parte generale).

2.6. Impianto di allarme

- Una struttura tecnologica che ospita numerosi animali è vulnerabile. Si raccomanda quindi di proteggere correttamente le strutture mediante impianti che segnalino eventi quali gli incendi e l'intrusione di persone non autorizzate e i guasti degli impianti essenziali come i ventilatori, gli impianti di condizionamento dell'aria e gli umidificatori.
- Nelle strutture che accolgono animali e dipendono fortemente dalle apparecchiature elettriche o meccaniche per il controllo e la tutela dell'ambiente sarebbe opportuno installare un gruppo elettrogeno di soccorso, per garantire il funzionamento degli apparecchi necessari alla sopravvivenza degli animali ed all'illuminazione in caso di guasto o di interruzione della fornitura di elettricità e per far sì che l'impianto di allarme stesso continui a funzionare.
- Sarebbe pertanto opportuno installare adeguati dispositivi di controllo e di allarme nell'impianto di riscaldamento e di ventilazione affinché il personale possa individuare rapidamente eventuali guasti e porvi rimedio tempestivamente.
- Sarà opportuno affiggere bene in vista chiare disposizioni per i casi di emergenza. **Si raccomanda un impianto di allarme nelle vasche dei pesci e altri animali acquatici in caso di interruzione del rifornimento d'acqua o aria.** Occorrerà fare in modo che il funzionamento dell'impianto d'allarme disturbi il meno possibile gli animali.

3. Salute

3.1. Osservazioni generali

- All'interno delle strutture adibite agli esperimenti occorre mantenere un'igiene accurata. Lo stato di salute dei pesci è infatti strettamente legato alle condizioni ambientali e di manutenzione. Gran parte delle malattie è associata allo stress causato da scarse condizioni ambientali/di manutenzione; per controllare le malattie è dunque necessario affrontare questi aspetti per risolvere definitivamente il problema. La gestione della salute dei pesci riguarda quasi sempre le popolazioni e non i singoli individui e per questo le misure di controllo devono essere predisposte tenendo conto di questo aspetto.

3.2. Igiene e disinfezione

- Le strutture che ospitano i pesci, comprese le tubature, dovrebbero essere pulite e disinfettate ogni qualvolta risulti necessario. Nei sistemi chiusi le operazioni di pulizia e disinfezione devono essere svolte garantendo il mantenimento di condizioni microbiologiche ottimali. Le attrezzature come le retine devono essere disinfettate dopo ogni uso. Il personale deve prendere le precauzioni necessarie per evitare la contaminazione tra uno stabulario e l'altro.

3.3. Quarantena

- Per gli individui inseriti per la prima volta — sia di allevamento che prelevati in natura — è opportuno prevedere un periodo di quarantena adeguato, durante il quale devono essere separati dalle popolazioni esistenti. Durante tale periodo i pesci devono essere monitorati con attenzione, in modo da trattare tempestivamente ogni malattia che dovesse riscontrarsi o eventualmente da eliminare la popolazione interessata. I pesci di allevamento devono provenire da fornitori affidabili e godere di uno stato di salute per quanto possibile verificato.

4. Alloggiamento, arricchimento e tutela

4.1. Alloggiamento

- Il comportamento dei pesci influenza la densità di popolamento, per questo occorre tener conto del comportamento territoriale o all'interno del branco. La densità di popolamento deve essere determinata in base alle esigenze complessive dei pesci rispetto alle condizioni ambientali, di salute e al loro benessere. I pesci devono avere a disposizione un volume d'acqua sufficiente per poter nuotare normalmente. Occorre prendere provvedimenti per evitare o ridurre al minimo episodi di aggressività tra conspecifici, senza compromettere il benessere degli animali. La densità di popolamento accettabile per una determinata specie può variare in funzione del flusso e della corrente d'acqua, della sua qualità e della dimensione, dell'età, dello stato di salute e dei metodi di nutrimento dei pesci. I gruppi dovrebbero essere preferibilmente costituiti di pesci di uguale dimensione per ridurre al minimo il rischio di lesioni o di episodi di cannibalismo.

4.2. Arricchimento

- Per alcune specie può essere necessario un arricchimento ambientale che tenga conto dei loro tratti comportamentali, ad esempio nella fase riproduttiva o predatoria. Un esempio al riguardo può essere la presenza di nascondigli per i tordi o di substrati come sabbia per alcuni pesci piatti. È importante che gli arricchimenti non abbiano ripercussioni negative sulla qualità dell'acqua, anche se ciò non dovrebbe impedire l'introduzione di misure adeguate per migliorare il benessere dei pesci.

4.3. Stabulari

4.3.1. Strutture per la permanenza dei pesci

- I pesci possono essere ospitati in strutture a terra situate in edifici appositi o in aree esterne o ancora in sistemi in acqua aperta. Se risulta fattibile, occorre prevedere un accesso controllato a tali sistemi, che devono inoltre essere disposti in modo da arrecare il minimo disturbo possibile ai pesci e da favorire il mantenimento di condizioni ambientali adeguate.

4.3.2. Stabulari a terra

- Gli stabulari dovrebbero essere costruiti con materiali non tossici, resistenti e dotati di superfici interne lisce per evitare abrasioni ai pesci. Devono avere dimensioni adeguate rispetto alla densità di popolamento prevista e devono poter ricevere il flusso d'acqua necessario. La forma degli stabulari deve consentire alle specie utilizzate a fini sperimentali di esprimere le loro esigenze e preferenze di comportamento tipiche: gli stabulari circolari, ad esempio, sono più adatti ai salmonidi. Gli stabulari devono essere progettati in modo da evitare che i pesci fuoriescano e, se possibile, essere autopulenti per favorire l'eliminazione dei prodotti di scarto e del mangime in eccesso.

4.3.3. Stabulari in acqua aperta

- I pesci, soprattutto quelli marini, possono essere tenuti in stabulari galleggianti di grandi dimensioni, tali da permettere ai pesci di svolgere l'attività natatoria e di muoversi in branco; in tal senso anche la profondità deve essere sufficiente. La dimensione della rete deve permettere un buon ricambio d'acqua, senza però far fuoriuscire i pesci. Gli stabulari devono essere progettati in modo da limitare al massimo il rischio di attacchi da parte di predatori. Infine, questi stabulari devono essere rigidi in modo da evitare deformazioni dovute ai movimenti di marea o al flusso di acqua corrente, perché i pesci potrebbero rimanere intrappolati.

4.4. Alimentazione

- I pesci possono nutrirsi di mangimi artificiali o di cibo naturale fresco o surgelato. La dieta artificiale è da preferirsi, purché risponda alle esigenze nutrizionali delle singole specie e sia gradita ai pesci. La dieta artificiale non è consona ad alcune specie o in determinate fasi della vita. Questo tipo di dieta tende inoltre ad incidere di meno sulla qualità dell'acqua.
- È importante che i pesci siano nutriti ad una velocità e ad una frequenza adeguate, che dipendono da vari fattori tra cui la temperatura, la dimensione dei pesci e la loro maturità. Una temperatura elevata fa aumentare il metabolismo ed occorre pertanto aumentare anche il livello dell'alimentazione. Non sempre è necessario nutrire i pesci a scadenza giornaliera. Anche la presentazione della dieta è un fattore molto importante per garantire un'alimentazione adeguata. Occorre valutare con attenzione il numero di pasti al giorno, l'età del pesce, la temperatura dell'acqua e la dimensione dei pellet o dei frammenti di cibo che vengono offerti. Il regime alimentare, il sapore e la maniera di presentare il cibo sono tutti elementi che dovrebbero garantire un'alimentazione sufficiente dei pesci. È importante prestare particolare attenzione all'alimentazione delle larve, soprattutto quando si passa da una dieta naturale ad una artificiale.

4.5. Pulizia degli stabulari

- Gli stabulari non devono presentare resti di prodotti di rifiuto dei pesci e di cibo; se tali resti si accumulano, la qualità dell'acqua e, di conseguenza, lo stato di salute dei pesci ne subiranno le conseguenze. Gli stabulari vanno trattati e puliti con regolarità per evitare che l'acqua si sporchi e vi sia meno ricambio. Occorre evitare il rischio di reflusso che sporca l'acqua dello stabulario con il rischio di infezioni. Se gli stabulari non sono autopulenti, il materiale di scarto deve essere asportato secondo le necessità con un dispositivo a sifone, se possibile subito dopo che gli animali hanno mangiato. Le pareti e il fondo dello stabulario vanno puliti regolarmente per evitare che si accumulino alghe e altri detriti. Durante le operazioni di pulizia si raccomanda di ridurre al minimo lo stress.

4.6. Maneggiamento

- Il maneggiamento può creare forte stress nei pesci e pertanto va limitato il più possibile. In genere i pesci dovrebbero essere estratti dallo stabulario dove vivono normalmente con delle reti o retine ed essere anestetizzati in un contenitore più piccolo prima di essere maneggiati. I pesci dovrebbero essere anestetizzati solo per il tempo necessario ed essere successivamente collocati in acqua pulita e aerata per poter recuperare. Durante lo svolgimento del protocollo occorre mantenere una concentrazione efficace di anestetico.
- Per catturare i pesci occorre utilizzare reti di struttura e maglie adeguate; vanno evitate le reti con nodi. Le reti devono essere disinfettate e risciacquate in acqua pulita prima dell'uso.
- Fuori dall'acqua i pesci devono essere manipolati con guanti umidi o con le mani bagnate e su una superficie umida, per evitare la perdita di scaglie e muco. Le strategie di manipolazione sono molto importanti per evitare il disseccamento, il soffocamento o altre lesioni ai pesci.

4.7. Eliminazione umanitaria degli animali

- Per l'eliminazione dei pesci sono da preferirsi in genere i seguenti metodi:
- - overdose di anestetico somministrato attraverso le vie e gli agenti più indicati in base alla dimensione del pesce e alla specie. In caso di eliminazione per immersione, i pesci devono essere lasciati in una soluzione anestetica per almeno cinque minuti dopo la cessazione del movimento dell'opercolo e/o del riflesso vestibolo-oculomotorio (VOR), oppure
- - commozione cerebrale per fracassamento del cranio.
- La morte deve essere confermata ad esempio tramite distruzione fisica del cervello o dissanguamento.

Brussels,
COM(2008) 543/5

2008/xxxx (COD)

Proposal for a

DIRECTIVE OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL**on the protection of animals used for scientific purposes**

(presented by the Commission)

{SEC(2008) 2410}

{SEC(2008) 2411}

Humane Methods of Killing animals**Table 1 – Humane methods of killing fish, including gnathostomes and cyclostomes**

Agent	Rapidity	Efficacy	Ease of use	Operator safety	Aesthetic value	Overall rating (1-5)	Remarks
Anaesthetic overdose	++	++	++	+ to ++	++	4 to 5*	May be used with prior sedation of the animal. *Some anaesthetics may cause skin irritation when used on fish.
Electrical stunning	++	+	+	+	++	4	Specialised equipment required. To be followed by immediate exsanguination, or immediate destruction of the brain, or death to be ensured by another method.
Maceration	++	++	++	++	+	4	Only for fish less than 2 cm in length
Concussion	++	+	+	++	-	3	To be followed by immediate exsanguination, or immediate destruction of the brain, or death to be ensured by another method.
Cervical dislocation	++	++	+	++	-	2 - if animal conscious 5 - if animal unconscious	Not used in fish >500g. To be followed by destruction of the brain.

Other methods may be used on unconscious fish, providing the animal does not regain consciousness before death.

Rapidity: ++ very rapid, + rapid, - slow. **Efficacy:** ++ very effective, + effective, - not effective. **Ease of use:** ++ easy to use, + requires expertise, - requires specialist training.

Operator safety: ++ no danger, + little danger, - dangerous. **Aesthetic value:** ++ good aesthetically, + acceptable for most people, - unacceptable for many people. **Rating:** 1-5 with 5 as most satisfactory.

4.8. Registri

- È opportuno conservare registrazioni sui parametri relativi alla qualità dell'acqua.

4.9. Identificazione

- Non sempre è necessario o praticabile individuare i singoli pesci all'interno di una struttura.
- Se dovesse essere necessario marcarli a scopo di identificazione, il metodo meno invasivo è l'iniezione sottocutanea di colorante. L'impiego di metodi più invasivi come l'amputazione delle pinne o il sistema "pit-tag" (cioè l'inserimento di un piccolo microchip) deve essere valutato con attenzione. Va invece evitata la marcatura con mezzi meccanici, a meno che non sia l'unica praticabile.
- In genere la marcatura dovrebbe avvenire sotto anestesia per poter maneggiare agevolmente l'animale e ridurre il rischio di lesioni, morbidità e stress.

5. Trasporto

- Prima del trasporto i pesci non devono mangiare per un periodo sufficiente a pulire l'intestino e ridurre la contaminazione del sistema di trasporto con feci. È importante evitare di provocare lesioni e stress ai pesci durante la cattura, il carico, il trasporto e lo scarico. Si raccomanda di evitare sbalzi improvvisi di temperatura, periodi di ipossia e il deterioramento della qualità dell'acqua dovuto alla presenza di escreti.

Grazie per l'attenzione

